

Metodika hodnocení výsledků výzkumu a vývoje v roce 2007

Na internetové adrese <http://www.vyzkum.cz/FrontClanek.aspx?idsekcce=31543> lze najít nově schválenou metodiku hodnocení výsledků výzkumu a vývoje, která vznikla ve spolupráci Rady vlády ČR pro výzkum a vývoj a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy. Hlavním účelem tohoto hodnocení je hodnotit efektivitu prostředků poskytnutých jednotlivými rozpočtovými kapitolami na podporu vědy a výzkumu. Povinností a právem poskytovatele je toto hodnocení doplnit a případně modifikovat podle závěrů svých hodnotících grémií. Vytvářený proces hodnocení není a nemůže být náhradou těchto grémií. Cílem tohoto úvodníku není hodnotit tuto metodiku ani k ní zaujímat stanovisko, ale informovat o ní naše čtenáře. Přestože navrhovaný způsob hodnocení ještě není zcela definitivní a teprve postupně bude směřovat k vyváženému systému, naše čtenáře jistě bude zajímat, jak se odrazí v oblasti chemických věd. Lze očekávat, že nově připravovaný systém poskytování institucionální podpory bude záviset výhradně na vyhodnocování dosažených výsledků ve výzkumu a vývoji, přičemž se budou zohledňovat pouze dosažené výsledky a výše poskytnutých podpor na jejich dosažení. Předpokládá se, že „všechny kvalitní výsledky výzkumu a vývoje budou bodově ohodnoceny, a to bez ohledu na poskytovatele – resort“. Definice jednotlivých druhů výsledků, evidovaných v RIV, je zveřejněna na internetové adrese www.vyzkum.cz. Do hodnocení nebudou zahrnuty výsledky prokazatelně nesplňující definice jednotlivých druhů výsledků. Za bodově hodnocené výsledky budou považovány:

- článek v odborném periodiku,
- odborná kniha,
- kapitola v odborné knize,
- článek ve sborníku,
- patent,
- poloprovoz, ověřená technologie, uplatněná metodika, funkční vzorek či autorizovaný software.

Podle navrhované metodiky bude počet bodů za článek v impaktovaném časopise určen vztahem $5 + (15 \times IF \text{ časopisu} / \text{median } IF \text{ oboru})$, za článek v neimpaktovaném časopise v českém či slovenském jazyce bude 1 bod (v cizím jazyce 2 body), za odbornou knihu v českém či slovenském jazyce 12,5 bodu či v cizím jazyce 25 bodů, za kapitolu v knize v českém či slovenském jazyce 1 bod či v cizím jazyce 2 body, za článek ve sborníku 0,1 či 0,2

body, za český či slovenský patent 50 bodů, za evropský nebo mezinárodní patent či patent USA nebo Japonska 500 bodů, za poloprovoz či ověřenou technologii 75 bodů a za prototyp či funkční vzorek 75 bodů. Je tedy zřejmé, že nejvýše budou hodnoceny patenty, poloprovoz, ověřená technologie, uplatněná metodika, funkční vzorek či autorizovaný software. Z hlediska většiny chemických pracovišť však zřejmě rozhodující roli budou hrát vědecké články v odborném periodiku. Podle zveřejněné definice se jedná o celé texty prací s členěním podle požadavků vydavatele periodika na strukturu publikované vědecké práce (nejčastěji souhrn, úvod, literární přehled, materiál a metody, výsledky, diskuse, závěr). Odborným periodikem je vědecký časopis – bez ohledu na stát vydavatele – který je recenzován, je vydáván jako periodická publikace v tištěné či elektronické podobě a má přidělen ISSN kód. Odborným periodikem není denní tisk ani populárně naučný časopis. Článkem v odborném časopise není podle těchto kritérií abstrakt vědeckého příspěvku např. na konferenci. Mezi výsledky bez bodového ohodnocení budou patřit i výzkumné zprávy, audiovizuální programy, organizování výstav, workshopů a konferencí. Do bodového hodnocení se rovněž nepočítá elektronická forma výstupu, který byl zároveň publikován v jiné, např. tištěné podobě.

Vzhledem k tomu, že v příloze na http://www.vyzkum.cz/UserFiles/File/Hodnoceni_2007/Mediany_IF_oboru_2007.pdf jsou pro jednotlivé chemické obory uvedeny následující mediany IF (analytická chemie 1,427, anorganická chemie 1,402, organická chemie 1,894, fyzikální chemie 1,778 a biochemie 2,476), lze si snadno spočítat, že např. za článek z oblasti analytické chemie v časopise *Chemické listy* (IF 0,431) získá instituce 9,39 bodu ($5 + (15 \times 0,431 / 1,472) = 9,39$), zatímco např. v časopise *Electroanalysis* (IF= 2,444) získá 29,90 bodu ($5 + (15 \times 2,444 / 1,472) = 29,90$). Výrazně nižší bodové ohodnocení sborníků z konferencí bude autory nutně stimulovat spíše k prezentování svých výsledků v impaktovaných časopisech nežli v různých sbornících. A pokud si uvědomíme, že za článek v *Chemických listech* se získá tolik bodů jako za 45 článků ve sbornících ze zahraničních konferencí, může to významným způsobem stimulovat i přísun prací do našeho časopisu. A z toho bychom jistě měli mít radost.

Jiří Barek

SIGNÁLNÍ DRÁHY OXIDU DUSNATÉHO V ROSTLINÁCH

JANA PITERKOVÁ, LENKA LUHOVÁ
a MAREK PETŘIVALSKÝ

*Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity
Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
marek.petrivalsky@upol.cz*

Došlo 30.10.07, přijato 31.1.08.

Klíčová slova: oxid dusnatý, reaktivní formy dusíku, syntéza oxidu dusnatého, nitrátreduktasa, rostlinné hormony

Obsah

1. Úvod
2. Enzymová syntéza NO v rostlinách
3. Neenzymové dráhy syntézy NO v rostlinách
4. Reaktivita a detekce NO v rostlinných buňkách
5. Signální dráhy NO v rostlinách závislé na cGMP a cADPR
6. Signální dráhy NO v rostlinách nezávislé na cGMP
7. Vztah signálních drah NO a rostlinných hormonů
8. Závěr

1. Úvod

Oxid dusnatý (NO) je velmi rozšířeným vnitrobuněčným a mezibuněčným poslem se širokým spektrem regulačních funkcí mnoha fyziologických i patologických procesů v různých typech organismů. Poprvé byl popsán u savců, u kterých se účastní procesů vasorelaxace, neurotransmise, cytotoxicity, regulace imunitního systému a celé řady dalších buněčných a tkáňových pochodů¹. Poznátka o funkci NO v rostlinných systémech byly donedávna ve srovnání s živočišnými systémy velmi omezené, přestože emise NO u rostlin byla poprvé zaznamenána již v roce 1979 (cit.²). Po zveřejnění několika průlomových publikací o úloze NO v signálních drahách a obranném mechanismu rostlin při infekci^{3,4} se studium metabolismu NO v rostlinách stalo středem pozornosti. Výsledky výzkumu publikované v posledních letech potvrzují úlohu NO jako důležité signální molekuly podílející se na regulaci řady rostlinných fyziologických procesů i obranných reakcí ve stresových podmínkách (tab. I). NO se účastní procesů klíčení, růstu, kvetení, pohybu prùduchů, zrání, senescence a programované buněčné smrti^{5,6}. Ve stresových podmínkách se podílí na rostlinné odpovědi a mechanismech odolnosti na různé formy biotického a abiotického stresu⁷.

2. Enzymová syntéza NO v rostlinách

V savčích buňkách je NO produkovan zejména pětielektronovou oxidací guanidinového dusíku L-argininu enzymy nazývanými NO synthasy (NOS, EC 1.14.13.39). Produkty této reakce jsou L-citrulin a NO. NO synthasy jsou hemoproteiny příbuzné rodině cytochromů P450. Tyto enzymy byly původně charakterizovány jako homodimery, ale protože je pro enzymovou aktivitu potřebná navíc vazba dvou monomerů kalmodulinu mezi malou a velkou podjednotku NOS, je funkční holoenzym ve skutečnosti heterotetramer⁸. Kromě kalmodulinu je pro katalytický mechanismus NOS nutná současná účast dalších 4 kofaktorů, zahrnujících hem, FAD, FMN a tetrahydrobiopterin. V živočišných buňkách byly popsány tři isoformy NOS: konstitutivní formy endoteliální NOS a neuronální NOS, a indukovaná forma iNOS. Podle nejnovějších poznatků mohou být formy NOS v různé míře současně exprimovány v jednom typu buněk různých tkání v závislosti na stavu vývoje buňky či vnějších podmínkách⁹.

V posledním desetiletí hledalo mnoho rostlinných biologů analogický enzym produkující NO reakčním mechanismem obdobným NO synthasám savčích buněk. Výsledkem je rostoucí počet publikací naznačujících přítomnost NOS aktivity v rostlinách, ale existence tohoto enzymu nebyla doposud přesvědčivě experimentálně prokázána. Proto navzdory znalosti řady procesů kontrolovaných nebo indukovaných vlivem NO u rostlin zůstávají přesné molekulární mechanismy syntézy tohoto radikálu u různých rostlin za různých podmínek stále předmětem intenzivní diskuse. V současnosti bylo popsáno celkem šest enzymů, které mohou katalyzovat syntézu NO v rostlinných buňkách¹⁰ (tab. II). Ke vzniku NO v rostlinách může vést také řada dalších neenzymových reakcí vycházejících z anorganických sloučenin dusíku (obr. 1).

Prvním jednoznačně identifikovaným enzymovým zdrojem NO v rostlinách byla nitrátreduktasa¹¹ (NR, EC 1.7.1.1.). NR je homodimerní protein s molekulovou hmotností mezi 200 a 250 kDa v závislosti na rostlinném zdroji, přičemž každý monomer obsahuje tři prostetické skupiny: FAD, hem a molybdenový kofaktor. Aktivita NR je posttranslačně regulována reverzibilní fosforylací. Hlavní rolí NR v rostlinách je katalýza NAD(P)H-dependentní dvouelektronové redukce dusičnanu na dusitan. Experimentálně bylo potvrzeno, že za určitých podmínek může docházet k jedoelektronové redukci dusitanu na NO, případně NR může produkovat souběžně s NO také reaktivní nitrační činidlo peroxodusitan¹².

V peroxisomech hrachu byla popsána specifická forma enzymu podobného živočišným NO synthasám¹³. Peroxisomální enzym produkující NO vykazoval podobnou substrátovou a inhibiční specifitu a reagoval s protilátkami připravenými proti indukovatelné formě iNOS. Zatím však

Tabulka I

Souhrn funkcí NO ve fyziologických a patofyziologických procesech u rostlin

Funkce		Lit.
Fyziologické pochody	růst a vývoj	44,56
	klíčení	5,6
	vývoj kořenového systému	22
	pohyb svěřacích buněk průduchů	42,52
	senescence a programovaná buněčná smrt	54
	lignifikace buněčné stěny	53
	metabolismus buněčných organel	13,26
Funkce v buněčných organelách		
Chloroplasty	biosyntéza chlorofylu, fotofosforylace	28
Mitochondrie	regulace cytochrom <i>c</i> oxidasy	32
Peroxisomy	regulace katalasy a askorbátperoxidasy	58
Cytosol	regulace akonitasy	49
Biotický stres	programovaná buněčná smrt	45
	hypersenzitivní reakce	3,4,36,43
	systémová odezva	48
Abiotický stres	poranění	57
	salinita	41
	vysoká teplota	41
	sucho	41
	těžké kovy	34,51

nebyla dále objasněna přesná identita příslušného proteinu či genu a peroxisomální NOS aktivita nebyla potvrzena na žádném jiném pracovišti.

V roce 2003 byla v tabáku popsána indukovatelná forma NO synthasy, jejíž aktivita se výrazně zvyšovala po napadení rostlin virem tabákové mozaiky¹⁴. Stejná skupina popsala podobný enzym i u rajčete v souvislosti s odolností na bakteriální patogen¹⁵, posléze se však tyto výsledky nepodařilo potvrdit a zmíněné publikace byly autory odvolány¹⁶. Stejný osud stihl i nadějný kandidát na konstitutivní formu rostlinné NO synthasy popsané v roce 2003 v *Arabidopsis thaliana*¹⁷. U objeveného proteinu AtNOS1 byla popsána lokalizace v mitochondriích a úloha v obraně rostlinných buněk proti oxidativnímu poškození¹⁸. V navazujících experimentech na spolupracujících pracovištích však bylo zpochybněno, že protein AtNOS1 má NO-synthasovou aktivitu^{19,20} a byl proto přejmenován na

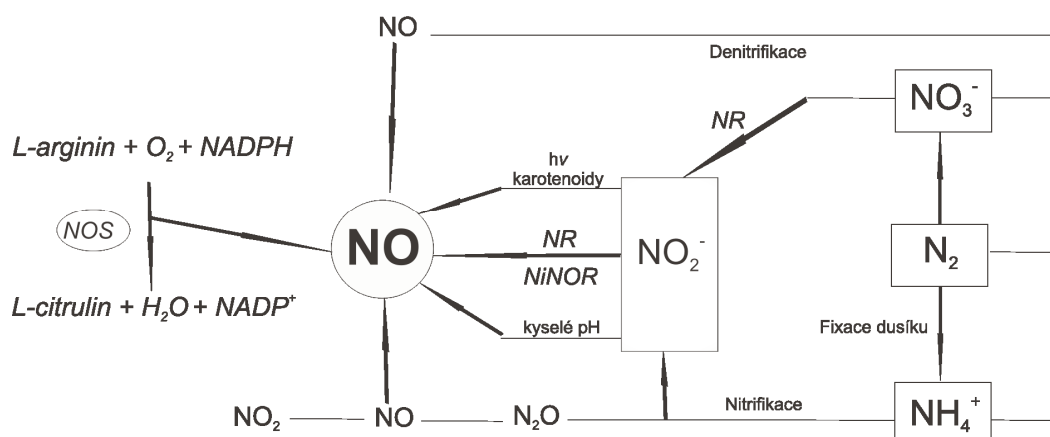
AtNOA1 („nitric-oxide associated“)²¹. Vztah AtNOA1 k biosyntéze a signální roli NO v rostlinách je předmětem aktuálního výzkumu s využitím mutantů *atnoa1* u *A. thaliana*.

Nitrit:NO reduktasa je dalším specifickým rostlinným enzymem podílejícím se na syntéze NO. Tento enzym byl doposud popsán pouze v plasmatické membráně kořenových buněk tabáku společně s kořenově-specifickou formou nitrátreduktasy. Nitrit:NO reduktasa katalyzuje redukci dusitanu na NO, přičemž příslušný donor elektronů *in vivo* zatím nebyl identifikován. Předpokládá se, že NO hraje důležitou roli jako signální molekula během vývoje kořenového systému a rozvoje symbiotických interakcí s půdními bakteriemi na povrchu kořenů²². Kromě zmíněných enzymů byly u rostlin popsány další potenciální enzymatické zdroje produkce NO, ale jejich fyziologický význam je zatím velmi nejasný. Křenová peroxidasa kata-

Tabulka II

Enzymové zdroje NO v rostlinných buňkách

Zdroj	Substrát	Kofaktor(y)	Lit.
Enzym podobný NOS	L-arginin	NADPH, FAD, FMN, tetrahydrobiopterin	3, 4, 13
Nitrátreduktasa	NO ₃ ⁻ (NO ₂ ⁻)	NADH	11
Nitrit:NO reduktasa	NO ₂ ⁻	NADH	22
Xanthinoxidasa	Hydroxymočovina		25
Křenová peroxidasa	N-hydroxyarginin	NADH	23
Cytochrom P450	NO ₂ ⁻	Cytochrom <i>c</i>	24



Obr. 1. **Zdroje NO v rostlinách;** NO je produkován činností nitrátoreduktasy (NR), nitrit:NO reduktasy (NiNOR) a NO synthasy (NOS). Dalšími generátory NO jsou neenzymové reakce NO_2^- : redukce za kyselého pH a světlem poháněná redukce v přítomnosti karotenoidů. NO může vznikat také jako vedlejší produkt denitrifikace, nitrátové asimilace, nebo respirace

lyzuje tvorbu NO *in vitro* za účasti peroxidu vodíku z *N*-hydroxyargininu nebo hydroxymočoviny²³. Další hemoproteiny vyskytující se v rostlinných buňkách jako cytochromy P450, hemoglobiny a katalasa jsou schopny *in vitro* produkovat NO a další oxidy dusíku katalýzou oxidace *N*-hydroxyargininu kumylhydroperoxidem²⁴.

V živočišných buňkách byla také prokázána tvorba NO účinkem xanthinoxidasy obsahující molybden (XOD, cit.²⁵). XOD existuje ve dvou vzájemně proměnných formách: xanthinoxidasa (produkující superoxid, forma O; EC 1.1.3.22) a xanthindehydrogenasa (forma D; EC 1.1.1.204). XOD aktivita byla nalezena v peroxisomech listů hrachu, které jsou pravděpodobně jedním z míst aktivní tvorby NO v rostlinných buňkách^{13,26}.

3. Neenzymové dráhy syntézy NO v rostlinách

K syntéze NO v rostlinách mohou za určitých podmínek významně přispívat také neenzymové procesy. Nízké pH v apoplastu podporuje neenzymovou redukci dusitanu, kdy dusitan dismutuje na NO a dusičnan²⁷. Dusitan může být také chemicky redukován kyselinou askorbovou při fyziologických hodnotách pH na NO a kyselinu dehydroaskorbovou²⁸. Další neenzymový mechanismus navržený pro tvorbu NO v membránách chloroplastů je světlem zprostředkovaná přeměna NO_2^- na NO katalyzovaná karotenoidy²⁹.

4. Reaktivita a detekce NO v rostlinných buňkách

NO je velmi reaktivní volný radikál, jehož poločas života v biologických tkáních se pohybuje řádově

v sekundách³⁰. Konkrétní reaktivita NO v buňkách je značně ovlivněna množstvím a vzájemnou lokalizací vznikajícího NO a potenciálních reaktantů. Typickou reakcí NO v aerobním prostředí je relativně pomalá oxidace molekulárním kyslíkem na NO_2 , tato reakce je však kvantitativně méně významná v buněčných kompartmentech s nízkou koncentrací kyslíku. NO velmi rychle reaguje s jinými radikály zejména ze skupiny reaktivních forem kyslíku. Z biologického hlediska je nejvýznamnější reakce se superoxidovým anionradikálem za vzniku peroxodusitanu. Peroxodusitan jako silné nitrační činidlo dále reaguje s proteiny, lipidy a DNA za vzniku příslušných nitroso- a nitroderivátů³¹.

Další významnou reakcí NO, podobně jako u živočišných buněk, je tvorba nitrosylových komplexů s atomy kovů. Biologicky významnou interakcí je vazba NO na atom Fe^{2+} hemových kofaktorů enzymů, kde nejdůležitějším příkladem je regulace aktivity guanýlátyklyasy podrobněji zmíněná v následující kapitole. Podobně se NO může vázat např. na atomy železa v aktivním místě cytochrom c oxidasy a v komplexech nehemového železa Fe-S proteinů dýchacího řetězce mitochondriálních membrán³².

Hydrofobní povaha a malé rozměry molekuly NO usnadňují její pohyb a případné lokální zvýšení koncentrace v prostředí buněčných membrán, což následně podporuje reaktivitu NO s lipofilními látkami, jako jsou radikálové meziproducty peroxidace membránových lipidů³³. Podobně jako v živočišných buňkách byl také v rostlinných membránách popsán při různých stresových podmínkách antioxidantní a ochranný vliv NO snižující rozsah lipidní peroxidace³⁴. V rostlinách se vyskytuje řada dalších látek s vysokou reaktivitou vzhledem k NO, ty se však většinou za normálních podmínek nachází v jiném buněčném oddílu (např. fenolické látky ve vakuolách) a k jejich kontaktu

s NO dochází až při působení určitého stresového podnětu.

Vzhledem k vysoké reaktivitě je experimentální detekce a kvantifikace NO *in vivo* obtížná. Metody používané u rostlin pocházejí ze studií prováděných v živočišných systémech pouze s adaptací na podmínky rostlinných pletiv. Monitorování NO u rostlin zahrnuje metody jako chemiluminiscence, EPR spektroskopie, elektrochemické sensory, kolorimetrie a fluorimetrie (přehledně shrnuto v cit.³⁵). Pro histochemickou lokalizaci produkce NO fluorescenční nebo konfokální mikroskopii se používají nejčastěji deriváty 4,5-diaminofluoresceinu, specifické fluorescenční sondy pro NO a jeho reaktivní metabolity³⁶, i když jejich specifita a vhodnost pro sledování NO v rostlinných buňkách vzhledem k přítomnosti interferujících látek byla nedávno zpochybněna³⁷.

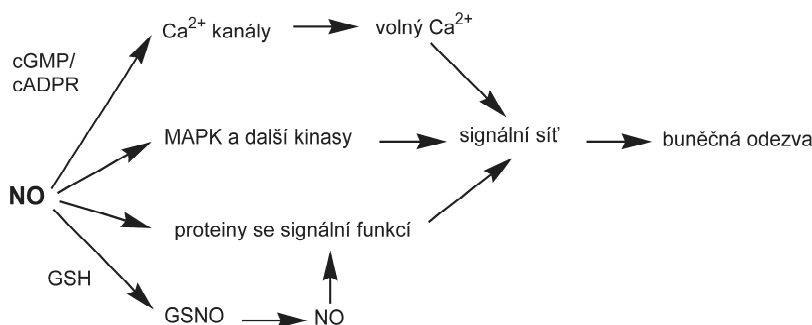
4. Oxid dusnatý jako signální molekula v rostlinách

Přes narůstající počet publikovaných poznatků je naše pochopení signálních funkcí NO u rostlin teprve v počátcích. Podařilo se již identifikovat některé složky přenosových kaskád zprostředkovaných NO, které jsou známé u živočichů (obr. 2). Signální reakce NO v rostlinách zahrnují syntézu sekundárních přenašečů, jako jsou cyklický guanosinmonofosfát (cGMP) a cyklická adenosindifosfát ribosa (cADPR), které vedou ke změnám hladiny cytosolického vápníku. Signální funkce NO jsou také zprostředkovány kovalentními modifikacemi proteinů jako nitrosylace cysteinů a nitrace tyrosinů a fosforylace prostřednictvím MAP kinas. NO specificky ovlivňuje expresi četných genů kódujících proteiny se vztahem k obranným reakcím, metabolismu, buněčné detoxifikaci, transportu, homeostázi železa, signalizaci, kvetení a biosyntéze ligninu³⁸.

5. Signální dráhy NO v rostlinách závislé na cGMP

V živočišných buňkách je jedním z hlavních mechanismů vnitrobuněčné reakce na NO zvýšení hladiny druhého posla cGMP. NO se váže na hemovou prostetickou skupinu enzymu guanylátcykasy a následná konformační změna struktury zvyšuje aktivitu guanylátcykasy o několik řádů. Zvýšená hladina cGMP reguluje aktivity cGMP-dependentních proteinkinasy, cGMP-dependentních iontových kanálů a fosfodiesteras. Signální kaskáda zprostředkovaná NO/cGMP hraje centrální roli v regulaci řady fyziologických i patologických procesů. Také u rostlin byla prokázána signální funkce cGMP v řadě procesů, přestože existence rostlinné guanylátcykasy nebyla dosud jednoznačně potvrzena. Je známa účast cGMP např. v regulaci iontových kanálů nebo indukci genů syntetizujících obranné látky v rostlinách³⁹.

U živočichů aktivuje cyklická ADP-ribosa (cADPR) ryanodinový receptor na membráně endoplasmatického retikula, což vede k mobilizaci iontů Ca^{2+} uložených v retikulu a následnému zvýšení koncentrace volných iontů Ca^{2+} v cytosolu. U rostlin byl popsán také obdobný účinek cADPR na uvolnění Ca^{2+} z vakuoly do cytosolu⁴⁰. V klíčové studii na rostlinách tabáku infikovaných virem tabákové mozaiky prokázali Durner a spol., že aktivace obranných genů je vyvolána zvýšenou syntézou NO v rostlinné buňce a tento mechanismus je zprostředkován cADPR-závislým zvýšením koncentrace cytoplasmatického vápníku⁴. V buňkách tabáku má NO vliv na zvýšení cytosolického volného Ca^{2+} indukovaného hyperosmotickým stresem a mikrobiálním elicitorem kryptoginem⁴¹. Podobně podporují výsledky experimentálních studií hypotézu o roli cytosolického Ca^{2+} ve zprostředkování účinků NO vedoucích k uzavření stomat⁴². Exogenní aplikace NO nebo zvýšení intracelulární produkce NO po kontaktu s mikrobiálním elicitorem vede ke zvýšení intracelulárního Ca^{2+} v buňkách *Vicia faba* a buňkách tabáku⁴³. Tyto vý-



Obr. 2. Schématické znázornění signálních drah NO v rostlinných buňkách; primární cíle NO zahrnují mitogenem aktivované proteinkinasy (MAPK) a Ca^{2+} kanály regulované prostřednictvím změn hladin cGMP a cADPR. NO moduluje aktivitu proteinů nitrosylací thiolových skupin. Stabilní metabolit *S*-nitrosoglutathion (GSNO) může sloužit jako přenašeč signálu NO pro jeho uvolnění a interakce ve vzdálených cílech

sledky potvrzují funkci NO jako intracelulární sloučeniny mobilizující Ca^{2+} v rostlinných buňkách. Obdobné procesy byly popsány i u živočichů. Řada studií prokazuje, že primárními cíli NO jsou kanály propouštějící Ca^{2+} , včetně napětím ovládaných Ca^{2+} kanálů v plasmatické membráně, Ca^{2+} kanálů synchronizovaných cyklickým nukleotidem, a inositoltrifosfátový a ryanodinové receptory. NO moduluje jejich aktivity přímo nitrosylací nebo nepřímo přes signální dráhy zahrnující cGMP anebo cADPR. cADPR syntetizovaný z $\beta\text{-NAD}^+$ v reakci katalyzované ADP-ribosylcyklasou je rozšířeným aktivátorem ryanodinového receptoru⁴⁴. Antagonisté cADPR, inhibitory ryanodinového receptoru a inhibitory cGMP syntézy potlačují u rostlin nárůst koncentrace cytosolického Ca^{2+} vyvolaný NO (cit.⁴³). Přestože z aktuálních poznatků jasně vyplývá významná úloha signální dráhy NO/cGMP v rostlinách⁴⁵, zůstávají vlastnosti enzymů generujících cGMP a cADPR a příslušných Ca^{2+} kanálů modulovaných zvýšenou koncentrací NO neznámé. Mechanismus syntézy cGMP v rostlinách nebyl dosud objasněn. V genomu *A. thaliana* byl identifikován pouze jediný strukturně příbuzný gen AtGC1, exprimovaný protein s guanylátcyklasovou aktivitou však postrádá vazebné místo pro hem a nebylo u něj pozorováno zvýšení aktivity účinkem NO typické pro rozpustné guanylátcyklasy u živočichů⁴⁶. Nedávno byla popsána guanylátcyklasová aktivita i u strukturně odlišného membránového proteinu AtBRI1, receptoru pro brassinosteroidy⁴⁷.

6. Signální dráhy NO v rostlinách nezávislé na cGMP

Další významnou signální dráhou NO v rostlinných buňkách je aktivace kaskády proteinkinas aktivovaných mitogenem (MAPK). Aktivace MAPK vede k reverzibilní fosforylaci enzymů regulující jejich aktivitu. Externí aplikace NO stimuluje MAPK aktivity v listech tabáku a *A. thaliana*⁴⁸. Je také známo, že stejné MAPK mohou být v tabáku aktivovány také dalšími chemickými signály jako kyselina salicylová nebo peroxid vodíku. Aktivace MAPK kaskády v rostlinách tak pravděpodobně představuje společný bod signálních drah aktivovaných v reakci na různé typy stresu.

NO může také nitrosylovat thiolové skupiny cysteinů a tak reverzibilně regulovat strukturu proteinů a enzymovou aktivitu. Typickým příkladem je inhibice aktivity akonitasy nitrosylací popsaná v buňkách tabáku⁴⁹. Dle současných poznatků je nitrosylace cysteinů považována za jednu z nejvýznamnějších posttranslačních modifikací proteinů v rostlinných buňkách, která navíc hraje stěžejní úlohu v obranných reakcích rostlin při napadení patogeny⁵⁰. NO reaguje s glutathionem za tvorby relativně stabilního S-nitrosoglutathionu, který může sloužit jako transportní donor NO v jiných částech buňky nebo rostliny⁵¹.

7. Vztah signálních drah NO a rostlinných hormonů

Současné znalosti o úloze a funkci NO v rostlinách prokazují vzájemnou propojenost signálních drah NO s drahami různých rostlinných hormonů a růstových regulatorů. Často se také ukazuje, že NO společně s dalšími reaktivními formami dusíku a kyslíku zprostředkovává buněčné účinky hormonů na molekulární úrovni. Např. NO produkováný enzymem nitrátreduktasou zprostředkovává uzavření stomat vyvolané aplikací kyseliny abscisové⁵². Podstatou tohoto jevu je regulace iontových kanálů svěracích buněk vlivem NO prostřednictvím změn intracelulární koncentrace vápníku⁴². Podobně auxinový hormon kyselina indolactová indukuje syntézu NO v kořenech okurky⁵³. Naopak interakce mezi NO a ethylenem při dozrávání a senescenci rostlinných pletiv naznačuje antagonistickou činnost obou plynů během těchto období rostlinného vývoje⁵⁴.

Cytokiny indukují syntézu NO v různých rostlinách a NO může zprostředkovávat proces programované buněčné smrti indukované aplikací cytokininů⁵⁵. Podobně polyaminy v růstovém médiu indukují zvýšenou syntézu NO v semenáčcích *A. thaliana*⁵⁶. NO také moduluje syntézu kyseliny salicylové, kyseliny jasmonové a ethylenu během rostlinné odpovědi na vnější stresové faktory⁵⁷.

8. Závěr

Aktuální publikované poznatky potvrzují významnou signální funkci NO v rostlinných buňkách, přestože přesný mechanismus a lokalizace syntézy NO nebyly vždy jednoznačně popsány. V současnosti je velká pozornost věnována studiu vzájemného vztahu a propojení signálních drah NO a dalších reaktivních forem dusíku se signálními drahami reaktivních forem kyslíku a rostlinných hormonů a regulatorů. Řada zásadních výsledků je získávána s využitím dostupných mutantů *A. thaliana*, ve kterých byla ovlivněna exprese enzymů podílejících se na syntéze nebo metabolismu NO. V popředí zájmu stojí také úloha NO a jeho stabilnějších metabolitů v obranných a adaptačních mechanismech rostlin v reakci na vnější stresové podněty.

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 6198959215.

Seznam zkratk

cADPR	cyklická adenosindifosfát ribosa
cGMP	cyklický guanosiin-3',5'-monofosfát
FAD	flavinadenidinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
MAPK	proteinkinasy aktivované mitogenem

NO	oxid dusnatý
NOS	synthasa oxidu dusnatého
NR	nitrátreduktasa
XOD	xanthinoxidasa

LITERATURA

- Ignarro L.: *J. Physiol. Pharmacol.* 53, 503 (2002).
- Klepper L.: *Atmosph. Environ.* 13, 537 (1979).
- Delledonne M., Xia Y., Dixon R. A., Lamb C.: *Nature* 394, 585 (1998).
- Durner J., Wendehenne D., Klessig D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 10328 (1998).
- Crawford N. M., Guo F. Q.: *Trends Plant Sci.* 10, 195 (2005).
- Neill S. J., Desikan R., Clarke A., Hurst R. D., Hancock J. T.: *J. Exp. Bot.* 53, 1237 (2002).
- Wendehenne D., Gould K., Lamotte O., Durner J., Vandelle E., Lecourieux D., Courtois C., Barnavon L., Bentejac M., Pugin A.: *BMC Plant Biol.* 5, S35 (2005).
- Knowles R. G., Moncada S.: *Biochem. J.* 298, 249 (1994).
- Kavya R., Saluja R., Singh S., Dikshit M.: *Nitric Oxide* 15, 280 (2006).
- Crawford N. M.: *J. Exp. Bot.* 57, 471 (2006).
- Yamasaki H., Sakihama Y., Takahashi S.: *Trends Plant Sci.* 4, 128 (1999).
- Yamasaki H., Sakihama Y.: *FEBS Lett.* 468, 89 (2000).
- Barroso J. B., Corpas F. J., Carreras A., Sandalio L. M., Valderrama R., Palma J. M., Lupianez J. A., del Río L. A.: *J. Biol. Chem.* 274, 36729 (1999).
- Chandok M. R., Ytterberg A. J., van Wijk K. J., Klessig D. F.: *Cell* 113, 469 (2003).
- Chandok M. R., Ekengren S. K., Martin G. B., Klessig D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 8239 (2004).
- Klessig D. F., Ytterberg A. J., van Wijk K. J.: *Cell* 119, 445 (2004).
- Guo F. Q., Okamoto M., Crawford N. M.: *Science* 302, 100 (2003).
- Guo F. Q., Crawford N. M.: *Plant Cell* 17, 3436 (2005).
- Zemojtel T., Frohlich A., Palmieri M. C., Kolanczyk M., Mikula I., Wyrwicz L. S., Wanker E. E., Mundlos S., Vingron M., Martasek P., Durner J.: *Trends Plant Sci.* 11, 524 (2006).
- Guo F. Q.: *Trends Plant Sci.* 11, 527 (2006).
- Crawford N. M., Galli M., Tischner R., Heimer Y. M., Okamoto M., Mack A.: *Trends Plant Sci.* 11, 526 (2006).
- Stohr C., Stremlau S.: *J. Exp. Bot.* 57, 463 (2006).
- Huang J., Kim-Shapiro D. B., King S. B.: *J. Med. Chem.* 47, 3495 (2004).
- Boucher J. L., Genet A., Vadon S., Delaforge M., Mansuy D.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184, 1158 (1992).
- Zhang Z., Naughton D., Winyard P. G., Benjamin N., Blake D. R., Symons M. C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249, 767 (1998).
- Del Río L. A., Corpas F. J., Sandalio L. M., Palma J. M., Barroso J. B.: *IUBMB Life* 55, 71 (2003).
- Stohr C., Ullrich W. R.: *J. Exp. Bot.* 53, 2293 (2002).
- Yamasaki H.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1477 (2000).
- Cooney R. V., Harwood P. J., Custer L. J., Franke A. A.: *Environ. Health Perspect.* 102, 460 (1994).
- Thomas D. D., Liu Z. P., Kantrow S. P., Lancaster J. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 355 (2001).
- Szabo C., Ischiropoulos H., Radi R.: *Nature Rev. Drug Discovery* 6, 662 (2007).
- Brown G. C., Borutaite V.: *Free Radical Biol. Med.* JT 33, 1440 (2002).
- Rubbo H., Freeman B. A.: *Methods Enzymol.* 269, 385 (1996).
- Hsu Y., Kao C. H.: *Plant Growth Regul.* 42, 227 (2004).
- Taha Z. H.: *Talanta* 61, 3 (2003).
- Foissner I., Wendehenne D., Langebartels C., Durner J.: *Plant J.* 23, 817 (2000).
- Planchet E., Kaiser W. M.: *J. Exp. Bot.* 57, 3043 (2006).
- Parani M., Rudrabhatla S., Myers R., Weirich H., Smith B., Leaman D. W., Goldman S. L.: *Plant Biotech. J.* 2, 359 (2004).
- Walden R.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 419 (1998).
- Allen G. J., Muir S. R., Sanders D.: *Science* 268, 735 (1995).
- Gould K. S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D.: *Plant Cell Environ.* 26, 1851 (2003).
- García-Mata C., Gay R., Sokolowski S., Hills A., Lamattina L., Blatt M. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 11116 (2003).
- Lamotte O., Gould K., Lecourieux D., Sequeira-Legrand A., Lebrun-García A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D.: *Plant. Physiol.* 135, 516 (2004).
- Eu J. P., Xu L., Stamler J. S., Meissner G.: *Biochem. Pharmacol.* 57, 1079 (1999).
- Vandelle E., Poinssot B., Wendehenne D., Bentejac M., Alain P.: *Mol. Plant. Microbe Interact. MPMI* 19, 429 (2006).
- Ludidi N., Gehring C.: *J. Biol. Chem.* 278, 6490 (2003).
- Kwezi L., Meier S., Mungur L., Ruzvidzo O., Irving H., Gehring C.: *PLoS ONE* 2, 449 (2007).
- Capone R., Tiwari B. S., Levine A.: *Plant Physiol. Biochem.* 42, 425 (2004).
- Navarre D. A., Wendehenne D., Durner J., Noad R., Klessig D. F.: *Plant Physiol.* 122, 573 (2000).
- Lindermayr C., Saalbach G., Durner J.: *Plant Physiol.* 137, 921 (2005).
- Barroso J. B., Corpas F. J., Carreras A., Rodríguez-Serrano M., Esteban F. J., Fernández-Ocana A., Chaki M., Romero-Puertas M. C., Valderrama R., Sandalio L. M., del Río L. A.: *J. Exp. Bot.* 57, 1785 (2006).

52. Desikan R., Griffiths R., Hancock J., Neill S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16314 (2002).
53. Pacoda D., Montefusco A., Piro G., Dalessandro G.: J. Plant. Physiol. 161, 1143 (2004).
54. Leshem Y. Y., Wills R., Veng-Va Ku V.: Plant Physiol. Biochem. 36, 825 (1998).
55. Tun N. N., Holk A., Scherer G. F.: FEBS Lett. 509, 174 (2001).
56. Tun N. N., Santa-Catarina C., Begum T., Silveira V., Handro W., Floh E. I., Scherer G. F.: Plant Cell Physiol. 47, 346 (2006).
57. Huang X., Stettmaier K., Michel C., Hutzler P., Mueller M. J., Durner J.: Planta 218, 938 (2004).
58. Clark D., Durner J., Navarre D. A., Klessig D. F.: Mol. Plant-Microbe Interact 13, 1380 (2000).

J. Piterková, M. Petřivalský, and L. Luhová
(Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc): **Signalling Pathways of Nitric Oxide in Plants**

Purpose of Review

Similarly to animals, nitrous oxide (NO) has emerged recently as a key signalling molecule in many physiological and pathological processes in plants. This review summarizes the current knowledge and understanding of the molecular mechanisms of NO synthesis and signalling in plant cells.

Findings

NO has been shown to participate in vital developmental processes in plants like germination, tissue differentiation, growth, flowering and senescence. NO functions as a signalling molecule in plant responses to abiotic and biotic external stimuli. NO can be produced by several different enzymatic and non-enzymatic reactions, depending on the plant cell type. Actually, the identity and role of plant homologues of animal NO synthases has not been clearly described, while nitrite-dependent NO production by nitrate reductase has been demonstrated in several plant species. High reactivity and mobility of NO in plant cell is the basis for its complex reactions and a wide array of plausible molecular targets. Intracellular downstream NO signalling includes cGMP- and cADP-ribose cascade leading to changes in the intracellular Ca²⁺ level. NO signalling can be mediated by microtubule-associated protein (MAP) kinases or effected by covalent protein modifications such as cysteine nitrosylation.

Conclusions

Despite considerable advances in plant NO research, our understanding of NO signalling pathways is still very limited. Current research is focused on the identification of tissue and subcellular specific NO synthesis and its fate as well as on the crosstalk of NO with signalling pathways of reactive oxygen species and plant hormones. The employment of *Arabidopsis thaliana* mutants with altered expression of enzymes involved in NO synthesis or metabolism will substantially contribute to the elucidation of the NO role in plant cell signalling.



Americké vědecké informační středisko, o.p.s.

VÝZVA

k podávání žádostí o podporu

česko-americké vědeckotechnické spolupráce

Uzávěrka přihlášek je 30. června 2008.

Kontakt:

AMVIS, o. p. s.
Senovážné nám. 24
116 47 Praha 1
Bližší informace na www.amvis.cz
e-mail: amvis@amvis.cz

FORMALDEHYD V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ – STANOVENÍ FORMALDEHYDU METODOU LASEROVÉ A FOTOAKUSTICKÉ DETEKCE

MARTIN FERUS^{a,b}, JAROSLAV CIHELKA^{a,b}
a SVATOPLUK CIVIŠ^a

^a Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského v.v.i., Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 128 23 Praha 8, ^b Fyzikální ústav v.v.i., Akademie věd České republiky, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
civis@jh-inst.cas.cz

Došlo 19.7.07, přijato 7.11.07.

Klíčová slova: formaldehyd, stanovení formaldehydu, spektrální metody, fotoakustická detekce

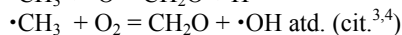
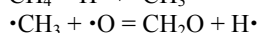
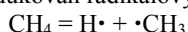
Obsah

1. Formaldehyd v životním prostředí
 - 1.1. Stanovené limity
 - 1.2. Vliv formaldehydu na zdraví
 - 1.3. Stanovení formaldehydu
 - 1.3.1. Spektrofotometrické stanovení
 - 1.3.2. Chemiluminiscenční stanovení
 - 1.3.3. Fluorimetrie
 - 1.3.4. Chromatografické stanovení
 - 1.3.5. Senzory
 - 1.3.6. Spektrální metody
2. Fotoakustická a laserová detekce
 - 2.1. Laserová detekce
 - 2.2. Fotoakustická detekce
 - 2.3. Měření spekter
3. Závěr

1. Formaldehyd v životním prostředí

Formaldehyd je nejvíce zastoupenou karbonylovou sloučeninou v zemské atmosféře a byl detegován i v mezihvězdném prostoru¹. Je zařazen do skupiny těkavých organických látek (tzv. VOC), které jsou v přírodě běžně emitovány do atmosféry. Jejich významným zdrojem je rovněž činnost člověka. Přirozená koncentrace formaldehydu ve vzduchu² činí průměrně $0,5 \mu\text{g m}^{-3}$, ve městech se pohybuje v hodnotách desítek $\mu\text{g m}^{-3}$.

Zdrojem formaldehydu ve vnějším prostředí jsou zejména spalovací procesy, ve kterých je formaldehyd produkován radikálovými reakcemi, např.:



Průmyslové kotle na LPG produkují průměrně $11,2 \text{ mg}$ formaldehydu na 1 kg paliva, kotle na zemní plyn $8,8 \text{ mg kg}^{-1}$ a naftové $4,12 \text{ mg kg}^{-1}$ (cit.⁵). Významným zdrojem formaldehydu je rovněž cigaretový kouř⁶. Jeho prekurzory jsou při teplotách pod $500 \text{ }^\circ\text{C}$ sacharidy a polysacharidy. Při vyšších teplotách se koncentrace formaldehydu v kouři snižuje⁷. Kouř z cigaret obsahuje až $130 \mu\text{g m}^{-3}$ formaldehydu a silní kuřáci (20 cigaret denně) jsou exponováni 1 mg formaldehydu denně⁸. Formaldehyd byl detegován také v kouři ze spalování dřeva^{9,10}. Nezanedbatelným zdrojem je i automobilová doprava. Automobily emitují mezi $16,5\text{--}115,2 \text{ mg}$ formaldehydu na km jízdy¹¹, přičemž významnějším producentem jsou vznětové motory (až 1000 mg formaldehydu na 1 kg paliva¹²).

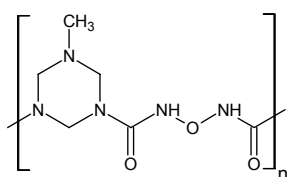
Formaldehyd je meziproductem fotochemických reakcí v atmosféře. Sám je fotolýzován zejména při 320 nm za vzniku oxidu uhelnatého¹³. Formaldehyd byl v městských oblastech prokázán i ve sněhu¹⁴.

Dnešní člověk uvnitř budov tráví až tři čtvrtiny svého života, u nemocných a starších lidí pak toto číslo dosahuje téměř 100% . Koncentrace některých látek (výjimku tvoří např. SO_2 nebo O_3) mohou dosahovat ve vnitřních prostorech vyšších hodnot než venku^{15,16}. To platí zejména pro řadu těkavých organických látek (VOC) včetně formaldehydu. Jeho koncentrace zde mohou dosahovat až desetinásobku hodnot obvyklých pro venkovní prostředí^{17,18} (tab. I).

Majoritním zdrojem formaldehydu ve vnitřních prostorech jsou zejména dřevěné materiály – dřevotřísky a překližky¹⁹. Při jejich výrobě se používá pojidel na bázi formaldehydu²⁰ (obr. 1). 100 g takového materiálu uvolňuje několik miligramů formaldehydu²¹. Povrchovou úpravou se emise sníží až desetkrát. Formaldehyd je uvolňován i z materiálů na bázi vinylu – PVC a gumy. Nebyl však prokázán v emisích z linolea, které je ovšem charakteris-

Tabulka I
Porovnání koncentrací formaldehydu z různých míst

Koncentrace [$\mu\text{g m}^{-3}$]	Lokalizace	Lit.
58,25	město São Paulo	35
8 až 23,5	město Ljubljana	99
6	město Hongkong	100
max 100	město – silný provoz, inverze	9
25	byty	101
9 až 70	byty	102
60 až 622	byty	50
8 až 33	knihovny	114



Obr. 1. Struktura močovino-formaldehydového polymeru

tické jinými aldehydy. Dalším zdrojem formaldehydu jsou barvy²² a fermeže^{23,24}. Emise formaldehydu ze všech materiálů časem exponenciálně klesají. Např. u nového koberce dochází ke snížení emisí VOC na polovinu cca po 3 měsících¹⁰⁸. Teplota a vlhkost vzduchu²⁷ navyšuje emise formaldehydu na každých 10 °C asi 2–3krát^{25,26}. Obměna vzduchu v místnostech snižuje koncentrace formaldehydu, zdvojnásobená cirkulace redukuje koncentrace této škodliviny o polovinu. Jestliže však vnitřní zdroje formaldehydu dominují nad cirkulací, větrání úroveň formaldehydu významně nesnižuje²⁷.

Formaldehyd není problémem jen ve vnitřních prostorech, ale i na pracovištích, např. v papírnách²⁸, provozech zpracovávajících dřevotřísku, či v nemocničním prostředí, kde i na řádně odvětrávaných patologických pracovištích se skladovanými vzorky může dosahovat koncentrace formaldehydu²⁹ od 375 $\mu\text{g m}^{-3}$ až k 2875 $\mu\text{g m}^{-3}$, krátkodobě i 10 750 $\mu\text{g m}^{-3}$.

Formaldehyd vzniká v těle jako sekundární produkt oxidace lipidů. Byl dokázán ve vzduchu vydechaném lidmi s rakovinou plic, což je zřejmě způsobeno produkcí nekrotických proteinů indukujících právě zvýšenou oxidací lipidů. Také u pacientek s rakovinou prsu bylo ve vydechaném vzduchu změřeno mezi 562,5–1500 $\mu\text{g m}^{-3}$ formaldehydu. Zdravá žena vydechovala oproti tomu 375 až 750 $\mu\text{g m}^{-3}$ (cit.³⁰).

Dále bylo zjištěno, že formaldehyd vzniká po smrti enzymatickou redukcí trimethylamin-*N*-oxidu v tkáních mořských ryb a korýšů určených ke konzumaci³¹. Akceptovatelný denní příjem formaldehydu je podle americké Agentury pro ochranu prostředí (EPA) 0,2 mg kg^{-1} . Přitom hluboce zmražená treska obsahuje kolem 4–10 mg kg^{-1} formaldehydu, makrela zmražená doma a uchovávaná po dobu 2 měsíců obsahuje 10,1 mg kg^{-1} , sardinka kolem 6 mg kg^{-1} , pstruh kolem 3,5 mg kg^{-1} (cit.³²). Formaldehyd je rovněž obsažen v alkoholických nápojích, kde byl stanoven v množstvích od 0,27 mg l^{-1} (značka Místá z Itálie) až po 3,01 mg l^{-1} (španělská brandy)³³. Formaldehyd byl nalezen ve vysokých koncentracích až 494 mg kg^{-1} v houkách shiitake (*Lentinula edodes*)³⁴.

1.1. Stanovené limity

Limitní koncentrace formaldehydu považované za bezpečné jsou stanoveny pro dlouhodobý pobyt řádově

v desítkách $\mu\text{g m}^{-3}$, v případě kratších expozic ve stovkách $\mu\text{g m}^{-3}$.

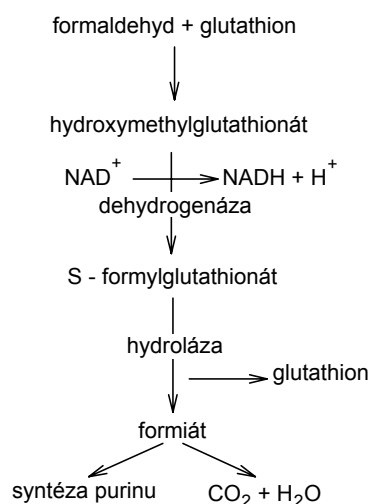
Světová zdravotnická organizace (WHO) připouští třicetiminutový limit koncentrace formaldehydu³⁵ 108 $\mu\text{g m}^{-3}$.

Americká rada vládních hygieniků pro průmysl (ACGIH) doporučuje jako krátkodobý limit 375 $\mu\text{g m}^{-3}$, Americký Národní institut pro pracovní bezpečnost a zdraví (U.S.NIOSH) patnáctiminutový limit 125 $\mu\text{g m}^{-3}$ a dlouhodobě 20 $\mu\text{g m}^{-3}$.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 6/2003 Sb. (cit.³⁶) stanovuje limitní hodinovou koncentraci formaldehydu v místnostech na 60 $\mu\text{g m}^{-3}$. Pro pracoviště je stanoven podle nařízení vlády 178/2001 Sb. (cit.³⁷) přípustný expoziční limit (PEL) na 0,5 mg m^{-3} a nejvyšší mezní přípustná koncentrace (NPK-P) na 1 mg m^{-3} . Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR 26/2001 Sb. zakazuje používání formaldehydu jako potravinářského aditiva (např. bakteriostatické činidlo v sýrech) E240, povoleno je množství do 5 % v kosmetických přípravcích na tvrzení nehtů. Jednotkové riziko pro formaldehyd je podle EPA 1,3·10⁻⁵ $\mu\text{g m}^{-3}$. Kerns a spol.³⁸ zjistili, že při příjmu 14,3 mg $\text{kg}^{-1} \text{den}^{-1}$ onemocní 94 ze 140 sledovaných krys rakovinou. Til a spol.³⁹ stanovili referenční dávku (RfD) na 0,2 mg $\text{kg}^{-1} \text{den}^{-1}$, nejnižší limit, kdy ještě není pozorován škodlivý účinek (NOAEL) 15 mg $\text{kg}^{-1} \text{den}^{-1}$ a nejnižší limit, kdy došlo k pozorování škodlivého účinku (LOAEL) 82 mg $\text{kg}^{-1} \text{den}^{-1}$. Limit NOAEL pro poškození nosní sliznice^{40,41} byl stanoven na 1,25 mg m^{-3} .

1.2. Vliv formaldehydu na zdraví

Formaldehyd je elektrofilní sloučenina, která může reagovat s makromolekulami v organismu (DNA, RNA, proteiny) za tvorby reverzibilních i ireverzibilních aduktů. Formaldehyd je produkován v organismu mj. i oxidační demethylací xenobiotik. Po vstupu do organismu se



Obr. 2. Schematické znázornění odbourávání formaldehydu v organismu

formaldehyd váže na glutathion a enzymatickými reakcemi vzniká kyselina mravenčí, která je přeměněna na CO_2 a vodu, nebo se zapojuje do syntetických procesů^{42,43} (obr. 2).

Expozici formaldehydu, resp. VOC ve vnitřních prostorech, je přikládána řada obtíží zahrnujících astma, astmatické symptomy jako noční dušnost, onemocnění průdušek a plicní nedostatečnost^{44,45}.

Formaldehyd lze vnímat čichem při koncentracích 0,0875–1,5 mg m^{-3} . Někteří citliví jedinci pociťují horkost v obličejí již při koncentracích 0,01 mg m^{-3} . Astmatici⁴⁶ pociťují symptomy při 2,5 mg m^{-3} . Při akutní expozici nastává podráždění hrdla (0,1 mg m^{-3}), podráždění očí (1 mg m^{-3}), únava, bolesti hlavy, nevolnost a po čase zánět spojivek. Při dlouhodobé expozici se dostavuje bronchitida, laryngitida, faryngitida⁴⁷. Dále při větších akutních expozicích lze pozorovat ztížené dýchání (10 mg m^{-3}), poškození dýchacích cest (40 mg m^{-3}), dušení (80 mg m^{-3}) a smrt ($\approx 125 \text{ mg m}^{-3}$)⁴⁸. Bylo prokázáno, že expozice formaldehydu vyšší než 60 $\mu\text{g m}^{-3}$ vede u dětí k prokazatelnému riziku vzniku astmatu⁴⁹. Podráždění kůže způsobuje roztok s koncentrací vyšší než 2 %, avšak citlivé osoby nesnesou již 0,05% roztok.

Předpokládá se, že VOC včetně formaldehydu přispívají ke vzniku tzv. SBS, syndromu nemoci v budovách (Sick Building Syndrome).

Imunotoxické působení formaldehydu je stále předmětem sporů. Podle některých studií je právě toto působení příčinou pozdějšího podráždění kůže a snížené rezistence k infekcím (rhinitis, pneumonie)^{50,51}. Neutrofilly jsou buňky schopné migrovat tkáněmi do postižených míst a pohltit (fagocytovat) bakterie. Hrají důležitou roli v rezistenci proti infekcím⁵². Při expozici formaldehydu je znatelně snížena schopnost těchto buněk produkovat peroxid vodíku⁵³, kterým zabíjejí mikroby. Působení formaldehydu může vést až k dermatitidě a alergii^{54,55}. Prevalence citlivosti na formaldehyd v řádech ppm se však zdá být malá⁵⁶. Wilhelmsson a Holmström⁵⁷ zjistili, že dlouhotrvající expozice formaldehydu spouští alergickou reakci zprostředkovanou imunoglobulinem E, která je běžná při atopii (velká přecitlivělost organismu projevující se alergickou reakcí). Práce publikovaná Lindenem však tento fakt vyvrací⁵⁸. Studie, zabývající se reakcí na krátkodobou expozici 412,5–1662,5 $\mu\text{g m}^{-3}$ formaldehydu během pobytu v laboratoři, nic podobného nezjistila⁵⁹. V lidských průdušnicových buňkách vystavených formaldehydu je ve větší míře přítomen protein Hs 680. Pokusy na krysách poukazují na snížení exprese ribosomálního fosfoproteinu P2 a kalmodulinu⁶⁰. Formaldehyd se také váže kovalentně na lidský sérový albumin (tzn. je hapténem HSA) za vzniku aduktu F-HSA, proti němuž Thrasher a spol.⁶¹ našli v organismu protilátky. Také Carraro a spol.⁶² označuje F-HSA jako biomarker expozice formaldehydu.

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) dnes formaldehyd řadí do skupiny 1 „jako karcinogenní pro člověka“⁶³, ačkoliv dříve byl zařazen do skupiny 2A mezi látky, které jsou z karcinogenních účinků pouze po-

dezřel⁶⁴. Po inhalaci formaldehydu byly pozorovány adukty DNA v nosní sliznici⁶⁵. Chronická expozice je spojována s rakovinou nosu a nosohltanu⁶⁶, avšak karcinogenita formaldehydu byla v řadě studií prokázána typicky při vyšších koncentracích. Úmrtnost na myeloidní leukémii u dělníků, vystavených působení formaldehydu, podle studie provedené Pinkertonem⁶⁷ vzrůstá hlavně při dlouhodobé expozici (zde 20 let). Výměna sesterských chromatid (test mutagenity) byla indukována při překročení koncentrace 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.⁶⁸). Křivka dávka-účinek přitom zaznamenává patrný nárůst při dávce 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$, resp. mezi koncentracemi 2500 $\mu\text{g m}^{-3}$ a 7500 $\mu\text{g m}^{-3}$. Na buňkách savců bylo pozorováno síťování DNA s proteiny a zlomy ssDNA jak *in vitro*, tak *in vivo*. Tato poškození jsou však efektivně opravována⁶⁹.

Odhaduje se, že kolem 70–75 % předpokládaného rizika rakoviny způsobeného VOC připadá na formaldehyd v kombinaci s polycyklickými aromatickými uhlovodíky, butadienem a benzenem. Nebezpečí plynoucí z přítomnosti těchto VOC v prostředí je přirovnáváno k riziku plynoucímu z expozice radonu či cigaretovému kouři⁷⁰.

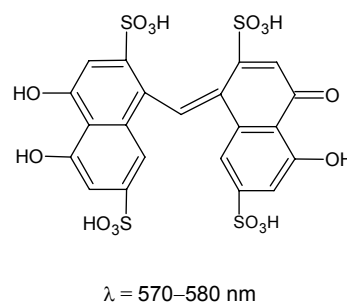
1.3. Stanovení formaldehydu

1.3.1. Spektrofotometrická stanovení

Klasickým stanovením je reakce s kyselinou chromotropovou (4,5-dihydroxynaftalen-2,7-disulfonovou), která probíhá ve vodném 1% roztoku okyseleném kyselinou sírovou. Vzniká fialový produkt, který lze stanovit spektrofotometricky při 570–580 nm (obr. 3). Mez detekce je 81 $\mu\text{g m}^{-3}$. Další klasická metoda je založena na reakci pararosanilinu, siřičitanu a formaldehydu. Vzniká purpurově zbarvená látka silně absorbující při 570 nm (cit.^{71–74}), v tomto případě je mez detekce v řádech desítek $\mu\text{g m}^{-3}$.

1.3.2. Chemiluminiscenční stanovení

Chemiluminiscenční stanovení je založeno na reakci formaldehydu s kyselinou gallovou (3,4,5-trihydroxybenzoová) a peroxidem vodíku v silně alkalickém prostředí. Excitované singletové atomy kyslíku vyzařují světlo s emisními pásy 463 nm, 702 nm a 762 nm a přecházejí při tom do základního stavu⁷⁵. Limit detekce je 12,3 $\mu\text{g m}^{-3}$.



Obr. 3. Struktura uvažovaného produktu reakce formaldehydu s kyselinou chromotropovou

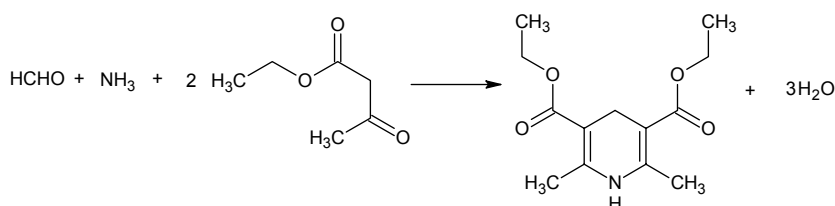
1.3.3. Fluorimetrie

Fluorimetricky lze detegovat produkt Hantzschovy reakce formaldehydu s činidlem standardním fluorimetrem. Octan amonný, kyselina octová a acetylaceton (pentan-2,4-dion) reagují s formaldehydem za vzniku 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidinu⁷⁶. Stanovení lze rovněž provést v průtokovém režimu reakcí 5,5-dimethylcyklohexan-1,3-dionu (dimedonu) v prostředí octanu amonného. Excituje se zářením o vlnové délce 395 nm a emisní maximum je při 465 nm. Bylo dosaženo limitu detekce⁷⁷ 1,125 $\mu\text{g m}^{-3}$. Fluorimetrie byla rovněž použita při reakci HCHO s formiátdehydrogenasou (FDH). Záření o vlnové délce 350 nm excituje molekuly vzniklého NADH, které pak emitují záření s maximem o vlnové délce 450 nm (cit.⁷⁸). Mez detekce je 0,25 $\mu\text{g m}^{-3}$. Jiná metoda je založena na katalytickém rozkladu formaldehydu. Produkty při přechodu do nižšího energetického stavu emitují záření. Pro rozklad formaldehydu se ukázal jako nejvhodnější katalyzátor $\text{V}_2\text{O}_5\text{-4 TiO}_2$ zahřátý na teplotu 370 °C. Je emitováno záření o vlnové délce 490 nm. Použit byl detektor s optickým filtrem a fotonásobičem. Citlivost byla v řádech⁷⁹ mg m^{-3} . Fluorescence indukovaná laserem⁸⁰ oproti tomu používá k excitaci molekul formaldehydu laditelný laser. Citlivost metody je 12 $\mu\text{g m}^{-3}$.

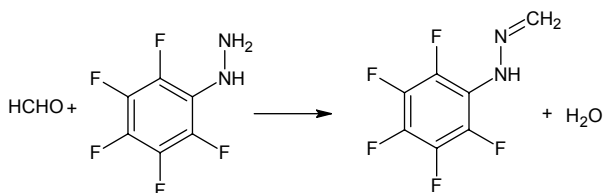
1.3.4. Chromatografické stanovení

Běžnou metodou je použití vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC) v kombinaci s různými detektory, zejména typu s diodovým polem. Metoda však vyžaduje chemickou reakci formaldehydu s derivatizačním činidlem, např. směsí ethyl-3-oxobutanoátu s amoniakem v Hantzschově dihydropyridinové syntéze (reakce na obr. 4). Reakce vede ke vzniku diethyl-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylátu, který se stanoví HPLC s mobilní fází směsí methanolu a vody⁸¹.

Je rovněž možné provést mikroextrakci na pevnou fázi (SPME). Sorpce VOC (vč. formaldehydu) probíhá na



Obr. 4. Derivatizační reakce HCHO s ethyl-3-oxobutanoátem; produkt se stanoví metodou HPLC



Obr. 5. Derivatizace HCHO pentafluorfenylhydrazinem; produkt se stanoví plynovou chromatografií

poly(dimethylsiloxan)divinylbenzenové vlákno (PDMS/DVB) impregnované *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamin-hydrochloridem (PFBHA) jakožto derivatizační látkou 2 min extrakcí vodného roztoku. Vzorování probíhá 10 min. Následně se produkt stanoví plynovou chromatografií s plamenovým ionizačním detektorem (FID) či fotoionizačním detektorem (PID). Limit detekce^{82–84} je 6,25 $\mu\text{g m}^{-3}$. Mikroextrakce na pevnou fázi (SPME) byla využita rovněž ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií s isotopovým zředováním. Použit byl isotopově značený formaldehyd s uhlíkem ¹³C a formaldehyd byl derivatizován *in situ* pentafluorfenylhydrazinem⁸⁵ (reakce na obr. 5). Hmotnostní detekce SPME-GC-MS (MSD 5973 od Agilent Technologies) byla využita v práci Bianchiho a spol.⁸⁶.

1.3.5. Senzory

Ke stanovení formaldehydu lze použít biosenzory různých konstrukcí. Základem je reakce analytu s enzymem – např. formaldehydu a formaldehyddehydrogenasy na povrchu membrány s NAD jako kofaktorem. Tento systém byl přichycen na elektrodě pokryté platinovou čerňou a lipofilní látkou – solí tetrathiafulvalenu a tetra-*k*-cyanindimethanu. Předávané elektrony jsou amperometricky detegovány⁸⁷. Byl rovněž použit biosenzor konstruovaný ze zlatých a chromových vrstev napařených na keramickém nosiči s aktivní vrstvou alkoholoxidasu s hovězím sérovým albuminem, dextranem a laktinolem. Reakce senzoru byla měřena konduktometricky⁸⁸. Formaldehyd lze stanovit v koncentracích desetinných mmol l^{-1} . Problémem těchto analýz je selektivita enzymu. Jinou (starší) metodou bylo uchycení enzymatického komplexu NAD^+ s redukováným glutathionem na vibrující piezoelektrický krystal. Vznikem reakčních produktů na povrchu se snížila frekvence vibrací krystalu⁸⁹. Limit detekce je v řádu mg g^{-1} .

Klasickým senzorským stanovením bez použití enzymů je např. metoda mikrosenzoru založeného na oxidaci

formaldehydu na žhaveném katalyzátoru NiO. Měřeny jsou elektrické vlastnosti filmu NiO s limitem detekce⁹⁰ $1500 \mu\text{g m}^{-3}$.

1.3.6. Spektrální metody

Formaldehyd byl stanovován metodou diferenční laserové spektroskopie DOAS. Principem metody je rychlá změna absorpce látky v úzkém vlnočtovém intervalu. Výhodou stanovení je eliminace změn v prostředí (atmosféra). Diferenční laserová spektroskopie využila laserů (laser typu DFB s vlnovou délkou 1561 nm a typu DBR s vlnovou délkou 1083 nm) operujících ve spektrální oblasti $3,53 \mu\text{m}$ (2832 cm^{-1}) s použitím periodicky přepólovávaného krystalu LiNbO_3 (PPLN) a HgCdTe (MCT) detektoru. Bylo dosaženo detekčního limitu⁹¹ $0,4 \mu\text{g m}^{-3}$.

Formaldehyd byl rovněž detegován optoakustickou detekcí⁹² při koncentracích v jednotkách $\mu\text{g m}^{-3}$ (ppb). V experimentu byl použit diodový 6 W Nd:YAG laser v kombinaci s optickým parametrickým oscilátorem a periodicky přepólovávaným krystalem LiNbO_3 . Hrubé ladění bylo prováděno změnou teploty PPLN krystalu, jemně pak pohybem zrcadla za pomoci mikro-krokového motorku. Měřeno bylo v rozsahu $2785\text{--}2840 \text{ cm}^{-1}$ s limitem detekce $3,75 \mu\text{g m}^{-3}$.

Zajímavé možnosti nabízí klasická absorpční spektroskopie za použití diodových laserů⁹³. Mez detekce je obvykle $0,3 \mu\text{g m}^{-3}$. Velmi nízký limit detekce byl zaznamenán Wertem⁹⁴. Metoda založená na zmíněné laserové absorpční spektroskopii využívající diodu bázi soli olova dosáhla v multireflexní cele s optickou dráhou 100 m meze detekce $6,5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g m}^{-3}$ při jednominutovém integračním čase.

1.3.7. Standardní testy a stanovení

Standardním testem pro stanovení emise formaldehydu z materiálů je komorový test (Švédská norma SS 27 02 36, norma ENV 717-1). Provádí se uzavřením 1 m^2 vzorku do komory o objemu 1 m^3 při $23 \text{ }^\circ\text{C}$, 50% vlhkosti s jednotkovou výměnou vzduchu za hodinu. Formaldehyd je stanoven fotometricky po reakci absorpčního roztoku s kyselinou chromotropovou nebo acetylacetonem. Komo-

ra s překližkou a dřevotřískou ve studii Z. Queho⁹⁵ obsahovala po 24 h $725 \mu\text{g m}^{-3}$ formaldehydu. Podle NIOSH (cit.⁷³) se komorový test provádí absorpcí formaldehydu do $0,1 \text{ M NaOH}$ nebo $1\% \text{ NaHSO}_3$ a následnou analýzou HPLC. Pro vzorek o objemu 60 l je limit detekce $37,5 \mu\text{g m}^{-3}$. Je rovněž doporučována plynová chromatografie s FID detektorem. Metoda namáčení vzorku v 50 ml vody o teplotě $40 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 3 h je normována podle EN 717-3/1996. Formaldehyd je stanoven fotometricky za použití acetylacetonu. Podle DIN EN 120 je materiál propírán toluenem a vodou. Formaldehyd je zachycován v destilované nebo deionizované vodě, kde následně probíhá Hantzschova reakce s amonnými ionty (octan amonný) a acetylacetonem. Reakce vede k diacetyldihydrolutidinu. Stanovení probíhá na UV spektrometru. Na základě množství formaldehydu uvolňovaného do prostředí (zde modelově do komory, resp. roztoku) jsou materiály rozděleny do tříd E1 (10 mg ze 100 g výrobku, resp. pod $1,5 \text{ mg l}^{-1}$) a E2 (do 30 mg ze 100 g výrobku, resp. $1,5 \text{ mg l}^{-1}$). Podrobné shrnutí nabízí práce Risholma⁹⁶.

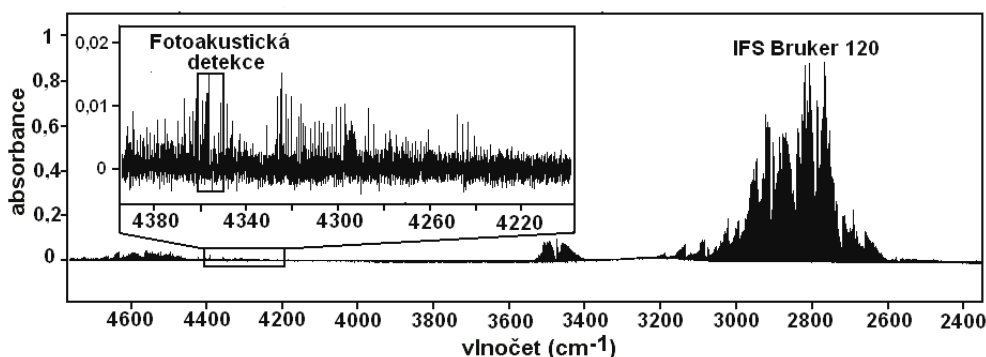
Podle vyhlášky 211/2004 Sb. (cit.⁹⁷) ve znění pozdějších předpisů se formaldehyd stanovuje Schiffovým činidlem srovnáním zabarvení roztoku se standardem a podle vyhlášky 222/1996 Sb. (cit.⁹⁸) se formaldehyd stanovuje reakcí s kyselinou chromotropovou spektrofotometricky při 570 nm. České hygienické stanice používají ke stanovení formaldehydu pararosanilinovou metodu.

2. Fotoakustická a laserová detekce

2.1. Laserová detekce

Absorpční spektrální metody jsou založeny na měření rozdílu intenzit mezi vstupním a výstupním zářením. Při monitorování nízkých koncentrací absorbujících látek jsou rozsahy vstupních a výstupních intenzit použitého záření velmi malé.

Aplikace laserových detekčních technik má řadu výhod. Použitím laseru a technik založených na jeho aplikaci např. metodou vícenásobného odrazu (tzv. cavity ring



Obr. 6. Spektrum formaldehydu v blízké infračervené oblasti při tlaku 1 Torr; označen je spektrální rozsah MQW laseru fotoakustické detekce. Širokopásmové spektrum bylo měřeno spektrometrem IFS Bruker 120

down) nebo fotoakustické detekce lze značně zvýšit detekční citlivost i při nízkých koncentracích studovaných látek.

V této práci byl použit diodový GaInAsSb/AlGaAsSb (tzv. MQW) laser^{104–106} ve spojení s fotoakustickou detekční aparaturou koncipovanou pro měření ve spektrální oblasti 2,3 μm (4356 cm^{-1}) (obr. 6). Diodové lasery jsou schopny pracovat za laboratorní teploty v oblasti středního infračerveného záření. V jednom módu jsou změnou proudu laditelné v rozsahu desítek reciprokových centimetrů. Dosahují dostatečného výkonu při nízkém optickém šumu. Relativně vysoký výkon dovoluje nahradit klasickou absorpční laserovou techniku rezonančním fotoakustickým uspořádáním.

2.2. Fotoakustická detekce

Fotoakustický systém umožňuje detegovat slabé signály za nepřítomnosti silného ofsetového signálu pozadí. Jednou z cest, jak využít této myšlenky, je opustit klasické absorpční schéma vyhodnocení na základě rozdílu vstupních a výstupních signálů a měřit absorbovanou energii jiným způsobem. Molekula, která absorbuje foton, má několik možností, jak se zbavit této energie. Za atmosférického tlaku je nejpravděpodobnější cestou kolize s jinou molekulou a konverze absorbované energie na kinetickou energii molekulárního pohybu. Jestliže se excitační záření pohybuje v infračervené spektrální oblasti, pak je absorbováno molekulami a následuje vibračně-translační relaxace. Vzárust kinetické energie molekuly se projevuje změnou tlaku v uzavřeném objemu vzorkovací kyvety. Tato změna může být velice citlivě detegována mikrofonom. Získaný fotoakustický signál (S) lze jednoduše vyjádřit jako:

$$S = CN\sigma P \quad (1)$$

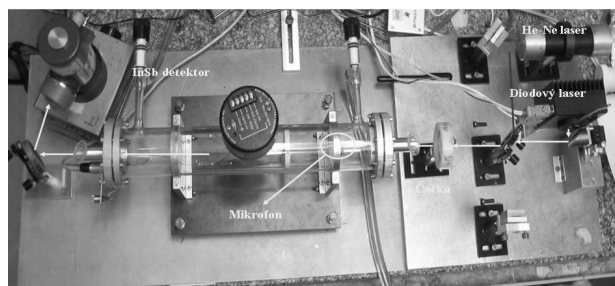
kde C je konstanta charakterizující parametry fotoakustické cely (délka, účinný průřez a citlivost mikrofону), N je počet absorbujících molekul v cm^3 , σ je absorpční účinný průřez absorbující molekuly a P je výkon laseru. V porovnání s klasickou absorpční spektrometrií je fotoakustický signál měřen prakticky na nulovém pozadí. Tento fakt spolu s lineární charakteristikou mikrofónu poskytuje obrovský dynamický rozsah (až 5 řádů nebo více).

Minimální detegovatelnou fotoakustickou absorpční $N_{\min}\sigma L$ lze určit jako:

$$N_{\min}\sigma L = \frac{S_{\min}}{PC} = 10^{-8} \quad (2)$$

kde N_{\min} je minimální detegovatelná koncentrace dané molekuly, L je optická dráha a S_{\min} je minimální šum mikrofónu ($S_{\min}/P = 30\text{--}50\text{ nV W}^{-1}$ a $C \approx 3.5\text{ V cm W}^{-1}$). Z rovnice (1) a (2) lze odvodit, že malé absorpce a tudíž stopové koncentrace mohou být fotoakusticky detegovány (PA) i na malé optické dráze.

Fotoakustický jev byl poprvé popsán Grahamem Bellem v roce 1880 (cit.¹⁰⁷), když přes mechanický přerušovač



Obr. 7. Fotoakustická aparatura; na obrázku vpravo nahoře je He-Ne trasovací laser. Vlastní dioda je teplotně stabilizována v držáku Thorlab TCLMD M9. Paprsek je fokusován optickou soustavou do akustického rezonátoru mezi dvojicí měřících mikrofónů. Svazek, který prochází kyvetou je paralelně monitorován polovodičovým InSb detektorem

zaostřil sluneční záření do kapalného vzorku a pomocí sluchátka registroval akustický signál se stejnou frekvencí, jakou měl přerušovač. Podobného jevu lze dosáhnout nejen v kapalinách, ale i ve skupenstvích plynných a pevných. Krátce po zveřejnění Bellovy práce se tímto jevem zabývali další badatelé jako Tyndall¹⁰⁸, Rayleigh¹⁰⁹ nebo Röntgen¹¹⁰.

První využití tohoto jevu ke stanovení plynů, kdy již můžeme hovořit o PA detekci, lze nalézt až v práci Viengerova¹¹¹ z konce 30. let 20. století.

Velkého rozmachu dosáhla fotoakustická detekce rozvojem laserů jako zdrojů pro buzení akustického signálu. V roce 1968 byl poprvé použit CO₂ laser pro detekci CO₂ v dusíku¹¹². V 80. letech vzrostla poptávka po citlivém detekčním zařízení pro studium stopových látek v atmosféře.

Při měření bylo využito rezonance signálu uvnitř akustické kyvety (vznik stojatého vlnění uvnitř rezonátoru, kdy platí vztah $k\lambda = l/2$, kde l je délka rezonátoru, λ vlnová délka a k je celé číslo). Metoda je nazývána „rezonanční fotoakustická detekce“.

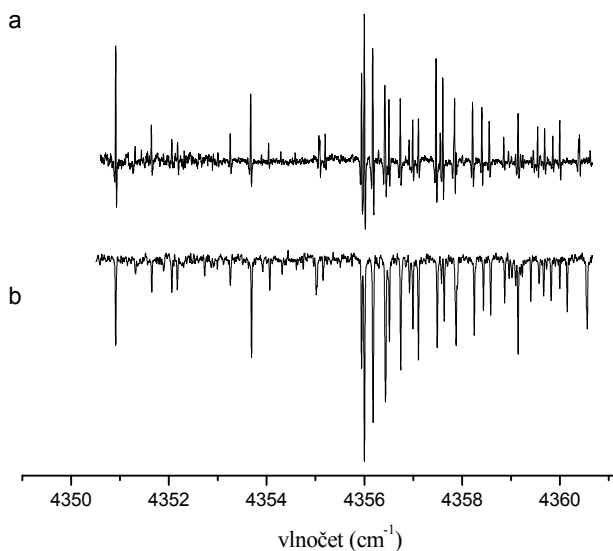
Fotoakustická kyveta (obr. 7) je dvouplášťová, přičemž vlastní skleněný rezonátor má průměr 5 mm a délku 200 mm. Rezonanční frekvence zařízení je cca 380 Hz. Uprostřed rezonátoru jsou proti sobě umístěny dva mikrofóny Knowles EK-3024, jejichž signál je veden do fázově citlivého zesilovače (Stanford Research System-SR 530 Lock-in amplifier) a data jsou ukládána v počítači. Kyveta je v Brewsterově úhlu opatřena okénky z fluoridu vápenatého.

2.3. Měření spekter

Měření probíhalo za laboratorní teploty při frekvenční modulaci laseru na kmitočtu 388 Hz. Tato hodnota byla získána experimentálně kalibračním měřením pro vlnočet 4355 cm^{-1} . Signál byl zpracováván za použití druhé derivace ($2f$), kde f je fundamentální modulační frekvence. Pro kalibraci bylo použito spektrum s rozlišením $0,01\text{ cm}^{-1}$, získané měřením spektrometrem s Fourierovou transfor-

mací Bruker IFS 120 HR.

Při vlastním experimentu byl plynný formaldehyd uvolňován zahříváním paraformaldehydu na 80 °C. Takto získaný vzorek byl ředěn dusíkem na výsledný tlak



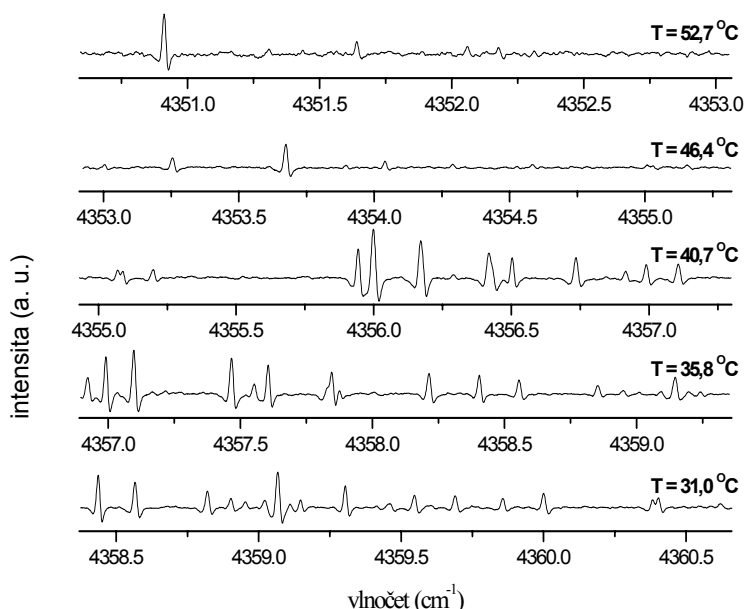
Obr. 8. Laserdiodové fotoakustické spektrum formaldehydu (a) zředěného vzduchem v poměru 1:3 při tlaku 55 Torr a spektrum změřeném při tlaku 10 Torr přístrojem Bruker IFS 120 (b)

55 Torr. Měření bylo provedeno ve stacionárním stavu. Laserová dioda byla laděna v požadovaném frekvenčním rozsahu excitačním proudem od 60 do 90 mA při teplotách 31 až 52,7 °C, čímž bylo dosaženo kontinuálního proladění v rozsahu 10 cm⁻¹. V oblasti emise GaInAsSb/AlGaAsSb diody se nacházejí absorpční pásy formaldehydu, především $\nu_3 + \nu_5$, dále pak pásy $\nu_2 + \nu_5$, $\nu_2 + \nu_3 + \nu_6$, $\nu_2 + \nu_3 + \nu_4$ a $2\nu_3 + \nu_6$. Výsledné linie byly srovnány s velmi přesnými analýzami spekter od J. M. Flauda¹¹³.

Srovnáním dat z FT spektrometru a diodového laseru byly pro fotoakustické měření vybrány tři nejintenzivnější linie v oblasti 4356 cm⁻¹. Na nich bylo provedeno fotoakustické měření s detekčním limitem 125 μg m⁻³. Obr. 8 ukazuje diskutovanou část spektra naměřenou laserovou fotoakustickou detekcí v porovnání se spektrem měřeným spektrometrem s Fourierovou transformací. Část změřených fotoakustických a laserových spekter zachycují obr. 9 a 10, přičemž tepelné ladění laseru je ukázáno na obr. 9. Při měření nízkých koncentrací byla provedena tři měření s integračním časem 150 s. Jejich výsledky pak byly průměrovány.

3. Závěr

Formaldehyd je látkou, jež ohrožuje zdraví člověka hlavně svou prokázanou karcinogenitou. Z tohoto důvodu je třeba vyvarovat se jeho expozici zejména ve vnitřních prostorech, ale pokud možno také venku.



Obr. 9. Laserem měřené spektrum formaldehydu při koncentraci 1250 μg m⁻³ ve vzduchu (50 Torr); obrázek též zachycuje stabilizační teploty laseru pro jednotlivé spektrální oblasti

Pro stanovení této sloučeniny byla vyvinuta řada metod a to i standardizovaných. V laboratoři FT a laserové spektrometrie byla vyzkoušena metoda rezonanční fotoakustické detekce. Fotoakustická detekce se ukázala jako velice jednoduchá, levná a prakticky použitelná metoda. Její nevýhodou však je menší citlivost ve srovnání se spektrofotometrickými technikami využívajícími absorpci či emisi záření ve viditelné oblasti světla.

Na základě studia infračervených spekter se ukázalo, že vhodným laserem konstruovaným pro oblast 3,5 μm (2800 cm^{-1}) by se dosáhlo o 3 řády větší citlivosti díky mnohonásobně větší absorpci základního absorpčního pásu formaldehydu oproti slabým kombinačním pásům v oblasti 4350 cm^{-1} . Všechny v současnosti komerčně dostupné lasery, emitující záření v oblasti 3,5 μm , pracují při teplotě kapalného dusíku či teplotách nižších. Dalšího možného zvýšení citlivosti lze docílit použitím výkonnějších laserů. Takovými lasery jsou nově konstruované kvantově kaskádové lasery, pracující v pulzním nebo kontinuálním režimu, jejichž výkon je řádově 40× větší, než u námi použitých GaInAsSb/AlGaAsSb laserů. Kombinací těchto faktorů lze tedy očekávat citlivost řádově v oblasti jednotek ppb, tedy hodnot z hlediska možných analytických aplikací již velice slibných.

Autoři děkují za podporu projektu Grantové agentury Akademie věd České republiky (Grant č. IAA400400705 a ESF programu INTRON).

Seznam zkratk

DBR	Distributed Bragg reflector laser – typ diodového laseru
DFB	Distributed feed-back laser – typ diodového laseru
EPA	Environmental protection agency – Agentura ochrany prostředí (USA)
HSA	human serum albumin – lidský sérový albumin
IARC	International agency for research on cancer
LOAEL	lowest observable adverse effect level – nejnižší limit s pozorovaným škodlivým účinkem
MQW	Multi-quantum well
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health – Národní institut pro pracovní bezpečnost a zdraví
NOAEL	no observable adverse effect level – nejnižší limit, kdy není pozorován škodlivý účinek
NPK-P	nejvyšší přípustná koncentrace v pracovním prostředí
PA	fotoakustická detekce
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbons – PAU polycyklické aromatické uhlovodíky
PEL	přípustný expoziční limit
PVC	polyvinylchlorid
RfD	referenční dávka
SBS	sick building syndrome – syndrom onemocnění

	v budovách
SPME	solid phase microextraction – mikroextrakce na pevnou fázi
VOC	volatile organic compounds – těkavé organické sloučeniny
WHO	World health organisation – Světová zdravotnická organizace

LITERATURA

- Ehrenfreund P., Charnley S. B.: *Annu. Rev. Astron. Astrophys.* 38, 427 (2000).
- Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. Vol. 62: *Wood Dust and Formaldehyde*. IARC, Lyon 1995.
- Turns S. R.: *An Introduction to Combustion: Concepts and Applications*. Mc Graw-Hill, New York 1996.
- Yossefy D., Ashcroft S. J., Hacoheh J.: *Fuel* 7, 1061 (1995).
- Karademir A.: *Fuel* 85, 1894 (2006).
- Tobacco smoking*. vol. 38: *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, IARC, Lyon 1985.
- Baker R. R., Coburn S., Liu C.: *J. Anal. Appl. Pyrol.* 77, 12 (2006).
- Concise International Chemical Assessment Document 40 – Formaldehyde*. WHO, Geneva 2002.
- Environmental Health Criteria Document 89*. WHO, Geneva 1989.
- Lipari F., Dasch J. M., Scruggs W. F.: *Sci. Technol.* 18, 326 (1984).
- Ramdahl T., Alfheim I., Rustad S., Olsen T.: *Chemosphere* 11, 601 (1982).
- de Abrantes R., de Assuncao J. V., Hirai E. Y.: *Rev. Saude Publica* 39, 479 (2005).
- Kohoutek J., Holoubek I.: *Vývoj složení emisí z automobilové dopravy v závislosti na technickém pokroku v konstrukci vozidel*. Tocoen Report č. 116, Brno 1996.
- Pinceloup S., Laverdet G., Magdin F.: *J. Photochem. Photobiol., A* 157, 275 (2003).
- Domine F., Shepson P. B.: *Science* 279, 1506 (2002).
- Godish T.: *Atmos. Environ.* 23, 1695 (1989).
- Hoeppe P., Martinac I.: *Int. J. Biometeorol.* 42, 1695 (1998).
- Samet J.: *Am. Rev. Respir. Dis.* 142, 915 (1990).
- Kim S., Kim J. A., Kim H. J.: *Polym. Test.* 25, 605 (2006).
- Kelly T. J., Smith D. L., Satola J.: *Environ. Sci. Technol.* 33, 81 (1999).
- Brown S. K.: *Indoor Air* 9, 209 (1999).
- Chang J. C. S., Fortmann R., Roache N., Lao H. C.: *Indoor Air* 9, 253 (1999).
- Howard E. M., McCrillis R. C., Krebs K. A., Fortman R., Lao H. C., Guo Z.: *J. Air Waste Manage*

- 48, 924 (1998).
24. Chang J. C. S., Guo Z., Fortmann R., Lao H. C.: *Indoor Air* 12, 10 (2002).
 25. Brown V., Crump D., Gavin M.: *Building Res. Establishment*. BRE report BR 299. London 1996.
 26. Gilbert N. L., Gauvin D., Guay M.: *Environ. Res.* 102, 1 (2006).
 27. Sherman M. H., Hodgson A. T.: *Indoor Air* 14, 2 (2004).
 28. Kauppinen T., Teschke K., Savela A., Kogevinas M., Boffetta P.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 70, 119 (1997).
 29. Koda S., Kumagai S., Ohara H.: *Acta Med. Okayama* 53, 217 (1999).
 30. Ebeler S. E.: *J. Chromatogr., B* 702, 211 (1997).
 31. Sotelo C. G., Pineiro C., Perez-Martin R. I.: *Lebensm.-Unters. Forsch.* 200, 14 (1995).
 32. Bianchi F.: *Food Chem.* 100, 1049 (2007).
 33. Burini G., Coli R.: *Anal. Chim. Acta* 511, 15 (2004).
 34. Liu J.: *Talanta* 65, 705 (2005).
 35. *Update and revision of WHO air quality guidelines for Europe*. WHO, Copenhagen 1994. Dostupné z URL: [http://www.who.nl/index1.htm\[2001Out17\]](http://www.who.nl/index1.htm[2001Out17]), staženo 1.8.2007.
 36. Vyhláška 6/2003 Sb. *kteřou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb*.
 37. Nařízení vlády 178/2001 Sb. *kterým se stanoví podmínky ochrany zdraví zaměstnanců při práci*.
 38. Vyhláška 26/2001 Sb. *o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby zodpovědné za výrobu kosmetického prostředku*.
 39. Kerns W. D.: *Cancer Res.* 43, 4382 (1983).
 40. Til H. P.: *Food Chem. Toxicol.* 27, 78 (1989).
 41. Josje H. E.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 79, 283 (2006).
 42. Bos P. M. J.: *Crit. Rev. Toxicol.* 21, 423 (1992).
 43. *Formaldehyde*. Chapter 5.8., WHO Regional Office for Europe, Copenhagen 2001.
 44. Norback D.: *Occup. Environ. Med.* 52, 388 (1995).
 45. Weislander G.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 69, 115 (1997).
 46. Witek T. J., Schachter E. N., Brody D. J.: *Arch. Environ. Health* 42, 230 (1987).
 47. Carrer P., Maroni M., Alcini D.: *Sci. Total Environ.* 270, 33 (2001).
 48. Shi Q. W., Jia D. Y., Geng S. B.: *Chin. J. Contam. Contr. Air Condit. Technol.* 2, 38 (2005).
 49. Rumchev K., Spickett J., Bulsara M.: *Eur. Respir. J.* 20, 403 (2002).
 50. Agovska A., Nosko M.: *Probl. Hyg.* 1, 3 (2000).
 51. Nosko M., Petrova E., Lyapina M.: *Hyg. Public Health* 2, 16 (1999).
 52. Sawyer D. W., Donovan G. R., Mandell G. L.: *Rev. Infect. Dis.* 11, S1532 (1989).
 53. Lyapina M., Zhelezova G., Petrova E., Boev M.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 77, 335 (2004).
 54. Garrett M. H., Rayment P. R., Hooper M. A., Abramson M. J., Hooper B. M.: *Clin. Exp. Allergy* 28, 459 (1998).
 55. Nordman H., Keskinen H., Tuppurainen M.: *J. Allergy Clin. Immunol.* 75, 91 (1985).
 56. Becher R.: *Toxicol. Lett.* 86, 155 (1996).
 57. Wilhelmsson B., Holmstrom M.: *Scand. J. Work Environ. Health* 18, 403 (1992).
 58. Linden S.: *Allergy* 48, 525 (1983).
 59. Ohmichi K., Komiyama M., Matsuno Y.: *J. Health Sci.* 52, 642 (2006).
 60. Jung Y. M., Chung H., Han B. D.: *Toxicol. Lett.* 164, S299 (2006).
 61. Thrasher J. D., Broughton A., Madison R.: *Arch. Environ. Occup. H.* 45, 271 (1990).
 62. Carraro E., Gasparini S., Gilli G.: *Environ. Res.* 80, 132 (1999).
 63. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. vol. 88: *Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol*. IARC, Lyon 2004.
 64. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans*. vol. 62. *Wood dust and formaldehyde*. IARC, Lyon 1995.
 65. Zhong W. G., Hee S. S. Q.: *Mutat. Res. – Rev. Mutat.* 563, 13 (2004).
 66. *Proposed Residential Indoor Air Quality Guidelines for Formaldehyde*. Health Canada, Ottawa 2005.
 67. Pinkerton L. E., Hein M. J., Stayner L. T.: *J. Occup. Environ. Med.* 61, 193 (2004).
 68. Kreiger R. A., Garry V. F.: *Mutat. Res.* 120, 51 (1983).
 69. Grafstrom R. C., Fornace A., Harris C. C.: *Cancer Res.* 44, 4323 (1984).
 70. Wallace L. A.: *Environ. Health Perspect.* 95, 7 (1991).
 71. Georgiou P. E., Ho C. K.: *Can. J. Chem.* 67, 871 (1989).
 72. Feigl F.: *Spot Tests in Organic Analysis*. 7. vyd. Elsevier, Amsterdam 1966.
 73. *Manual of Analytical Methods (NMAM) 4th ed.* NIOSH 8/15/94. Dostupné z URL: <http://www.cdc.gov/niosh/nmam/default.html>, staženo 1.8.2007.
 74. MacFadyen D. A.: *J. Biol. Chem.* 158, 107 (1945).
 75. Maeda Y., Hu X., Itou S., Kitano M., Bandow H., Munemori M.: *Analyst* 119, 2237 (1994).
 76. Kelly T. J., Fortune C. R.: *Int. J. Environ. Annal. Chem.* 54, 249 (1994).
 77. Sakai T.: *Talanta* 58, 1271 (2002).
 78. Lazrus A. L., Fong K. L., Lind A. J.: *Anal. Chem.* 60, 1074 (1988).
 79. K. Zhou.: *Sens. Actuators, B* 119, 392 (2006).
 80. Möhlmann G. R.: *Appl. Spectrosc.* 39, 98 (1985).
 81. Burini G., Coli R.: *Anal. Chim. Acta* 511, 155

- (2004).
82. Liu J.: *Talanta* 65, 705 (2005).
 83. Koziel J. A., Noah J., Pawliszyn J.: *Environ. Sci. Technol.* 35, 1481 (2001).
 84. Martos P. A., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 70, 2311 (1998).
 85. Rivero R. T., Topiwala V.: *J. Chromatogr., A* 1029, 217 (2004).
 86. Bianchi F., Careri M., Musci M.: *Food Chem.* 100, 1049 (2007).
 87. Dzyadevych S. V.: *Anal. Chim. Acta* 445, 47 (2001).
 88. Guilbault G. G.: *Anal. Chem.* 55, 1682 (1983).
 89. Rehle D., Leleux D., Erdelyi M.: *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* 72, 947 (2001).
 90. Katakya R.: *Talanta* 56, 451 (2002).
 91. Lee C., Hsieh P., Chou C. L. P., Fu L., Chiang C.: *Microsyst. Technol.* 12, 893 (2006).
 92. Angelmahr M., Miklos A., Hess P.: *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* 85, 285 (2006).
 93. Mackay G. I., Mayne L. K., Schiff H. I.: *Aerosol. Sci. Technol.* 12, 56 (1990).
 94. Wert P., Fried A., Rauenbuehler S., Walega J., Henry B.: *J. Geophys. Res.* 108, ACH1/1 (2003).
 95. Que Z., Furuno T.: *Wood Sci. Technol.* 41, 267 (2006).
 96. Risholm-Sundman M., Wallin N.: *Holz Roh Werkstoff* 57, 319 (1999).
 97. Vyhláška 211/2004 o metodách zkoušení a způsobu odběru a přípravy kontrolních zorků.
 98. Vyhláška 222/1996 Sb. kterou se stanoví metody odběru vzorků, metody laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob uchování vzorků podléhajících zkáze.
 99. Levart A., Veber M.: *Chemosphere* 44, 7014 (2001).
 100. Guo H., Lee S. C., Louie P. K. K., Ho K. F.: *Chemosphere* 57, 1363 (2004).
 101. Clarisse B., Laurent, A. M., Seta N., Le Moullec Y., El Hasnaoui A., Momas I.: *Environ. Res.* 92, 245 (2003).
 102. *Guidelines for Air Quality*. WHO, Geneva (2000).
 103. Yu Ch., Crump. D.: *Build. Environ.* 33, 357 (1998).
 104. Civis S., Horka V., Simecek T.: *Spectrochim. Acta, A* 13, 3066 (2005).
 105. Salhi Y., Rouillard A.: *Semicond. Sci. Technol.* 19, 260 (2004).
 106. Tipton T., Choe J. I., Kukolich S. G., Hubbard R.: *J. Mol. Spectrosc.* 114, 239 (1985).
 107. Bell A. G.: *Am. J. Sci.* 20, 305 (1880).
 108. Tyndall J.: *Proc. R. Soc. London* 31, 307 (1881).
 109. Rayleigh J. W.: *Nature* 23, 274 (1881).
 110. Röntgen W. C.: *Ann. Phys.* 12, 155 (1881).
 111. Viengerov M. L.: *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* 19, 687 (1938).
 112. Kerr E. L., Atwood J. G.: *Appl. Opt.* 7, 915 (1968).
 113. Flaud J. M., Lafferty W. J., Sams R. L., Sharpe S. W.: *Mol. Phys.* 104, 1891 (2006).
 114. Hanoune B., LeBris T., Allou L.: *Atmos. Environ.* 40, 5768 (2006).

M. Ferus^{a,b}, J. Cihelka^{a,b}, and S. Civiš^a (^a*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b*Institute of Physics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Formaldehyde in the Environment – Determination of Formaldehyde by Laser and Photoacoustic Detection**

This work concerns the role of formaldehyde in the environment and describes the basic indoor and outdoor detection techniques. One of the laboratory techniques, laser photoacoustic spectroscopy, was used for detection of formaldehyde based on its absorption spectrum in a region around 4350 cm⁻¹. A new type of diode laser (GaInAsSb/AlGaAsSb – MQW (Multi-quantum well)) operating at room temperature in combination with a simple resonance photoacoustic cell provides the minimum detectable signal of formaldehyde, ca. 1250 µg m⁻³, at 4356 cm⁻¹.

FLUORESCENČNÍ VLASTNOSTI KVARTÉRNÍCH BENZO[c]FENANTHRIDINOVÝCH ALKALOIDŮ A JEJICH VYUŽITÍ JAKO SUPRAVITÁLNÍCH DNA SOND

IVA SLANINOVÁ^a, JIŘÍ SLANINA^b
a EVA TÁBORSKÁ^b

^a Biologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Kamenice 5, pavilon A6, 625 00 Brno, ^b Biochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Kamenice 5, pavilon A16, 625 00 Brno
ipokorna@med.muni.cz, jrslanina@med.muni.cz;
taborska@med.muni.cz

Došlo 3.7.07, přijato 5.9.07.

Klíčová slova: benzo[c]fenanthridinové alkaloidy; supravitální DNA sondy, buněčný cyklus, fluorescence, průtoková cytometrie, makarpin

Obsah

1. Úvod
2. Fluorescenční vlastnosti kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů
3. Interakce kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů s buněčnými strukturami
 - 3.1. Interakce kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů s DNA
4. Průtoková cytometrie
5. Fluorescenční DNA sondy
6. Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy jako supravitální DNA sondy
 - 6.1. Využití makarpinu v průtokové cytometrii
7. Závěr

1. Úvod

Alkaloidy jsou nízkomolekulární sekundární rostlinné metabolity, obsahující ve své molekule dusík. Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy (KBA) patří do skupiny isochinolinových alkaloidů a vyskytují se v rostlinách čeledi *Fumariaceae*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae* a *Rutaceae*.

Sanguinarin (SA) a chelerythin (CHE) jsou jediné dva komerčně dostupné KBA, poprvé byly izolovány již v 19. století. Mezi minoritní KBA patří sanguirubin (SR), chelirubin (CHR), sanguilutin (SL), chelilutin (CHL) a makarpin (MA), poprvé izolované v 50. letech minulého století Slavíkem a Slavíkovou (viz přehledné referáty^{1–3}). Zastoupení alkaloidů v jednotlivých rostlinných druzích popsala Suchomelová a spol.⁴

Kromě významných biologických aktivit, jako je anti-proliferativní, antiapoptotický, antimikrobiální efekt

a ovlivnění celé škály enzymů, které byly mimo jiné nedávno shrnuty v tomto časopise^{5,6} a dalších pracích⁷, vykazují KBA i zajímavé barevné a fluorescenční vlastnosti^{8–14}. Všechny KBA jsou výrazně barevné v rozsahu spektra od žluté po červenou barvu. Chromofory zodpovědnými za barevnost jsou kondenzovaná aromatická jádra s elektron-donorovými substituenty obsahujícími kyslík (-OH, -OCH₃ a -OCH₂O-). Barevnost a schopnost fluorescence v kombinaci s různorodým biologickým účinkem nabádá ke studiu interakce alkaloidů s buněčnými strukturami pomocí fluorescenční mikroskopie. Na základě takovýchto studií jsme zjistili, že MA, SA a CHR jsou bezprostředně po přidání k živým buňkám lokalizovány v jádře¹⁴. Kombinace vlastností fluorescence a schopnosti vázat se na buněčné struktury otevírá otázku využitelnosti těchto alkaloidů jako specifických fluorescenčních sond vhodných pro fluorescenční mikroskopii a průtokovou cytometrii.

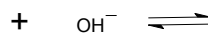
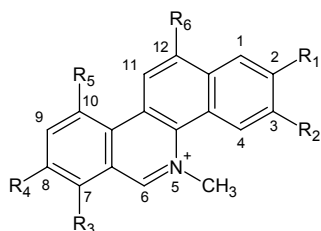
2. Fluorescenční vlastnosti kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů

Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy se v závislosti na pH prostředí vyskytují ve dvou základních molekulárních formách, kvartérní neboli iminiové (kationtové) a pseudobáze neboli alkanolaminu (obr. 1, cit.^{1,2,5}). Kvartérní forma je polární a výrazně barevná, zatímco hydroxyadukt ztrácí barvu, je nepolární a nerozpustný ve vodě. Rovnováha mezi kvartérní formou a terciární pseudobází je závislá na pH a je ji možné popsat pomocí konstant pK, které jsou analogické konstantám pK_A pro Brønstedovy kyseliny. Hodnoty pK odpovídají pH prostředí, ve kterém se obě formy vyskytují ve stejných molárních koncentracích. Pro KBA se hodnoty pK pohybují v rozmezí 7,70 (chelirubin) až 9,00 (chelerythin)¹. Obě formy se tedy mohou vyskytovat *in vivo*, kvartérní forma však bude za fyziologických hodnot pH převládající.

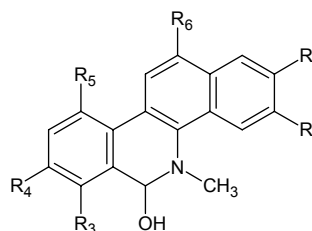
Obě formy se liší i svými fluorescenčními vlastnostmi. U KBA, které mají větší počet kondenzovaných aromatických kruhů, byla excitace i emise pozorována ve vyšších vlnových délkách, než je tomu např. u dihydroderivátů těchto alkaloidů⁸. Zatímco dihydrosanguinarin (obr. 2) má absorpční a excitační maximum při vlnových délkách 320–330 nm a emisní maximum 430 nm, kvartérní formy sanguinarinu a chelerythrinu absorbují při 440 až 470 nm a emitují při 550–565 nm. Po přeměně kvartérní formy na pseudobázi je jejich struktura a optické vlastnosti (λ_{exc} 323–326 nm; λ_{em} 420 nm) podobné jako u dihydroderivátů. Podobná data naměřil i Maiti a spol. (i.e. λ_{em} 577 nm pro kvartérní formu a λ_{em} 418 nm a 327 pro pseudobázi¹⁵; tabulka I).

Fluorescence KBA tedy závisí na tom, v jaké struk-

a

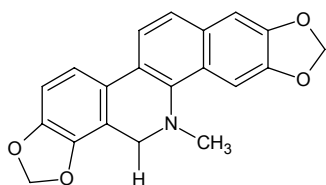


b



	Alkaloid	R1	R2	R3	R4	R5	R6
SA	sanguinarin	-OCH ₂ O-		-OCH ₂ O-		H	H
CHE	chelerythrin	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	-OCH ₃	H	H
SR	sanguirubin	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	H
CHE	chelirubin	-OCH ₂ O-		-OCH ₂ O-		-OCH ₃	H
SL	sanguilutin	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	H
CHL	chelilutin	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	H
MA	makarpin	-OCH ₂ O-		-OCH ₂ O-		-OCH ₃	-OCH ₃

Obr. 1. Chemická struktura kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů; a) kvartérní neboli iminiová (kationtová) forma, b) pseudobáze neboli hydroxyadukt



Obr. 2. Chemická struktura dihydrosanguinarinu

turní formě se v daném prostředí nacházejí. Tato forma může být ovlivněna hodnotou pH prostředí i typem rozpouštědla. Fluorescenci např. snižuje přítomnost jodidových iontů¹⁶. Přítomnost methylenedioxy skupiny, namísto dvou methoxylových skupin v molekule, zvyšuje vlnovou délku excitace a emise. Fluorescenční vlastnosti KBA jsou shrnuty v tabulce I.

Tabulka I

Acidobazické a fluorescenční vlastnosti vybraných benzo[c]fenanthridinových alkaloidů (cit.⁸)

Alkaloid		pK _A	λ (exc.) [nm]	λ (em.) [nm]
Dihydrosanguinarin	kyselé prostředí	2,3–2,6	324	390
	alkalické prostředí		324	430
Sanguinarin	kyselé prostředí	7,95–8,05	468	565
	alkalické prostředí		326	420
Chelerythrin	kyselé prostředí	8,9–9,0	440	550
	alkalické prostředí		323	420

3. Interakce kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů s buněčnými strukturami

Fluorescence alkaloidů je výhodná vlastnost pro studium jejich vstupu do buněk a jejich lokalizace v buňkách. Práci s tematikou fluorescence kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů v buněčných strukturách není mnoho a většina se zabývá jejich lokalizací v rostlinných buňkách. Roschina popsala oranžovou fluorescenci SA a CHE v sekrečních buňkách rostlin rodů *Achillea*, *Artemisia* a *Gaillardia*. Pozorovala fluorescenci alkaloidů jednak v sekrečních měchýřcích a jednak na buněčném povrchu¹¹. Dalšími autory byla po přidání alkaloidů k rostlinným buňkám pozorována modrá a oranžová fluorescence dihydroderivátů, zatímco červená fluorescence kvartérní formy byla pozorovatelná pouze na buněčném povrchu. Na základě těchto pozorování autoři usoudili, že k průchodu KBA přes membránu je pravděpodobně potřebná jejich redukce z kvartérní na dihydroformu¹⁷. Holy

a spol.¹² studovali průnik SA do lidských nádorových buněk MCF-7 a jeho distribuci v těchto buňkách ve srovnání fluorochromem Hoechst 33342, který se pro značení jader v živých buňkách běžně používá. Zjistili, že fluorescence Hoechst 33342 stoupá v průběhu 2 hodin po přidání a je lokalizována výhradně v jádrech. SA pronikal do buněk mnohem rychleji a během několika minut byl pozorovatelný v podobě malých cytoplasmatických agregátů. Intenzita fluorescence těchto agregátů klesala a zároveň se objevovala fluorescence jádra, která nakonec převažovala. Jaderná fluorescence SA byla méně stabilní než Hoechst 33342 a během několika hodin slábla. Po 6 hodinách byla výrazně slabší a po 24 hodinách zmizela úplně. Podobné chování SA jsme zaznamenali již dříve při značení lidských nádorových buněk HeLa¹³. V naší nedávné práci jsme popsali fluorescenci SA, CHE, SR, CHR, SL, CHL a MA v buňkách lidských tkáňových kultur¹⁴. Zjistili jsme, že všechny tyto alkaloidy pronikají velmi rychle do živých buněk a navíc SA, MA a CHR se bezprostředně po přidání inkorporovaly do jádra a dávaly obraz podobný tomu, který poskytují komerční DNA sondy, jako např. propidium jodid a DAPI (4'-6-diamidino-2-fenylindol). Fluorescence jader byla jasně červená. Ostatní testované alkaloidy (SL, CHL, CHE) se vyskytovaly v agregátech nebo měchýřcích v blízkosti jádra. Schopnost SR pronikat do jádra byla pokus od pokusu variabilní. V některých pokusech vstupoval do jádra a dával obraz podobný CHR a MA, v jiných se vyskytoval pouze v cytoplasmatických měchýřcích podobně jako SL a CHL.

Jak již bylo zmíněno, výskyt dané molekulární formy (kvartérní nebo pseudobáze) je závislý na pH prostředí^{1–3}. Rovnováha mezi těmito dvěma formami je reverzibilní. V kyselejších prostředí převládá kvartérní forma a její barva je vlastně indikátorem pH (cit.¹). Vzhledem k tomu, že jsme pozorovali fluorescenci různých barev v různých buněčných lokalizacích, předpokládáme, že je tato různorodost způsobena přítomností různých molekulárních forem.

3.1. Interakce kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů s DNA

Skutečnost, že kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy interagují s DNA *in vitro* byla potvrzena i jinými metodami. Sen a Maiti¹⁸ podali na základě použití spektrofotometrických, spektrofluorimetrických a viskozimetrických studií jasný důkaz o interkalaci kvartérní formy SA do DNA. Pozorovali typický bathochromní (posun k delším vlnovým délkám, nižší frekvenci) a hypochromní (pokles intenzity fluorescence) spektrální posun (posun o 8 až 10 nm v červené oblasti spektra), vyhasínání fluorescence a vzrůst fluorescenční polarizační anizotropie¹⁸. Tyto vlastnosti jsou typické právě pro interkalační látky. Při interakci DNA s pseudobázemi tyto efekty pozorovány nebyly. Schopnost interkalace kvartérní formy SA i CHE, srovnatelná s typickým interkalátorem ethidium bromidem, byla prokázána i metodou kapilární zónové elektro-

forézy¹⁹. K interkalaci KBA dochází především v místech bohatých na báze G-C (cit.¹⁸). To potvrdili fluorimetrickými a spektrometrickými studii i Bai a spol.²⁰ při studiu interakce SA a CHE s DNA telecího brzlíku a s polydeoxynukleotidy. SA se vázal přednostně na oblasti bohaté na GC báze [d(TGCGCA)₂]. CHE vykazoval rozdílnou GC selektivitu, specificky se vázal především na oblasti [5'-TGGGA-3'/3'-ACCCCT-5']. Schopnost vázat se na DNA byla u CHE nižší než u SA. To je v souladu s námi pozorovaným mikroskopickým obrazem buněk po aplikaci těchto alkaloidů^{13,14}. Termodynamické studie prokázaly, že vazba kvartérní formy na DNA je podobně jako u jiných interkalátorů entropicky řízená¹⁸. Interkalace SA do DNA byla prokázána i metodami NMR (cit.²¹).

Kromě interkalace byly prokázány i další mechanismy interakce s DNA. Bylo zjištěno, že SA inhibuje replikaci DNA pomocí polymerasy I, a to právě tvorbou komplexů s DNA (cit.²²). Tvorba aduktů SA-DNA byla prokázána i metodou ³²P-postlabelingu²³.

Předpoklad, že základním mechanismem interakce KBA s DNA je právě interkalace, podporuje i skutečnost, že KBA jsou strukturálně příbuzné fenanthridinům, jejichž zástupci ethidium bromid a propidium jodid jsou nejčastěji používanými fluorochromy značícími jádra, a to mechanismem interkalace. Schopnost interkalace a tím značení jader jednotlivými alkaloidy souvisí pravděpodobně s detailní strukturou jejich molekuly. Na základě našich pozorování fluorescence jednotlivých alkaloidů v buňkách a porovnání jejich molekulární struktury předpokládáme, že schopnost alkaloidu interkalovat do DNA ovlivňují především substituenty na pozicích C7 a C8. Tyto předpoklady potvrzují i výsledky práce zabývající se studiem trojrozměrné struktury sedmi základních KBA (SA, CHE, SL, CHL, SR, CHR, a MA) metodami kvantové chemie²⁴. Výsledky výše zmíněné práce ukazují, že geometrie aromatických kruhů všech studovaných alkaloidů je přibližně stejná a že jejich molekuly nejsou zcela planární. Odchylky od planarity molekuly způsobuje pravděpodobně interakce methylové skupiny připojené k dusíku s vodíkem vázaným na C4 (obr. 1, cit.²⁴). Dalším významným strukturálním parametrem molekuly alkaloidů je orientace substituentů v pozicích 2,3 a 7,8. Leží většinou ve stejné rovině jako aromatický kruh s výjimkou methoxy skupiny na uhlíku C7. Ta je orientována téměř kolmo k této rovině. Kolmá orientace je pravděpodobně způsobena interakcí methoxy skupiny s vodíkem H6 a substituentem na uhlíku C8 (cit.²⁴). Z toho lze usuzovat, že alkaloidy obsahující methoxy skupinu na C7 (CHL, SL a CHE) mají sníženou schopnost interkalace do DNA. Tento předpoklad potvrdily i naše výsledky mikroskopického studia, které ukázaly, že CHL a SL nepronikají do jader vůbec a CHE jen výjimečně a jeho fluorescence v jádrech je slabá a nestálá. Naopak velmi dobře zobrazovaly jádra MA, CHR a SA. SR v některých pokusech značil jádra zcela srovnatelně s CHR, v jiných převažovala fluorescence cytoplasmatických struktur¹⁴. Chování SR nastoluje otázku, zda schopnost interkalace není, i když v menší míře, negativně ovlivněna také methoxy skupinami na uhlících C2 nebo C3.

Jak bylo zmíněno výše, u alkaloidů MA, SA, CHR a částečně SR jsme zaznamenali výraznou schopnost značit jádra. Struktura jader značených těmito alkaloidy se dá pozorovat na úrovni fluorescenční mikroskopie (obr. 3), kde je obraz podobný jako po značení pomocí běžně používaných DNA sond jako propidium jodid nebo DAPI. U mitotických buněk jsou rozlišitelné chromosomy, u apoptotických apoptotické jaderné fragmenty. Buňky značené alkaloidy je možné detegovat i na průtokovém cytometru nebo fluorimetru. Nejlepší vlastnosti vzhledem k použitelnosti jako DNA sondy vykazoval MA. Působil navíc v nejnižší koncentraci ($10 \mu\text{g ml}^{-1}$). Schopnost velmi rychle pronikat do živých nepermeabilizovaných buněk společně se schopností emitovat světelné záření v oblasti červeného spektra může zařadit tyto alkaloidy, a především MA, mezi široce využitelné fluorescenční DNA sondy jako jsou LDS 751, DRAQ5 (cit.²⁵) a nově i Vybrant^(R) DyeCycleTM Stains od Molecular Probes (cit.²⁶). Tyto sondy mají využití ve fluorescenční mikroskopii, včetně laserové konfokální mikroskopie a především v průtokové cytometrii.

4. Průtoková cytometrie

Cytometrie zahrnuje metody měření fyzikálních a chemických vlastností jednotlivých buněk. Průtoková cytometrie umožňuje měření částic a buněk, které protékají přístrojem v proudu nosné kapaliny. Využívá princip rozptylu světla, excitace a emise fluorochromních molekul k získání dat z mikroskopických částic a buněk. Umožňuje měřit několik parametrů současně. Buňky jsou většinou značeny specifickými fluorochromy. Při této metodě jsou buňky hydrodynamicky soustředěny do tenkého proudu

v kapiláře, kterou protékají vysokou rychlostí, přičemž jsou ozařovány monochromatickým koherentním zářením produkovaným laserem. Jedinečnost průtokové cytometrie spočívá v tom, že na rozdíl od spektrofotometrie, která měří sumární absorpci nebo transmisii, lze s její pomocí měřit fluorescenci každé částice nebo buňky zvlášť. Intenzita fluorescence jednotlivých buněk pak odpovídá množství struktur, které na sebe vážou fluorescenční barvivo (přehledně²⁵). Některé průtokové cytometry umožňují i třídít buňky na základě stanovených charakteristik – sorty buněk (FACS- fluorescence associated cell sorter).

Hlavními výhodami průtokové cytometrie jsou: (i) jednoduchá příprava vzorků, (ii) vysoká rychlost analýz velkých souborů jednotlivých buněk nebo částic, (iii) nedestruktivnost, (iv) snadná detekce subpopulací a také (v) relativně nízké finanční náklady na analýzu jednoho vzorku.

Průtoková cytometrie je v klinické praxi využívána jako významná diagnostická metoda především v hematologii, onkologii a imunologii. Široké využití má také v základním biologickém výzkumu.

5. Fluorescenční DNA sondy

Značení nukleových kyselin, především DNA, fluorescenčními sondami patří mezi významné metody využívané ve výzkumu i v diagnostice. Tyto sondy umožňují jednak pozorování struktury jádra a jádérka ve fluorescenčním a konfokálním mikroskopu, jednak rozlišení jaderných buněk od buněk bezjaderných metodou průtokové cytometrie. Jen některé sondy jsou schopny se vázat na DNA kvantitativně (stechiometricky). To umožňuje rozlišit množství DNA v jednotlivých buňkách a určit fázi bu-

Tabulka II

Tabulka znázorňující nečastěji používané fluorochromy pro značení jader. (Podle katalogu Molecular Probes²⁶).

	Excitace [nm]	Emise [nm]; barva	Permeabilita
DAPI	358	461 modrá	semi-permeabilní
Hoechst 33342	350	461 modrá	permeabilní
Hoechst 34580	392	498 modrá	permeabilní
Hoechst 33258	352	461 modrá	permeabilní
7-aminoactinomycin (7-AAD)	546	647 červená	nepermeabilní
ethidium bromid	518	605 červená	nepermeabilní
propidium jodid	530	625 červená	nepermeabilní
LDS-751	543	712 DNA	permeabilní
	590	607 RNA červená/infračervená	
TO-Pro3	642	661 červená	nepermeabilní
DRAQ5 ^a	650	700 červená	permeabilní
SYTO	36 různých barev	modrá, zelená, oranžová, červená	permeabilní

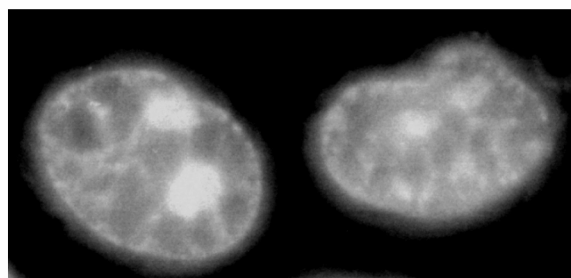
^a Fluorochrom DRAQ5 nabízí firma Alexis

něčného cyklu, ve které se daná buňka nachází. Tyto sondy jsou velmi významné z hlediska studia proliferační aktivity v dané populaci buněk v průtokovém cytometru. Jsou schopny určit poměrné zastoupení proliferujících buněk např. ve vzorcích leukemické krve, kostní dřeně nebo jiné nádorové tkáni. Pro tyto účely jsou zvláště významné fluorochromy, které pronikají do živých nepermeabilizovaných buněk, označované jako supravitální sondy. V dnešní době je k dispozici mnoho fluorochromů značících nukleové kyseliny (přehledně^{25,26}; tabulka II), ale jen některé jsou DNA specifické a většina z nich rozlišuje oblasti DNA podle poměru dvojic bází A-T/G-C (cit.²⁵). Většina těchto sond však neproniká do živých buněk a vyžaduje fixaci, permeabilizaci plasmatické membrány a enzymové odstranění RNA. Nejčastěji používané supravitální DNA sondy jsou DAPI (4'-6-diamidino-2-fenylindol) a bisbenzimidové deriváty Hoechst (33258 a 33342). DAPI i Hoechst vázané na DNA vyžadují excitaci v UV oblasti spektra a emitují modrou fluorescenci. Tento fakt je však znevýhodňuje pro použití pro analýzy v průtokovém cytometru. Běžně používané průtokové cytometry jsou vybaveny argonovým laserem produkujícím modré excitační záření (488 nm). Cytometry vybavené laserem excitujícím UV záření jsou drahé a proto méně používané. Z těchto důvodů jsou pro průtokové cytometrické analýzy DNA používány červené fluorochromy excitovatelné běžným argonovým laserem (488 nm), jako jsou fenanthridinový interkalátor propidium jodid a analog protinádorového antibiotika aktinomycinu D – 7-AAD (7-aminoaktinomycin D). Oba tyto fluorochromy se vážou na DNA kvantitativně a jsou použitelné rovněž pro analýzu buněčného cyklu, ale vyžadují fixaci a vzhledem k vazbě na RNA enzymové odstranění RNA. Nejčastěji používaným červeným fluorochromem, excitovatelným argonovým laserem, pronikajícím do živých buněk je LDS-751. Ten však neumožňuje rozlišit fáze buněčného cyklu. Dalšími jsou DRAQ5 (cit.^{27,28}) a zcela nové fluorochromy ze skupiny Vybrant, které značí DNA kvantitativně a buněčný cyklus zobrazují. Nejčastěji používané fluorochromy zobrazující DNA jsou uvedeny v tabulce II.

6. Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy jako supravitální DNA sondy

Při studiu interakce KBA s buňkami jsme zjistili, že SA, CHR a MA pronikají velmi rychle do jádra a umožňují zobrazit jeho strukturu na úrovni fluorescenčního mikroskopu (obr. 3). MA se navíc váže na DNA kvantitativně (stechiometricky). Má vlastnosti velmi podobné fluorochromu DRAQ5, včetně schopnosti detekce fází buněčného cyklu (obr. 4).

MA byl poprvé izolován z kořene rostliny *Macleaya microcarpa* v roce 1955 (cit.²⁹). Později byl nalezen i v dalších druzích čeledi *Papaveraceae*^{30–32}. Byla popsána i syntéza MA (cit.³³).



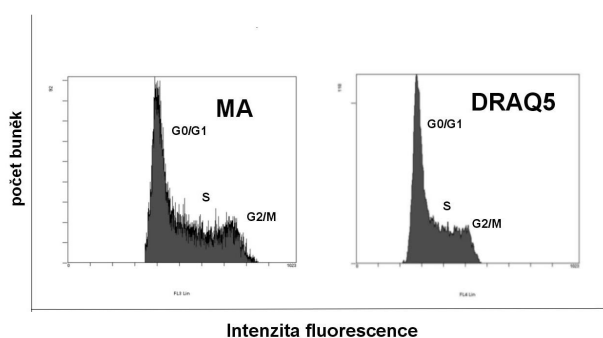
Obr. 3. Jádra HeLa buněk značená MA v koncentraci $10 \mu\text{g ml}^{-1}$, pozorované fluorescenčním mikroskopem Leica DM 5000B (Leica Microsystems, Wetzlar, Austria) za použití zeleného excitačního filtru; jádra jasně červeně fluoreskují a je patrná jejich struktura včetně jadérek

6.1. Využití makarpinu v průtokové cytometrii

MA má pro použití v průtokové cytometrii několik významných vlastností: (i) velmi rychle proniká do živých buněk a bezprostředně se váže na nukleové kyseliny, což umožňuje okamžité měření, (ii) je účinný v poměrně nízké koncentraci ($10 \mu\text{g ml}^{-1}$), (iii) fluorescence MA vázaného na DNA může být excitována běžnými argonovými lasery o vlnové délce 488 nm, (iv) emisní spektrální charakteristika MA vázaného k nukleovým kyselinám umožňuje současnou detekci jeho fluorescence vedle fluorescence některých běžných fluorochromů detegovatelných v kanálech FL1 a FL6 a vyšších, (v) kvantitativní vazbou na DNA umožňuje rozlišit fáze buněčného cyklu.

Díky těmto vlastnostem umožňuje MA detekci nukleových kyselin, především DNA, v živých buňkách i na standardních průtokových cytometrech vybavených excitačním zdrojem v modrozelené oblasti spektra (argonový laser, 488 nm) a třemi detektory fluorescence (FL1-FL3). Schopnost MA vázat se na DNA umožňuje velmi rychle a jednoduše rozlišit jaderné buňky od bezjaderných. Prokázali jsme, že tuto vlastnost lze využít pro rozlišení erytrocytů, retikulocytů a leukocytů a to bez detekce exprese povrchových znaků ve vzorku nesrážlivé krve¹⁴. V kombinaci se zviditelněním běžných leukocytárních a erytrocytárních antigenů umožňuje fluorescence MA klasifikaci a kvantifikaci leukocytů, nezralých erytrocytů a zralých erytrocytů na modelech anemie i u anemických pacientů. Toto značení umožňuje např. rozlišit CD45 pozitivní leukocyty s jasnou fluorescencí makarpinu od podskupin CD45 negativních krevních a krvetvorných buněk. Ve skupině CD45 negativních buněk fluorescence makarpinu rozlišuje makarpin pozitivní buňky obsahující pravděpodobně pouze RNA (retikulocyty) a makarpin negativní buňky (vyzrálé erytrocyty)¹⁴.

Díky kvantitativní vazbě na DNA lze pomocí makarpinu na základě obsahu DNA v buňkách rozlišit průtokovou cytometrií tři fáze buněčného cyklu. To lze graficky



Obr. 4. Histogramy zobrazující fáze buněčného cyklu buněk HL60; je srovnáno barvení MA s komerčně dostupným fluorochromem DRAQ5. Graf znázorňuje intenzitu fluorescence (osa x) vs počet buněk vykazujících danou hodnotu fluorescence (osa y). Intenzita fluorescence byla měřena na průtokovém cytometru Cytomics 500 (Beckman Coulter, Inc.). K excitaci byl použit modrý argonový laser (488 nm) a fluorescence DRAQ5 byla detegována v kanále FL4, MA v kanále FL3 (oba v lineární škále). Je patrné, že vazba MA i DRAQ5 na DNA je kvantitativní (stechiometrická) a umožňuje rozlišit tři základní fáze buněčného cyklu – G_0/G_1 – S – G_2/M

znázornit počtem bodů, odpovídajících jednotlivým buňkám (osa y), které prošly měřicí zónou cytometru v závislosti na intenzitě fluorescence v jednotlivých buňkách (osa x) (obr. 4). V první fázi (G_0/G_1) buňka obsahuje základní množství DNA, (2 sady chromosomů u diploidních buněk, jedna u haploidních), v druhé fázi (S) dochází k duplikaci genetické informace (syntéze DNA) aniž by se počet buněk měnil, což se odráží v rostoucí intenzitě fluorescence jednotlivých buněk. Na konci této fáze buňky obsahují dvojnásobné množství DNA (4 sady chromosomů u diploidních buněk, 2 sady u haploidních). Ve třetí fázi (G_2/M) se množství DNA nejdříve udržuje na dvojnásobné hodnotě, intenzita fluorescence je tedy také dvojnásobná oproti fázi G_0/G_1 . Nakonec dochází k rozdělení genetického materiálu, k mitóze, přičemž množství DNA v buňce klesne na základní úroveň (2 sady chromosomů u diploidních buněk, jedna u haploidních). Využitelnost MA pro studium buněčného cyklu jsme srovnávali s fluorochromem DRAQ5 (obr. 4). Porovnali jsme rovněž emisní spektra MA a DRAQ5 vázaných na buňky HL-60 na průtokovém cytometru Cytomics FC500 (Beckman Coulter, Inc.)¹⁴. Zatímco fluorescence DRAQ5 je detegovatelná v kanálech FL4 a FL5, MA emituje do kanálů FL2-FL5. Vyhodnocením DNA histogramů v programu Multicycle for Windows (Phoenix Flow Systems) se ukázalo, že oba fluorochromy značí DNA zcela srovnatelně, navíc MA je možno detegovat i v kanálech FL2 a FL3, tedy i na nejjednodušších cytometrech.

7. Závěr

Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy jsou přírodní látky, které jsou mnoho let studovány z hlediska svých biologických vlastností zahrnujících např. antiproliferační, antimikrobiální a protizánětlivý efekt. Tato práce upozorňuje na jejich další potenciál pro praktické využití, jejich barevnost a schopnost fluorescence. Kombinace vlastnosti primární fluorescence a schopnosti interagovat s buněčnými strukturami otevírá možnost uplatnění těchto alkaloidů jako specifických fluorescenčních sond využitelných pro fluorescenční mikroskopii a průtokovou cytometrii. Schopnost rychle pronikat do živých buněk, vázat se na DNA kvantitativně a tím značit jádro včetně možnosti analýzy buněčného cyklu, spolu s červenou fluorescencí excitovatelnou argonovými lasery obsaženými v běžných průtokových cytometrech, řadí především MA mezi skupinu poměrně málo zastoupených, ale široce využitelných supravitalních DNA sond.

Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR (VZ MSM0021622415 a LC 06077) a GA ČR (525/08/0819).

LITERATURA

- Dostál J., Slavík J., v knize: *Studies in Natural Products Chemistry* (Atta-ur-Rahman, ed.) 27, str. 155. Elsevier, Amsterdam 2002.
- Dostál J., Slavík J.: *Chem. Listy* 94, 15 (2000).
- Dostál J., Potáček J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 55, 2840 (1990).
- Suhomeľová J., Bochořáková H., Paulová H., Musil P., Táborská E.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44, 283 (2007).
- Zdařilová A., Malíková J., Dvořák Z., Ulrichová J., Šimánek V.: *Chem. Listy* 100, 30 (2006).
- Vavrečková C., Ulrichová J.: *Chem. Listy* 88, 238 (1994).
- Šimánek V., v knize: *The Alkaloids*. (Brossi A, ed.), 26., str. 185. Academic Press, Orlando 1985.
- Kovář J., Šimek K., Kožoušková E., Klukanová H.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 50, 1312 (1985).
- Kovář J., Stejskal J., Paulová H., Slavík J.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 51, 2626 (1986).
- Walterová D., Preininger V., Grambal F., Šimánek V., Šantavý F.: *Heterocycles* 14, 597 (1980).
- Roshchina V. V.: *Allelopathy J.* 16, 31 (2005).
- Holy J., Lamont G., Perkins E.: *BMC Cell Biol.* 7, 13 (2006).
- Slaninová I., Táborská E., Bochořáková H., Slanina J.: *Cell Biol. Toxicol.* 17, 51 (2001).
- Slaninová I., Slanina J., Táborská E.: *Cytometry, Part A* 71A, 700 (2007).
- Maiti M., Das S., Sen A., Das A., Kumar G. S., Nandi R.: *J. Biomol. Struct. Dyn.* 20, 455 (2002).
- Eftink M. R., Ghiron C. A.: *Anal. Biochem.* 114, 199 (1981).

17. Weiss D., Baumert A., Vogel M., Roos W.: *Plant Cell Environ.* 29, 291 (2006).
18. Sen A., Maiti M.: *Biochem. Pharmacol.* 48, 2097 (1994).
19. Vlčková M., Kubáň V., Vičar J., Šimánek V.: *Electrophoresis* 26, 1673 (2005).
20. Bai L. P., Zhao Z. Z., Cai Z. W., Jiang Z. H.: *Bioorgan. Med. Chem.* 14, 5439 (2006).
21. Saran A., Srivastava S., Coutinho E., Maiti M.: *Indian J. Biochem. Biophys.* 32, 74 (1995).
22. Schmeller T., LatzBruning B., Wink M.: *Phytochemistry* 44, 257 (1997).
23. Stiborová M., Šimánek V., Frei E., Hobza P., Ulrichová J.: *Chem.-Biol. Interact.* 140, 231 (2002).
24. Toušek J., Dostál J., Slaninová I., Táborská E.: *11th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Brno*. Book of Abstracts (Potáček M., Dostál J., ed.), poster no. PO-18.
25. Shapiro H. M.: *Practical Flow Cytometry*. 4. vyd. Wiley-Liss. John Wiley & Sons, New Jersey 2003.
26. Haugland R. P.: *The Handbook, A Guide of Fluorescence Probes and Labelling Technologies*. 10. vyd. Invitrogen Corp., 2005. <http://probes.invitrogen.com/>, staženo 18. června 2007.
27. Smith P. J., Wiltshire M., Davies S., Patterson L. H., Hoy T.: *J. Immunol. Meth.* 229, 131 (1999).
28. Smith P. J., Blunt N., Wiltshire M., Hoy T., Teesdale-Spittle P., Craven M. R., Watson J. V., Amos W. B., Errington R. J., Patterson L. H.: *Cytometry* 40, 280 (2000).
29. Slavík J., Slavíková L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 20, 356 (1955).
30. Slavík J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 26, 2933 (1961).
31. Slavík J., Slavíková L., Appelt J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 887 (1965).
32. Slavík J., Hanuš V., Slavíková L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 56, 1116 (1991).
33. Ishikawa T., Saito T., Ishii H.: *Tetrahedron* 51, 8447 (1995).

I. Slaninová^a, J. Slanina^b, and E. Táborská^b
^a*Department of Biology,* ^b*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno Czech Republic):* **Fluorescence Properties of Quaternary Benzo[*c*]phenanthridine Alkaloids and Their Use as Supravital DNA Probes**

Quaternary benzo[*c*]phenanthridine alkaloids (QBAs) are natural products isolated from plants of *Fumariaceae*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae* and *Rutaceae* families. They are intensively studied for their biological activities, but they have also attractive fluorescence properties. Chromophores responsible for fluorescence are fused aromatic ring systems with electron-donor groups containing oxygen (OH, OCH₃, OCH₂O). Recently we have described fluorescent characteristics of QBAs – macarpine (MA), sanguirubine (SR), chelirubine (CHR), sanguilutine (SL), chelilutine (CHL), sanguinarine (SA) and chelerythrine (CHE) – on interaction with living cells. All these alkaloids immediately enter the living cells and MA-, CHR- and SA-bound DNA; they showed a nucleus architecture similar to common DNA dyes. Moreover, MA binds to DNA stoichiometrically and can rapidly report the cellular DNA content in living cells at a resolution adequate for cell cycle analysis. QBAs could be excited by common argon lasers (488 nm) emitting light in the 575–755 nm range. Spectral characteristics of MA allow simultaneous surface immunophenotyping. These characteristics allow multiple applications of the above-mentioned QBAs with significant diagnostic utility. They can be used as supravital fluorescent DNA probes both in fluorescence microscopy and flow cytometry including multiparameter analysis.

KATEGORIZACE PÓRŮ V PORÉZNÍCH MATRICÍCH

**BORISLAV ZDRAVKOV, JIŘÍ J. ČERMÁK,
JOSEF JANKŮ, VERONIKA KUČEROVÁ
a MARTIN ŠEFARA**

Ústav chemie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
jjc@cermaks.com, jiri.cermak@vscht.cz

Došlo 23.8.07, přijato 22.11.07.

Klíčová slova: póry, klasifikace, velikost pórů

Obsah

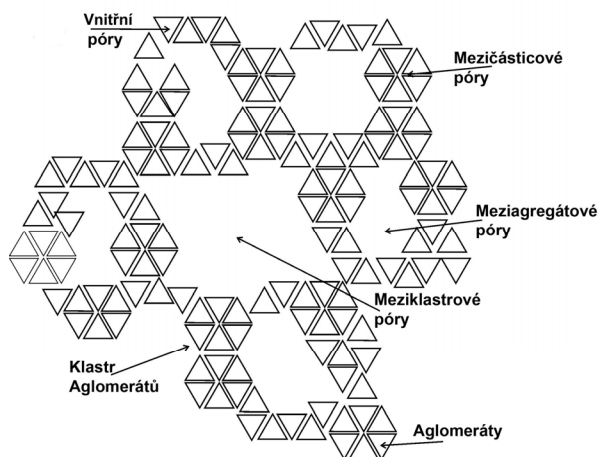
1. Úvod
2. Kategorie pórů v pevných maticích
3. Kategorie velikostí pórů
4. Diskuse a doporučení
5. Závěr

1. Úvod

Porézní materiály jsou používány od dávnověku, současné technické procesy používané v průmyslu a procesy související s ochranou životního prostředí kladou na charakterizaci porézních materiálů nové požadavky. Cílem hodnocení charakteristik porézních materiálů je daný materiál zařadit, klasifikovat, popsat a modelovat. Cílem je popsat dutiny existující v pevné matici, označované souhrnným názvem póry. Systémy klasifikace pórů v literatuře se často liší dle autora, adsorbované látky či typu porézního média. Účelem kategorizace je zatřídění pórů do skupin podle významných charakteristik, jako je struktura pórů, jejich velikost, dostupnost a tvar. Cílem tohoto článku je podat přehled běžně používaných klasifikací porézních materiálů a popsat rozdíly v definicích různých typů pórů. V závěru jsou navrženy změny klasifikací pro jejich sjednocení.

2. Kategorie pórů v pevných maticích

Kategorizaci pórů v pevných maticích bylo věnováno mnoho úsilí a řada studií^{1–5}. Jak zmínili např. Zdravkov a spol.⁶, je velmi obtížné vytvořit konzistentní klasifikaci porézních struktur v pevných maticích, která vyhoví všem. Přehlednou klasifikaci založenou na původu pórů, struktuře, velikosti a dostupnosti vzhledem k okolí publi-



Obr. 1. **Strukturální elementy a typy pórů** (modifikováno podle Kaneka⁵)

koval např. Kaneko⁵. S ohledem na jejich původ a strukturu jsou póry rozděleny do dvou hlavních kategorií (viz obr. 1).

Umístění v částici

Základním typem pórů jsou tzv. vnitřní póry (intraparticle pores), póry umístěné uvnitř jednotlivých částic. Jsou většinou považovány ze strukturálního hlediska za pravé (vnitřní) póry (intrinsic pores). Během některých procesů (vývin plynů, vyluhování, povrchové reakce) se může tvořit nově porézní materiál. V tomto případě lze nově vytvořené póry považovat za „přidané vnitřní póry“. Tzv. nevlastní – vnější čili zevní póry (extrinsic pores) se vytvářejí v případech, kdy je původní matrice impregnována cizí složkou a tato je následně odstraněna výše uvedenými postupy. V případě, že je cizí složka kompletně odstraněna, jsou nově vytvořené póry považovány za „čistý“ typ. Dalším typem zevních pórů je tzv. sloupkový typ, vzniklý např. použitím hydroxidů kovů, které vytvoří vrstvu na povrchu částic. V určitých případech lze zevní typy vnitřních pórů považovat za mezičásticové póry (interparticle pores).

Aglomerát

Pokud je materiál zpevněný, relativně tuhý a rozměry porézní matrice o mnoho řádů překračují rozměry pórů, lze tento materiál označit jako aglomerát. Agregáty nazýváme ostatní typy pórovitých materiálů, které jsou nezpevněné – nejsou pevné a jde více či méně o sestavy jednotlivých

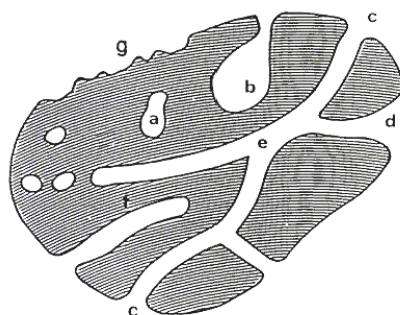
částic. Částice samy o sobě mohou být neporézní (např. zrna písku reprezentovaná představou hladké kuličky). V tomto případě jsou částice obklopeny sítí mezičásticových pórů. Vlastnosti těchto pórů závisejí na jejich velikosti, tvaru a způsobu uspořádání částic. Naopak, v jiných případech, např. u katalyzátorů sušených rozprášením, mohou být vlastní částice výrazně porézní. To je důvod, proč je účelné rozlišovat vnitřní a mezičásticové póry. Všeobecně vzato, jsou vnitřní póry ve srovnání s mezičásticovými póry menší jak rozměry, tak objemem, nicméně často je jejich příspěvek k měrnému povrchu pevné látky tím nejvýznamnějším příspěvkem.

Meziklastrové póry

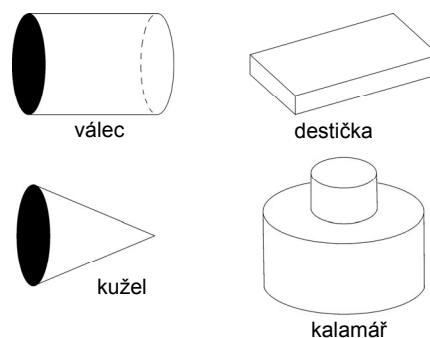
Jiným způsobem třídění, uspořádání částic a popisu pórů v rámci zemin je systém, který publikoval např. Kodikara⁷. Jedná se o uspořádání interagregace (póry uvnitř klastru) a meziklastrové póry. Póry lze třdit i podle dostupnosti vzhledem k okolí. Póry, které komunikují s okolním povrchem, nazýváme otevřené póry (viz Obr. 2b až 2f). Otevřené póry jsou dostupné pro molekuly či ionty z okolí. Některé jsou otevřené jen na jedné straně (Obr. 2b a 2f). Tyto lze nazývat jako slepé (slepý konec, sáčkové póry), ostatní jsou otevřené na obou koncích (průběžné póry (Obr. 2e). Dutiny nekomunikující s okolím nazýváme uzavřené póry (Obr. 2a), jsou produktem např. nedostatečného vývinu plynů (uzavřeniny v krystalech), mohou vzniknout kolapsem blízkého okolí póru při zahřívání atp. Uzavřené póry neovlivňují přímo adsorpci a průnik molekul, nicméně ovlivňují mechanické vlastnosti pevných matic.

Přístupnost póru

Vzhledem k tomu, že termín „uzavřený“ může být termínem relativním, lze např. definovat uzavřenost póru jako prostor, který není přístupný pro molekuly Helia ($d_{\text{krit}} = 0,2 \text{ nm}$). Jiná definice uzavřeného póru říká, že jde



Obr. 2. Schematické rozřídění pórů vzhledem k jejich dostupnosti, upraveno podle (IUPAC⁸), a – uzavřený pór, b, f – póry zavřené pouze na jednom konci, c, d, g – otevřené póry, e – póry otevřené na obou koncích, průběžné



Obr. 3. Klasifikace geometrie pórů (modifikováno dle Kaneko⁵)

o otevřený pór, jehož šířka je menší nežli velikost molekuly použitého média (tzv. ultrapóry). Takovéto účinně uzavřené póry a chemicky uzavřené póry by měly být označovány jako póry latentní.

Tvar póru

Na geometrii póru jsou založeny ještě jiné možné klasifikace, které zmínil Kaneko⁵ ve svém přehledu a jsou zároveň použity v publikaci IUPAC⁸ a potvrzeny např. Bindrou⁹. Póry jsou rozříděny podle podobnosti s následujícími geometrickými tvary (Obr. 3): válec, destička (štěrbina), kužel (IUPAC jej nazývá nálevka) a inkoustová lahvička (dva válce různých průměrů na sobě). V literatuře lze nalézt použití průměru mnoha jiných geometrických tvarů – kosočtverečný, eliptický či čtvercový. Pro zjednodušení a hlavně pro jejich nepravidelnou geometrii jsou tvary póru zařazovány dle modelových systémů. Jak je zřejmé, jsou modelové systémy s výhodou popisovány v termínech různých geometrických tvarů. Válec (aktivované oxidy, jako je oxid hlinitý či oxid hořečnatý), hranolovitý (některé vláknité zeolity), prohlubně a okénka (ostatní zeolity), štěrby (v jílech a aktivovaném uhlí) či kulovité, ačkoliv častěji bývají póry naopak tvořeny prostory mezi kulovitými částicemi, které se dotýkají (silikagel a určité formy oxidu zirkoničitého). Pro popis pórů se též využívá kombinace těchto forem, a to v závislosti na uspořádání strukturálních elementů. Pro úplný popis systému pórů se využívá modelování na základě více kritérií, např. geometrie, velikost póru, orientace, umístění a typ propojení.

3. Kategorie velikostí pórů

Porézní materiály, vykazující stejnou hodnotu zdánlivé porozity, avšak mající póry s různou velikostí a geometrií, reagují za stejných podmínek různým způsobem. To je zřejmým důvodem pro potřeby kategorizace pórů podle jejich rozměrů. Vlastnost nazývaná „velikost póru“ je velmi důležitá při praktických aplikacích porézních mate-

Tabulka I
Přehled třídění pórů podle jejich velikosti

Klasifikace	Definované typy pórů, d [nm]					
	makro-	mezo-	mikro-	supermikro-	ultramikro-	submikro-
IUPAC ^{1,10}	>50	50–2	<2, resp. 2–04	2–07	<0,7	<0,4
Dubinín ²	>400–200	400–200 > d > 3–3,2	<1,4–1,2	3,2–3 > d > 1,4–1,2	–	–
Cheremskoj ³	>2000	–	2000 > d > 200	–	<4–2	<200
Kodikara ⁷	10 ⁶ –10 ⁴	–	3·10 ⁴ –10 ³	10 ³ –25	<4–3	–

riálů, nicméně chceme-li ji přesněji definovat, dostáváme se do obtíží. Termín „velikost póru“ má zcela jasný význam, pokud je geometrický tvar pórů (válcovitý, kónický, štěrbínovitý) dobře definován a je známý. Přehled některých typů třídění pórů a jejich velikosti ukazuje tabulka I.

Příhodnou původní klasifikaci Dubinína¹¹ upravili Everett¹ a Sing a spol.¹². Tato klasifikace je využitelná pro katalyzátory a třídí póry dle jejich průměru pro případ válcových pórů, pro kapilární póry jiného nežli válcovitého tvaru je využíván ekvivalentní průměr či poloměr póru, vzdálenosti dvou plochých stran v případě štěrbínovitého tvaru a nejmenšího z rozměrů u trhlínovitých pórů. Póry jsou zhruba rozříděny do následujících skupin podle jejich charakteristického průměru: makropóry $d > 50$ nm, mezopóry v rozsahu 50–2,0 nm a mikropóry $d < 2,0$ nm. Nejmenší póry lze dále rozdělit na velikost 2,0–0,7 nm (supermikropóry) a $d < 0,7$ (ultramikropóry). V případě aktivního uhlí jsou rozlišovány dvě kategorie pórů: transportní póry, které zahrnují makropóry s průměrem $d > 50$ nm, a adsorpční póry, které jsou dále zatříděny jako mezopóry (50–2 nm), mikropóry (2–0,4 nm) a jsou přidány submikropóry ($d < 0,4$ nm)¹⁰.

Tabulka II poskytuje stručný přehled typů sorbentů, jejich odpovídajících vlastností a vysvětluje důvod zájmu o daný rozsah velikostí pórů. Ve většině vzorků se nachází kombinace mikropórů a malých mezopórů.

Při diskusi mechanismů adsorpce a kapilárních vlivů u adsorbentů, obzvláště u aktivovaných uhlí odlišuje Dubinín² následující typy pórů: makropóry ($d > 400$ –200 nm),

mezopóry (400–200 > d > 3,2–3,0 nm), supermikropóry (3,2–3 > d > 1,4–1,2 nm) a mikropóry $d < 1,4$ –1,2 nm), kde d je efektivní průměr póru měřený na kolmici (normále) ke směru proudění molekuly při plnění póru. Samotný průměr může posloužit jako charakteristika pro případ válcových pórů, v případě trhlínovitých pórů jako šířka. Cheremskoj³ klasifikoval jednotlivé typy pórů na základě relativní velikosti póru a strukturální jednotky porézního materiálu. Makropóry ($d > 2000$ nm) jsou definovány jako póry výrazně větší velikosti nežli má jednotlivý strukturální element. Mikropóry (2000 > d > 200 nm) jsou póry se zhruba stejnou velikostí, jako má jednotlivý strukturální element. Submikropóry ($d < 200$ nm) mají výrazně menší velikosti nežli má jednotlivá strukturální částice. Ultramikropóry ($d < 4$ –2 nm) lze nalézt uvnitř strukturálních elementů. Pro jílovité struktury navrhl Kodikara⁷ rozdělení šířek pórů do následujících kategorií: meziklastrové (makropóry s rozměry 10⁶–10⁴ nm, interagregáty (mikropóry 3·10⁴–1 nm), mezičásticové struktury (interparticle, submikropóry 1000–25 nm), struktury uvnitř částice (intraparticle, ultramikropóry <4–3 nm).

Membránové technologie

Dalším oborem, který se využívá definované póry, jsou membránové technologie. Různé typy membrán a provozovaných separačních procesů jsou závislé mj. na distribuci velikostí pórů v membráně. Membránové technologie rozlišují: mikrofiltraci (5000–100 nm), ultrafiltraci (50–5 nm), dialýzu (5–2 nm) a reverzní osmózu¹⁴ (0,5–0,2 nm).

Tabulka II
Fyzikální vlastnosti vybraných porézních adsorbentů¹³

Porézní adsorbent	Průměrná velikost pórů [nm]	Měrný povrch [m ² g ⁻¹]
Aktivovaná alumina (granulovaná)	4,5	200
Silikagel (granulovaný)	2–5	600–800
Aktivní uhlí (granulované)		
– na bázi kokosových skořápek	2	800–1600
– na ropné bázi	2	900–1300
– na bázi rašeliny	1–4	800–1600
– na bázi kamenného uhlí	2–4	900–1200

4. Diskuse a doporučení

Klasifikace IUPAC třídí póry (makro- $d > 50$ nm, mezo- 50–2 nm a mikro- $d < 2$ nm) dle mechanismů, které jsou rozhodující při izotermní adsorpci N_2 v pórech při teplotě 77,4 K a tlaku 101,325 kPa a které mohou být vyhodnoceny z adsorpčních izoterm. Dále dělí mikropóry na supermikro- (2–0,7 nm), ultramikro- (<0,7 nm) a submikro- (<0,4). Pro charakterizaci makropórů je určující vícevrstvá adsorpce, pro mezopóry kapilární kondenzace a mikropóry jejich vyplnění. Vyplněním je míněno to, že veškerý prostor póru je k dispozici pro molekuly sorbatu, na rozdíl od sorpce na povrchu.

Velikosti kategorií pórů odpovídají aplikaci kondenzační teorie vztažené k relativnímu poměru tlaků P/P_0 . Velikost póru 50 nm odpovídá⁵ relativnímu tlaku 0,96, při čemž se běžně měří za relativních tlaků 0,995. V oblasti poměru tlaků $P/P_0 \approx 0,4$ –1 se uplatňuje kapilární kondenzace u mezopórů, při $P/P_0 \leq 0,39$ je chování vrstvy adsorbovaného dusíku nestabilní⁵ a tedy není možno použít Kelvinovu rovnici. V případě tzv. mikropórů ($d < 2$ nm) se tyto plní kontinuálně ($P/P_0 = 10^{-7}$ –0,02). Horní hranice velikosti ultramikropórů ($d < 0,7$ nm) odpovídá tloušťce dvou vrstev dusíku (monovrstva na pevných površích má tloušťku 0,354 nm) poblíž vstupu do póru. Přechod mezi ultramikro- a mikropóry je označován jako supermikropóry ($2 > d > 0,7$ nm). V závislosti na kritickém průměru molekuly dusíku ($d_{krit} = 0,380$ nm) lze definovat nejmenší a největší rozměr třídy mikropórů. Nejmenší rozměr mikropóru odpovídá kritickému průměru molekuly dusíku a největší rozměr odpovídá pětinašobku¹⁵ kritického průměru d_{krit} , tedy 2 nm. Pro adsorpční měření lze též využít argon, jehož menší kulová molekula ($d_{krit} = 0,350$ nm) se dostane do užších pórů, kam molekula dusíku nemůže. Póry menší nežli 0,4 nm označuje IUPAC (cit. 10) jako submikropóry.

V oblasti ultrapórů nastínil nový koncept Kaneko⁵ a Ruike¹⁶ použitím He jako sorpčního plynu, protože He při teplotě 303 K je schopno pronikat do pórů, které jsou pro N_2 při teplotě 77 K nedostupné. Za nedostupné (uzavřené) považujeme póry, jejichž rozměry nejsou měřitelné těmito sorpčními analytickými technikami. Je třeba si uvědomit, že ultrapóry podle těchto autorů ($d < 0,35$ nm, tloušťka monovrstvy N_2) odpovídají submikropórům, nikoliv ultramikropórům dle IUPAC (cit. 10). Doporučujeme tedy zachovat IUPAC (cit. 10) navrženou velikost submikropórů (<0,4 nm). Za použití jiného sorpčního média např. He je tato velikost 0,2 nm.

Mikropóry v aktivním uhlí zařadil např. Ruike¹⁶ jako velké a malé otevřené mikropóry, kdy hraniční šířka mezi malými a velkými mikropóry je odhadována na 1,5–1,2 nm. Dubininem² navržená klasifikace pórů pro klasické sorbenty tj. aktivní uhlí (viz tabulka I) definuje rozměry mikropórů velikostí sorbované molekuly. Fyzikální sorpce v těchto pórech je charakterizována kompaktním plněním prostoru dostupného pro adsorpci a pórový objem je tak malý, že interakci adsorbent-adsorbát lze považovat za jednofázový systém. Pro rozlišení přechodné oblasti mezi mikro- a makropóry navrhuje zavedení dvou kategorií, a to

tzv. supermikropórů ($3,2$ – $3 > d > 1,4$ – $1,2$) a mezopórů (400 – $200 > d > 3,2$ – 3 nm). Tento rozsah odpovídá horní a dolní hranici aplikace Thompsonovy-Kelvinovy kapilárně-kondenzační rovnice. Tyto póry vykazují vysoce rozvinutý specifický povrch, kde se projevují monomolekulární, vícevrstvá sorpce a konečně zaplnění pórů díky kapilární kondenzaci řízené mnoha faktory, povětšinou kinetického původu. Tlustější póry ($d > 400$ – 200 nm) jsou zařazeny jako makropóry, v nichž jsou sorpční procesy zanedbatelné a probíhají v nich hlavně procesy transportní.

Velikost pórů přiřazovaná Dubininem výrazu supermikropór se liší od klasifikace IUPAC.

V literatuře existuje ještě více systémů třídění velikosti pórů^{3–7,16,17}, které se navzájem značně liší a v některých případech si navzájem odporují. Pro sjednocení charakterizace porézních materiálů je však obecně uznávanou klasifikací IUPAC (cit. 1) vytvořená na základě mechanismů sorpčních jevů.

5. Závěr

V článku předkládáme k diskusi rozdíly mezi systémy klasifikace porézních materiálů a udávání „velikostí“ pórů. V textu byly porovnány systémy třídění pórů z hlediska jejich původu, struktury, velikosti a geometrického tvaru. V současnosti je tzv. „velikost pórů“ zřejmě hlavním parametrem využívaným pro charakterizaci porézních matric. Dostupná literatura je relativně rozsáhlá, nicméně velmi těžko se mezi klasifikacemi hledá shoda. Zájemce o tuto problematiku odkazujeme na přehledný článek⁶ autorů, který mimo jiné uvádí návrh a zdůvodnění změn klasifikace, především v oblasti mikropórů. Ve většině publikací je použito zařazení mezo- a makropórů dle klasifikace IUPAC (cit. 10). Tato preference vyplývá převážně z fyzikálních a praktických důvodů.

Tato práce byla vypracována za podpory grantu č. 104/06/1079 GA ČR a Výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR č. MSM6046137308.

LITERATURA

1. Everett D. H., IUPAC: Pure Appl. Chem. 31, 579 (1972).
2. Dubinin M. M.: Proc. Acad. Sci. USSR 271, 8, 1691 (1979).
3. Cheremskoj P. G.: *Metodi Izsledovanjia Porestosti Tvrdivh Tel.* Energoatomizdat, Moskva 1985.
4. Strellov K. K., Bessonov A. F.: Refract. Ind. Ceram. 4, 506 (1963).
5. Kaneko K.: J. Membrane Sci. 96, 59 (1994).
6. Zdravkov B., Čermák J. J., Šefara M., Janků J.: Cent. Eur. J. Chem. 5, 385 (2007).
7. Kodikara J., Barbour S. L., Fredlund D. G.: *Proc. 8th Australian-New Zealand Conference on Geomechanics, Hobart, 15–17 February 1999*, p.179. Australian Geomechanics, Australia 1999.

8. Pure Appl. Chem. 66, 1739 (1994).
9. Bindra B., Jasuja O. P., Singla A. K.: Anil Aggrawal's Internet J. Forensic Med. Toxic., 1 (2000): http://www.gerads.com/anil/ij/vol_001_no_001/paper003.html, staženo 14. 6. 2006.
10. International Union of Pure and Applied Chemistry Physical Chemistry Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units, Butterworths, London 1972.
11. Dubinin M. M.: Chem. Rev. 60, 235 (1960).
12. Sing K. S. W., Everett D. H., Haul R. W., Moscou L., Pierotti R. A., Rouquerol J., Siemieniewska T.: Pure Appl. Chem. 302, 603 (1985).
13. Green D. W.: *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. 6. vyd. McGraw-Hill Company, New York 1984.
14. Sakai K.: J. Memb. Sci. 96, 91 (1994).
15. Plachenov T. G., Kolosencev S. D.: *Porometria*. Chimia, Leningrad 1981.
16. Ruike M., Kasu T., Setoyama N., Suzuki T., Kaneko K.: J. Phys. Chem. 98, 9594 (1994).
17. Brown M. G., Cadenhead D. A.: J. Colloid. Interf. Sci. 70, 139 (1979).

B. Zdravkov, J. J. Čermák, J. Janků, V. Kučerová, and M. Šefara (*Department of Environmental Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Pore Classification in the Characterization of Porous Materials**

The characteristics are summarized of porous materials important for their technical applications and for understanding the physical-chemical processes involving the materials used as catalysts and adsorbents. The internal structure of pores is discussed in terms of their size distribution, volume, shape, connectivity, accessibility and surface area. Classification of pores is one of the basic requisites for comprehensive characterization of porous solids. The commonly used classification systems of porous bulk materials as well as discrepancies and differences in pore size categorization are discussed. A system of pore classification is proposed.

VŠCHT Praha přijme pracovníka/pracovnici na pozici odborného/vědeckého pracovníka/ce pro laboratoř rentgenové difraktometrie.

Hlavní náplň práce:

- zajišťování servisu měření na rentgenových difraktometrech – kvalitativní a kvantitativní fázová analýza,
- metodika kvantitativní fázové analýzy,
- přednášky a výuka praktických úloh v rámci předmětů RTG fázová analýza,
- vedení jednoho studenta při vypracování diplomové práce (v pozici vědeckého pracovníka),
- zapojení do grantových projektů laboratoře.

Požadavky:

- Vysokoškolské vzdělání v oboru přírodních věd se zaměřením na anorganickou či organickou chemii, přednost mají absolventi se zkušenostmi v oblasti aplikace rtg záření. Střední znalost anglického jazyka a Microsoft Office nutností. Znalost softwaru pro kvalitativní rtg fázovou analýzu vítána.

Nabízíme:

- zajímavou práci v moderně vybavené laboratoři,
- příležitost k profesnímu rozvoji (pro absolventy možnost doktorandského studia),
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: od 1. července 2008

Kontakt: RNDr. Jaroslav Maixner, CSc., tel. 220 444 201, 604 842 790,
jaroslav.maixner@vscht.cz

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VLIV SLOŽENÍ ROP NA JEJICH CHOVÁNÍ PŘI DLOUHODOBÉM USKLADNĚNÍ

LUKÁŠ DAREBNÍK, PETR STRAKA, DANIEL MAXA a GUSTAV ŠEBOR

Ústav technologie ropy a alternativních paliv, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
darebnil@vscht.cz

Došlo 12.7.07, přepracováno 18.10.07, přijato 27.11.07.

Klíčová slova: asfaltény, parafíny, dlouhodobé skladování rop

Úvod

Těžba, doprava, skladování a zpracování ropy přináší mnoho potíží souvisejících s charakterem a složením této suroviny. Jedním z hlavních problémů skladování ropy je vznik a vylučování pevných látek, které se následně usazují na dně skladovacích nádrží¹. Na vylučování těchto látek z ropné fáze se podílejí především dva typy sloučenin. Tím prvním jsou vysokomolekulární nasycené uhlovodíky s převažujícím podílem *n*-alkanů (parafínů), které při teplotách pod bodem zákalu začínají vytvářet krystaly. Pokud obsahují v molekule více než 20 uhlíkových atomů, nacházejí se za normální teploty v pevném stavu. Proto je přítomnost většího množství těchto sloučenin zdrojem potíží nejen při skladování ropy, ale i při její těžbě a dopravě^{1,2}. Druhým typem sloučenin jsou ropné asfaltény, nejtěžší nedestilovatelné ropné podíly, které také za určitých podmínek mohou vytvářet pevnou fázi, a tím přispívat k tvorbě úsad^{3–5}.

Hlavním problémem při zkoumání vlivu složení rop na jejich chování při dlouhodobém uskladnění je jejich komplexní složení. Ropa totiž kromě dvou výše uvedených skupin látek obsahuje celou škálu uhlovodíků a organických látek, ale také minerální látky nebo produkty koroze technologických zařízení^{6–11}. Protože se dané látky vzájemně ovlivňují, nelze jejich vliv na dlouhodobé skladování rop posuzovat izolovaně, což celou situaci značně komplikuje¹². Z řady provedených experimentů byly vyvozeny následující poznatky¹³:

- srážení asfaltenů představuje nukleační centra pro krystalizaci parafínů,

- čím širší je distribuce *n*-alkanů, tím nižší je riziko vzniku úsad nebo začátku jejich krystalizace v ropách,
- při smísení dvou problematických rop (z pohledu nízkoteplotních vlastností), se může výsledná směs chovat jako neproblematická a naopak, smísením dvou druhů neproblematických rop můžeme dostat směs, která za nízkých teplot bude způsobovat potíže.

Aby bylo možno minimalizovat problémy související se vznikem a vylučováním pevných látek, je snaha predikovat tvorbu a vlastnosti ropných úsad. Pro tento účel byly vypracovány matematické modely, jejichž použití však v praxi ztroskotává na nutnosti znalosti zastoupení čistých složek, což je v případě složité multikomponentní směsi, jakou ropa je, velmi obtížné¹⁴. Dalším způsobem odhadu stability ropy je vytvoření experimentálního modelu skladovací nádrže a experiment simulující skladování ropy. Tento postup umožňuje sledování chování ropy během skladování za daných podmínek ve významně zkráceném čase. Záměrem těchto experimentů je zjistit náchylnost jednotlivých druhů rop k tvorbě úsad. Základním analytickým údajem pro charakterizaci parafinických ropných úsad je obsah a distribuce přítomných *n*-alkanů¹⁵.

Cílem práce bylo prozkoumat, jaký vliv má složení ropy na její chování při dlouhodobém uskladnění za relativně nízkých teplot (10 °C).

Experimentální část

Analyzované vzorky

Pro přípravu problematických ropných směsí majících tendenci k tvorbě parafinických úsad byly použity následující vzorky:

- odsazená ropa REB (Russian export blend) odebraná z velkokapacitní nádrže (100 000 m³) společnosti ME-RO a.s. po dvouletém skladování,
- úsada odebraná ze dna skladovací nádrže po dvou letech skladování ropy REB – dále jen „úsada REB“,
- úsada získaná po čištění ropovodu tzv. ježky po přepravě ropy Azeri Light – dále jen „úsada Azeri Light“.

Vlastnosti vzorků použitých pro přípravu problematických ropných směsí jsou uvedeny v tabulce I.

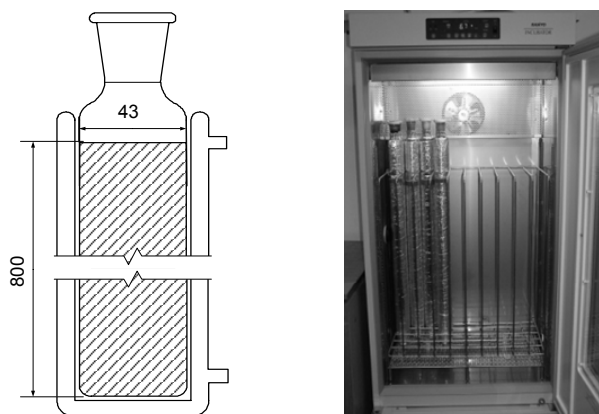
Příprava modelových směsí a jejich uložení do sedimentačních válců

Z odsazené ropy REB a úsady REB byly připraveny dvě modelové směsi o následujícím složení:

- odsazená ropa REB se 4,0 hm.% úsady REB,
 - odsazená ropa REB s 8,0 hm.% úsady REB.
- Dále byly z odsazené ropy REB a úsady Azeri Light

Tabulka I
Charakterizace vzorků použitých k přípravě problematických směsí rop

Vzorek	Obsah <i>n</i> -alkanů C ₁₉ ⁺ [hm. %]	Obsah asfaltenu [hm. %]
Ropa REB	1,8	1,1
Úsada REB	12,2	1,1
Úsada Azeri Light	24,3	0,1



Obr. 1. Rozměry sedimentačního válce (mm) a fotografie inkubátoru pro uložení sedimentačních válců

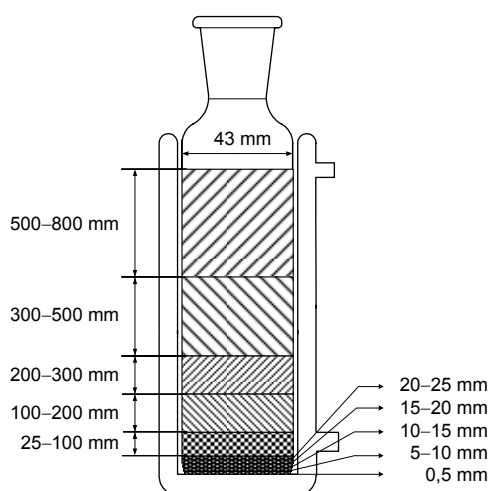
připraveny dvě modelové směsi o následujícím složení:

- odsazená ropa REB se 2,0 hm.% úsady Azeri Light,
- odsazená ropa REB se 4,0 hm.% úsady Azeri Light.

Koncentrace úsad nebyla zvolena náhodně, ale tak, aby obsah a distribuce *n*-alkanů u porovnávaných dvojic směsí byly přibližně stejné.

Podmínky měření a způsob uložení sedimentačních válců

Vlastní skladování modelových směsí rop probíhalo



Obr. 2. Způsob odběru jednotlivých vrstev ze sedimentačního válce

v uzavřených skleněných válcích o vnitřním průměru 43 mm a výšce cca 900 mm. Válce byly modelovými směsí naplněny do výšky 800 mm, což představuje jednu dvacetinu výšky ropy v reálné nádrži na tankovišti MERO a.s. Každá směs byla převedena do jednoho sedimentačního válce, přičemž při rychlosti usazování parafinických látek odpovídající skutečnosti by mělo dojít k dvacetinásobnému zkrácení procesu tvorby ropných úsad. Válce byly umístěny do speciálně upraveného chlazeného inkubátoru (viz obr. 1), ve kterém byly ponechány 18 dní (odpovídá jednomu roku skladování ve skutečné nádrži o výšce 16 m).

Podmínky a způsob odběru jednotlivých vrstev

Po ukončení procesu modelového skladování byl každý válec zvážen a umístěn do chladičeho pláště, aby při vlastním časově relativně náročném odběru vzorků nedošlo k nežádoucím výkyvům teploty. Jednotlivé vrstvy byly odběrovým zařízením odsáty tak, jak je naznačeno na

Tabulka II
Podmínky vysokoteplotní kapilární plynové chromatografie

Technika nástřiku	Dávkování typu „on column“, $1 \cdot 10^{-3}$ cm ³ vzorku
Kolona	Ocelová předkolona o délce 0,75 m Varian WCOT ULTIMETAL 10 m x 0,53 mm i.d., film 0,17 mm
Mobilní fáze	He, konstantní průtok 5 cm ³ min ⁻¹
Teplotní program	lineární nárůst rychlostí 15 °C min ⁻¹ na teplotu 410 °C, 410 °C – 20 min
Detektor	plameno-ionizační(FID) teplota detektoru: 430 °C průtok vodíku: 35 cm ³ min ⁻¹ průtok vzduchu: 350 cm ³ min ⁻¹ průtok make-up plynu (dusík): 30 cm ³ min ⁻¹

obr. 2, a po odběru byly zváženy. Z každé modelové směsi bylo odebráno celkem deset vrstev o známé hmotnosti, které byly později podrobeny detailnější charakterizaci.

Charakterizace vrstev odebraných po modelovém skladování

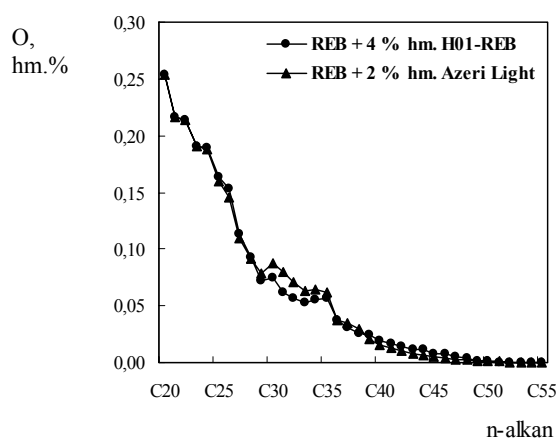
Jednotlivé vrstvy byly charakterizovány stanovením obsahu a distribuce přítomných *n*-alkanů. Pro rychlé získání koncentráty nasycených uhlovodíků byla využita adsorpční chromatografie za zvýšené teploty. Samotné stanovení obsahu a distribuce *n*-alkanů bylo provedeno vysoko-plotní kapilární plynovou chromatografií, jejíž podmínky

jsou uvedeny v tab. II.

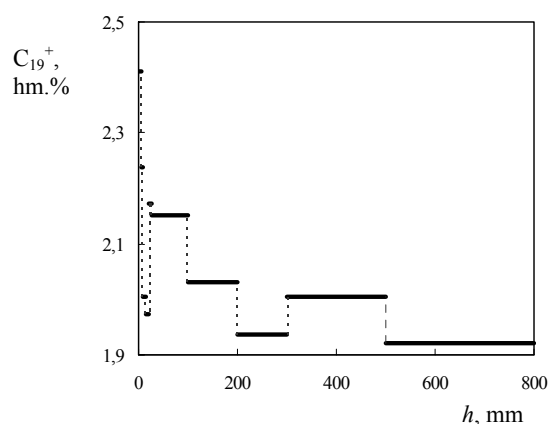
Výsledky a diskuse

Pro experimenty modelového skladování byly připraveny modelové směsi, které se příliš nelišily obsahem a distribucí *n*-alkanů (viz obr. 3 a 4). Na jejich přípravu však byly použity parafinické koncentráty lišící se svým původem a tudíž i obsahem parafinů a asfaltenů.

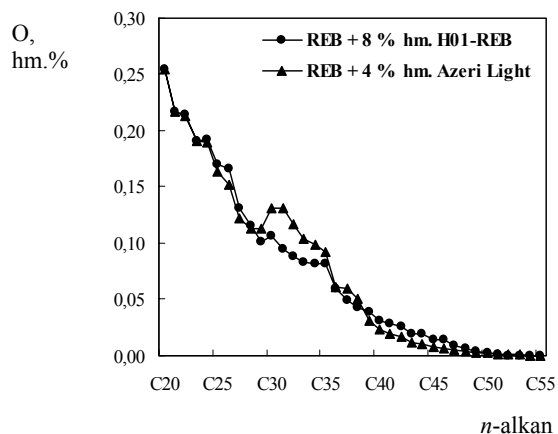
Na obr. 5 a 6 je uveden obsah *n*-alkanů C_{19}^+ u směsí připravených z ropy a úsady REB v závislosti na hloubce odběru po jejich modelovém skladování. U obou směsí je vidět, že během skladování nedošlo v sedimentačním válci k tvorbě významného koncentračního profilu *n*-alkanů



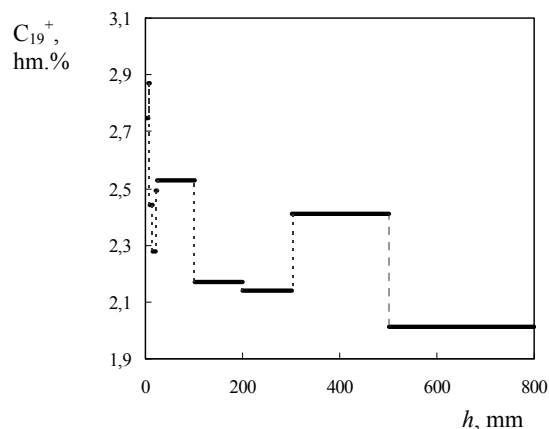
Obr. 3. Porovnání obsahu a distribuce *n*-alkanů modelové směsi se 4 hm.% úsady REB a modelové směsi se 2 hm.% úsady Azeri Light; O – obsah *n*-alkanů



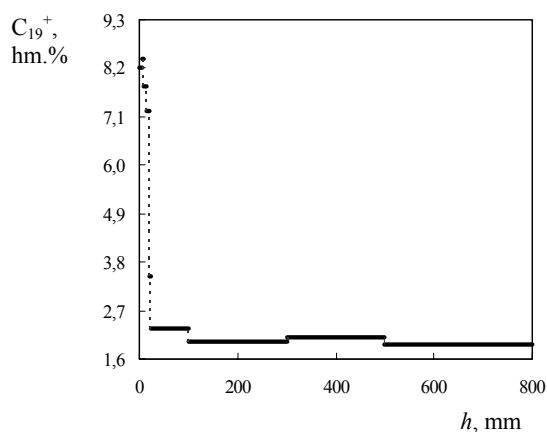
Obr. 5. Obsah *n*-alkanů C_{19}^+ v závislosti na hloubce odběru po skladování modelové směsi se 4 hm.% úsady REB; *h* – výška odběru ode dna sedimentačního válce



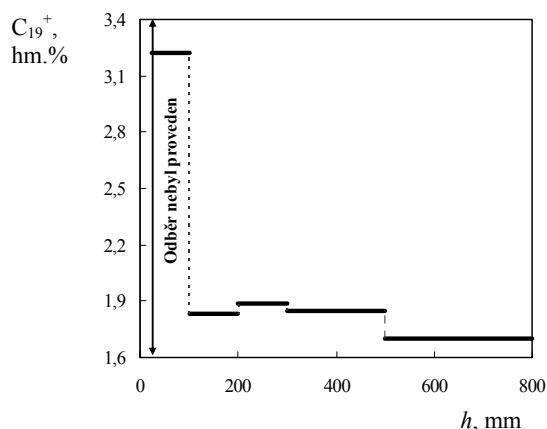
Obr. 4. Porovnání obsahu a distribuce *n*-alkanů modelové směsi s 8 hm.% úsady REB a modelové směsi se 4 hm.% úsady Azeri Light; O – obsah *n*-alkanů



Obr. 6. Obsah *n*-alkanů C_{19}^+ v závislosti na hloubce odběru po skladování modelové směsi s 8 hm.% úsady REB; *h* – výška odběru ode dna sedimentačního válce



Obr. 7. Obsah n -alkanů C_{19}^+ v závislosti na hloubce odběru po skladování modelové směsi se 2 hm.% úsady Azeri Light; h – výška odběru ode dna sedimentačního válce



Obr. 8. Obsah n -alkanů C_{19}^+ v závislosti na hloubce odběru po skladování modelové směsi se 4 hm.% úsady Azeri Light; h – výška odběru ode dna sedimentačního válce

C_{19}^+ . Z toho je patrné, že přidavek úsady REB do ropy REB neměl prakticky žádný vliv na její chování při modelovém uskladnění.

U směsi namíchaných z ropy REB a úsady Azeri Light je vidět výrazné zkoncentrování n -alkanů C_{19}^+ na dně válce (viz obr. 7 a 8). U směsi se 4 hm.% úsady Azeri Light měla vzniklá úsada na dně sedimentačního válce tak vysokou viskozitu, že ji nebylo možno stávajícím vzorkovacím zařízením odebrat.

Důvody rozdílného chování připravených směsí během procesu modelového skladování lze vidět v použití odlišných parafinických koncentrátů. Obě úsady se totiž

vyznačovaly různým obsahem asfaltenů (viz tab. I) a mírně se lišily i distribucí výškemolekulárních n -alkanů C_{19}^+ . Díky multikomponentnímu charakteru ropy sehrály svoji úlohu pravděpodobně i další látky účastníci se krystalizace parafinů a napomáhající tvorbě úsad, které ovšem nemohly být použitými analytickými metodami stanoveny.

Závěr

Za hlavní ukazatel vypovídající o tendenci parafinických rop k tvorbě parafinických úsad během skladování byl považován obsah a distribuce n -alkanů. Pro experiment byla připravena dvojice modelových směsí s velmi podobnou distribucí a obsahem n -alkanů. K jejich namíchání však byly použity parafinické koncentráty s různým původem a tudíž i různým obsahem n -alkanů i asfaltenů (úsady ze dna skladovací nádrže a úsady odebrané z ropovodu). Pokud bychom vycházeli z předpokladu, že n -alkany jsou klíčovou složkou podílející se na tvorbě parafinických úsad, měly by se dané směsi chovat velmi podobně. Jak ale vyplynulo z provedeného experimentu, jejich chování během modelového skladování bylo zcela odlišné. Z výsledků lze vyvodit, že nejen n -alkany, ale i další složky (především asfalteny, ale i další látky) hrají důležitou roli během skladování rop. Proto se předpokládá další pokračování experimentů se zaměřením na obsah a strukturu asfaltenů s cílem objasnit jejich vliv při dlouhodobém skladování parafinických rop.

Tato práce byla realizována za finanční podpory MŠMT ČR v rámci projektu č. MSM 6046137304 a za finanční podpory akciové společnosti MERO ČR, a.s.

LITERATURA

- Šebor G., Maxa D., Kroufek J., Šimáček P., Battseren B., Procházka F.: *Výzkumná zpráva*. VŠCHT, Praha 2003.
- Lískovec M.: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 2005.
- García M. del Carmen, Carbognani L.: *E&F 15*, 1021 (2001).
- Carbognani L.: *Pet. Sci. Technol.* 18, 607 (2000).
- García M. del Carmen, Carbognani L., Orea M., Urbina A.: *Pet. Sci. Technol.* 16, 1001 (1998).
- Priyanto S., Mansoori G. A., Suwono A.: *Chem. Eng. Sci.* 56, 6933 (2001).
- Roehner R. M., Fletcher J. V., Hanson F. V.: *E&F 16*, 211 (2002).
- Demirbas A.: *Pet. Sci. Technol.* 20, 485 (2002).
- Teixeira M. A. G., Goncalves M. L. A.: *J. Pet. Sci. Eng.* 32, 249 (2001).
- Vasquez D., Mansoori G. A.: *J. Pet. Sci. Eng.* 26, 49 (2000).
- Fuhr B. J., Holloway L. R., Hammammi A.: *E&F 13*, 336 (1999).
- Carbognani L., Orea M., Fonseca M.: *E&F 13*, 351 (1999).

13. García M. del Carmen, Urbina A.: *Pet. Sci. Technol.* 21, 863 (2003).
14. Farina A., Fasano A.: *Mathl. Comput. Modelling* 25, 75 (1997).
15. Straka P., Šebor G., Maxa D., Šimáček P.: *APRO-CHEM*, 13, Milovy, 2004. Sborník přednášek 294–301.

L. Darebník, P. Straka, D. Maxa, and G. Šebor
(Department of Petroleum Technology and Alternative Fuels, The Institute of Chemical Technology, Prague):
The Effect of Oil Composition on Deposit Formation During a Long-Term Storage

The paper deals with assessment of the crude oil tendencies to deposit formation. Model mixtures for experimental studies were prepared using REB (Russian export blend) crude oil enriched with substances isolated from two types of crude oil deposits. The formation of deposits in sedimentation cylinders placed in thermostat was followed for 18 days. Then, samples were taken from 10 layers of the cylinder content with a special sampling device. The samples were analyzed to evaluate the distribution of *n*-alkanes. The results proved that not only the content and composition of *n*-alkanes, but also of other classes of components are responsible for deposit formation during storage. The research will be oriented on the role of asphaltenes.

Pro české zastoupení Merck spol. s r.o. hledáme vhodné kandidáty na pozici:



Prodejní specialista pro oblast Life Science

Jako člen prodejního týmu budete zodpovědná(y) za:

- Každodenní osobní kontakt se zákazníky
- Monitorování a zabezpečení potřeb svěřených zákazníků
- Odborný poradenský servis pro svěřené produkty
- Komplexní péče o svěřené produktové portfolio
- Vedení marketingových kampaní
- Získávání a zpracování informací o trhu
- Vedení obchodních jednání

Požadujeme:

- VŠ vzdělání se zaměřením na biochemii, molekulární biologii, mikrobiologii apod. výhodou dokončené postgraduální vzdělání v některém z uvedených oborů.
- Experimentální zkušenosti v Life Science
- Odborné kontakty a vazby v oboru
- Lokalizace Praha, Brno, Olomouc a okolí
- Spolehlivost a příjemné vystupování
- Dynamická, samostatná, flexibilní a komunikativní osobnost
- Orientace na zákazníka a na splnění úkolu
- Schopnost práce v týmu
- Ochotu učit se nové dovednosti
- Dobrá aktivní znalost AJ slovem i písmem
- Výborná znalost MS Office (Excel, Word, Power Point)
- Řidičský průkaz sk. B a ochota cestovat

Nabízíme:

- Jistotu a kvalitní pracovní zázemí v prosperující firmě
- Práci v mezinárodním prostředí, inovativní atmosféře a týmu společnosti
- Samostatnou, různorodou a odpovědnou práci
- Motivující finanční ohodnocení
- Benefity nabízené společností + služební automobil, počítač, mobilní telefon)
- Vzdělávací program
- Termín nástupu dohodou (okamžitě výhodou)

Pokud Vás naše nabídka zaujala, zašlete, prosím, do 25.6.2008 strukturovaný životopis s průvodním dopisem e-mailem na: jobs@merck.cz, eva.lorencova@merck.cz

KONDUKTOMETRICKÉ STANOVENÍ SLOŽENÍ VODNÍHO SKLA

VRATISLAV BEDNAŘÍK
a MILAN VONDRUŠKA

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická,
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, 762 72 Zlín
bednarik@ft.utb.cz

Došlo 5.4.07, přepracováno 14.6.07, přijato 22.2.08.

Klíčová slova: vodní sklo, analýza, konduktometrická
titrace

Úvod

V současné době jsme svědky intenzivního výzkumu v oblasti syntézy anorganických polymerů z přírodních hlinito-křemičitanových minerálů a přípravy nových, technicky využitelných materiálů z těchto polymerů. Všeobecně se pro označování těchto nových materiálů vžil pojem geopolymery a jejich příprava je nazývána geopolymerační¹. Jednou z nezbytných komponent geopolymerační reakční směsi je vodní sklo, čili vodný roztok alkalického křemičitanu. Pro navržení optimálního dávkování vodního skla do reakční směsi je pochopitelně užitečné znát co nejpřesněji složení používaného vodního skla, tedy obsah SiO_2 a Na_2O resp. K_2O (obecně M_2O), jak je složení vodního skla běžně udáváno výrobci. Odborná příručka jednoho z tuzemských výrobců vodních skel doporučuje pro analýzu vodního skla titrací zředěného vzorku vodního skla odměrným roztokem HCl na indikátor methylčerveň (stanovení M_2O), s následným přidavkem roztoku NaF a další titrací odměrným roztokem HCl (stanovení SiO_2)². Zmiňovaná metoda dává dle našich zkušeností dobré výsledky pro obsah M_2O , ale obsah SiO_2 stanovuje poměrně nepřesně, neboť barevná změna indikátoru při druhé titraci je velmi pozvolná a určení bodu ekvivalence je v důsledku toho nejednoznačné.

Tato práce představuje alternativní metodu pro stanovení složení vodního skla založenou na konduktometrické titraci odměrným roztokem HCl .

Experimentální část

Vodní sklo

Vzorky testovaných vodních skel pocházely od dvou tuzemských dodavatelů:

- Vodní sklo, a.s., Brno,
- Koma, s.r.o., Ústí nad Labem.

Použité přístroje

Konduktometr s automatickou teplotní korekcí (LF 3000, WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Germany).

Analytický pracovní postup

Na analytických vahách se naváží přibližně 1–2 g vzorku vodního skla (navážka m_{vz}). Navážku je vhodné zvolit podle očekávaného obsahu SiO_2 a M_2O tak, aby spotřeby při níže popsanych titracích byly menší, než kapacita použité byrety (10 ml). Navážka vodního skla se pomocí horké převařené destilované vody kvantitativně převede do titrační nádoby, zředí se převařenou destilovanou vodou ochlazenou na 20 °C na objem cca 500 ml a titruje konduktometricky cca 2,5 M odměrným roztokem HCl . Standardizace odměrného roztoku HCl se provede na navážku primárního standardu KHCO_3 .

Při titraci vodního skla roztokem kyseliny mohou probíhat následující chemické reakce:



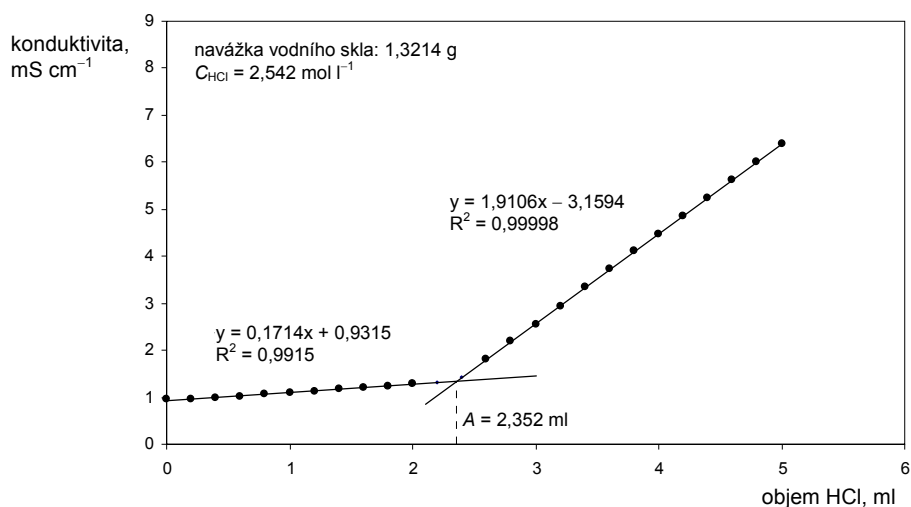
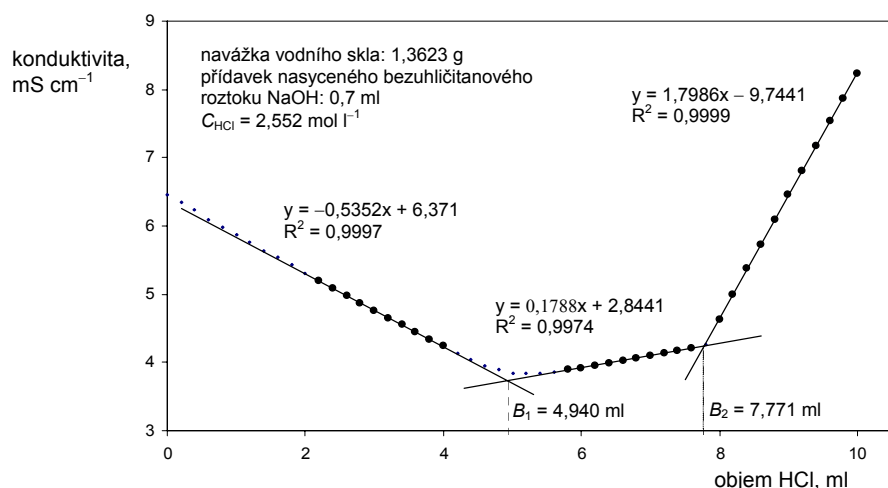
Vzhledem k tomu, že molární poměr $\text{M}_2\text{O}:\text{SiO}_2$ ve vodním skle je zpravidla menší než 0,5, uplatní se při přímé titraci vodního skla pouze druhá z uvedených reakcí a na získané konduktometrické titrační křivce (obr. 1) se objeví pouze jeden zlom (spotřeba A) odpovídající celkovému obsahu M_2O ve vodním skle:

$$\% \text{M}_2\text{O} = \frac{M_{\text{M}_2\text{O}}}{2 \cdot 1000} \cdot C_{\text{HCl}} \cdot A \cdot \frac{100}{m_{\text{vz}}} \quad (3)$$

Pro stanovení obsahu SiO_2 je nutno zvýšit poměr $\text{M}_2\text{O}:\text{SiO}_2$ ve vodním skle nad hodnotu 2, tj. tak, aby roztok obsahoval vedle křemičitanu rovněž volný hydroxid. To se provede přidavkem cca 1 ml bezuhlíčanového nasyceného roztoku NaOH k roztoku vodního skla před zahájením konduktometrické titrace. Na získané titrační křivce se pak objeví dva výrazné zlomy (obr. 2), z nichž první (spotřeba B_1) odpovídá vytitrování sumy OH^- a SiO_3^{2-} iontů a druhý (spotřeba B_2) odpovídá bodu ekvivalence reakce (2), tedy vytitrování iontů HSiO_3^- . Z rozdílu obou spotřeb se vypočítá obsah SiO_2 ve vodním skle:

$$\% \text{SiO}_2 = \frac{M_{\text{SiO}_2}}{1 \cdot 1000} \cdot C_{\text{HCl}} \cdot (B_2 - B_1) \cdot \frac{100}{m_{\text{vz}}} \quad (4)$$

Přesné dávkování roztoku NaOH není nutno dodržovat, neboť obsah SiO_2 se určuje z rozdílu spotřeb, nikoliv z jejich absolutní hodnoty. Je vhodné velikost dávky NaOH uzpůsobit při konkrétní titraci tak, aby hledané dva body ekvivalence rozdělovaly titrační křivku na tři přibližně stejně dlouhé úseky.

Obr. 1. Ukázka konduktometrické titrační křivky vzorku vodního skla – stanovení M_2O Obr. 2. Ukázka konduktometrické titrační křivky vodního skla s přídavkem NaOH – stanovení SiO_2

Výsledky a diskuse

Při ověřování prezentované metody stanovení na různých vzorcích vodních skel se ukázalo, že přesná analýza vodního skla je komplikována nesnadností odběru homogenního reprezentativního vzorku (některá vodní skla obsahovala i pouhým okem viditelné pevné částice). Z toho důvodu bylo za účelem ověření analytické metody vybráno vodní sklo, které neobsahovalo viditelné pevné částice. Jednalo se o vodní sklo sodné, druhu 50–52°Bé. Pro ověření přesnosti prezentované metody byla provedena analýza tohoto vybraného vzorku vodního skla sedmkrát vedle sebe a výsledky jsou shrnuty v tab. I. Jak je z tabulky zřejmé, výsledky jak obsahu Na_2O , tak i SiO_2 jsou reprodukovatelné a vykazují uspokojivě nízké hodnoty variačních

koeficientů.

Správnost dosažených výsledků byla posuzována porovnáním výsledků konduktometrické titrace s výsledky žihání vzorků vodního skla uvedenými rovněž v tab. I. Za předpokladu, že vodní sklo obsahuje pouze vodu, M_2O a SiO_2 , představuje hmotnost vyžihaného vzorku vodního skla sumu hmotností M_2O a SiO_2 , která by se měla shodovat se součtem obsahů M_2O a SiO_2 určenými konduktometrickou titrací. Sečteme-li v tab. I hodnoty obsahu Na_2O a SiO_2 stanovené konduktometrickou titrací, dostáváme: $14,07\% + 31,86\% = 45,93\%$, což je hodnota velmi dobře se shodující s hmotností zbytku po žihání tohoto vzorku vodního skla činící 45,92%. Tato velmi dobrá shoda potvrzuje správnost výsledků prezentované analytické metody. Dle údajů výrobce má dané vodní sklo obsahovat

Tabulka I

Výsledky konduktometrického stanovení obsahů SiO_2 a Na_2O a vázkového stanovení sumy obsahu SiO_2 a Na_2O (jako zbytku po žihání) ve vodním skle ($50\text{--}52^\circ\text{Bé}$).

Vzorek	Obsah Na_2O [%]	Obsah SiO_2 [%]	Zbytek po žihání ^a [% Na_2O + % SiO_2]
1	14,07	31,92	45,87
2	14,09	31,83	45,98
3	14,13	31,94	45,91
4	14,07	31,82	45,92
5	14,02	31,86	45,91
6	14,00	31,86	45,91
7	14,09	31,79	–
Průměr	14,07	31,86	45,92
Variační koeficient, %	0,34	0,17	0,095

^a Žihání navážky vodního skla při 1000°C do konstantní hmotnosti

13,5–14,5 % Na_2O a 30,1–35,1 % SiO_2 (cit.³), což je rovněž v souladu s výsledky zjištěnými konduktometrickou titrací.

Závěr

Prezentovaná metoda analýzy chemického složení vodního skla, založená na konduktometrické titraci, poskytuje uspokojivě přesné a správné výsledky. Je proto vhodná pro praktické stanovení přesného složení vodního skla, jehož znalost je důležitá např. při aplikaci vodního skla pro geopolymeraci. V případě aplikace prezentované analytické metody je třeba uživatele upozornit na možnou značnou nehomogenitu vyráběných vodních skel, která značně komplikuje odběr reprezentativního vzorku.

Finanční podpora výzkumu geopolymerace je poskytována MŠMT ČR, projekt č. MSM 7088352101.

LITERATURA

- Davidovits J.: *J. Thermal Anal.* 37, 1633 (1991).
- Antoš P., Burian A.: *Vodní sklo – výroba, struktura, vlastnosti a použití*. SILCHEM s.r.o. Ústí nad Labem-Neštětice 2002.
- Koma s.r.o.: *Technický list: Vodní sklo sodné*. Koma, Ústí nad Labem 2007, <http://www.koma.cz/files/4TL.pdf>, staženo 2.4.2007.

V. Bednařík and M. Vondruška (*Tomas Bata University in Zlin, Faculty of Technology, Department of Environment Protection Engineering, Zlin*): **Conductometric Analysis of Water Glass**

An analytical method for determination of water glass composition by conductometric titration with HCl was developed and verified. The content of alkalis was determined by direct titration with a HCl solution; the SiO_2 content by titration after addition of a carbonate-free sodium hydroxide solution.

VYUŽITÍ CINVALDITOVÝCH ODPADŮ PRO ZÍSKÁVÁNÍ SLOUČENIN LITHIA A RUBIDIA

JITKA JANDOVÁ, HONG N. VU, TEREZA BĚLKOVÁ a PETR DVOŘÁK

Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Fakulta chemicko-technologická, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
 Jitka.Jandova@vscht.cz, Vun@vscht.cz,
 Petr.Dvorak@vscht.cz

Došlo 3.10.07, přijato 27.11.07.

Klíčová slova: cinvalditové odpady, chemické a fázové složení, získávání Li a Rb

Úvod

Světová produkce lithia v roce 2006 byla přibližně 21,1 kt a lze předpokládat její postupný růst. Mezi nejvýznamnější oblasti spotřeby lithia patří výroba lehkých slitin pro automobilový, letecký a kosmický průmysl. Rychlý růst spotřeby lithia se očekává pro výrobu primárních a sekundárních Li-baterií. Ze sloučenin lithia má největší uplatnění Li_2CO_3 , který je výchozí surovinou pro výrobu dalších lithných sloučenin a kovového lithia. Světová spotřeba rubidia se odhaduje na 2–3 t/a. Rubidium se používá např. při separaci DNA, v optických vláknech, v zařízeních pro noční vidění a v atomových hodinách. V roce 2006 byla cena kovového lithia na světových trzích kolem 100 USD/kg. Ceny rubidia závisí na čistotě a na množství. Pohybují se v rozmezí 40–56 USD g^{-1} (cit.¹).

V současné době se prakticky veškeré lithium vyrábí z primárních surovin – silikátových rud obsahujících minerály lithia, které mají přibližně 1,6–3,6 % Li, nebo ze solných roztoků, tzv. solanek obsahujících 0,06–0,15 % Li, 1,0–2,0 % Mg, 0,6–1,8 % K a 7,6–10,4 % ve formě halových sloučenin, zejména chloridů.

Nejvýznamnějšími minerály s obsahem lithia jsou spodumen $\text{LiAlSi}_2\text{O}_6$ (6–7,5 % Li_2O), petalit $\text{LiAlSi}_4\text{O}_{10}$ (3,5–4,5 % Li_2O), minerál lepidolit – lithná slída – $\text{K}[\text{Li,Al}]_3[\text{Al, Si}]_4\text{O}_{10}[\text{F,OH}]_2$ (3,3–7,74 % Li_2O) a cinvaldit $\text{K}[\text{Li,Al}]_3[\text{Al, Si}]_4\text{O}_{10}[\text{F,OH}]_2$ (2–5 % Li_2O). Cinvaldit patří do skupiny lithných slíd a je ve své podstatě obdobou lepidolitu, liší se od něj pouze vyššími obsahy FeO. Dalším významným minerálem je amblygonit $[\text{Li, Na}]\text{Al}[\text{F,OH}]\text{PO}_4$, který obsahuje až 9,88 % Li_2O .

Rubidium se v minerálech vyskytuje společně

s jinými alkalickými kovy zejména v asociaci s draslíkem, se kterým má velmi podobný iontový poloměr. Hlavním výskytem rubidia jsou lepidolity a cinvaldity, které v průměru obsahují 3 % Rb_2O (cit.²).

V literatuře a v průmyslové praxi existuje řada postupů, kterými se z lithiových minerálů získávají sloučeniny lithia. Jejich podstatou je převedení lithia z minerálu na snadno rozpustnou formu působením vhodných činidel za vysokých teplot. Většina publikovaných prací se zabývá zpracováním koncentrátů obsahujících spodumen, petalit, nebo lepidolit. Podle údajů z literatury je nejvýhodnější metodou zpracování cinvalditu tzv. sádrová metoda. Tato metoda je založena na spékání cinvalditu se směsí CaSO_4 a CaO anebo $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Produktem je Li_2CO_3 a eventuálně Rb_2CO_3 , které se získávají vysrážením Li a následně i Rb pomocí K_2CO_3 nebo Na_2CO_3 z rafinovaných síranových výluhů – produktů loužení spečenců v H_2O (cit.^{2–4}).

Nejdůležitějšími surovinami pro získávání Li nebo Rb v České republice jsou odpady s obsahem cinvalditu po gravitační úpravě rud Sn-W těžených v Krušných horách v lokalitách Cínovec a Krásno. Tyto odpady, ve kterých je lithium vázáno ve formě cinvalditu, a které obsahují 0,19 až 0,30 % Li, a kolem 0,18 % Rb a 0,01 % Cs, se deponovaly. Jejich současné množství se odhaduje na 1,25 mil tun a jsou nejnázne dostupnou surovinou v České republice pro případnou výrobu lithia a rubidia nebo jejich sloučenin.

V 50. až 80. letech minulého století se využitím cinvalditových odpadů z lokality Cínovec pro výrobu lithných a částečně rubidných sloučenin a kovového lithia zabývala řada československých výzkumných pracovišť a závodů⁵. Cílem předložené práce, která navazuje na výsledky dřívějších výzkumných prací, je stanovení chemických a fyzikálních vlastností cinvalditových koncentrátů připravených z natěžených cinvalditových odpadů. Dále studium strukturních změn, které probíhají při zpracování cinvalditu sádrovou metodou a stanovení jejich vlivu na účinnost extrakce Li a Rb při loužení spečenců v H_2O .

Experimentální část

Příprava cinvalditového koncentráту, analýza vzorků

Pro přípravu cinvalditového koncentráту bylo z úložišť odpadů po gravitační úpravě rud Sn-W na Cínovci na 10 místech natěženo přibližně 200 kg materiálu. Po smíchání a zhomogenizování natěžených odpadů byl vzniklý průměrný vzorek vysušen na obsah vlhkosti pod 1 %, umlet na velikost částic < 1 mm a podroben suché dvoustupeňové magnetické separaci.

Pro určení chemických a fyzikálních vlastností pevných vzorků a kapalných fází byly použity následující metody:

Chemické složení

– rentgenová fluorescenční analýza (pevné vzorky),

- metoda AAS pro stanovení obsahů Li, Rb, K, Na a Fe v pevných vzorcích po jejich úplném rozkladu a pro analýzu výluhů fázi.

Fázové složení

- rentgenová difrakční analýza,
- termogravimetrická analýza.

Distribuce velikostí částí

- vibrační síťová analýza.

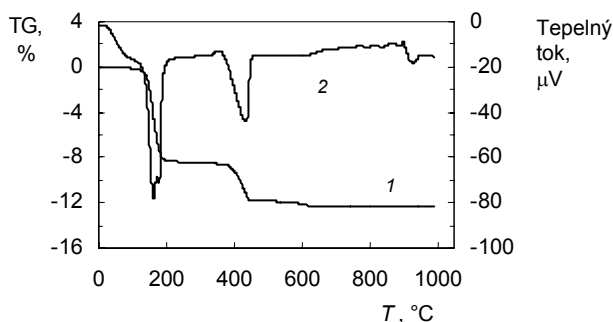
Doplňkové metody

- rastrovací elektronový mikroskop s EDS analyzátozem pro stanovení rentgenové mapy distribuce Fe a K a odhad velikosti částic jednotlivých fází.

Zpracování koncentrátů sádrovou metodou

Před spékáním byl cinvalditový koncentrát umlet na zrnitost < 0,5 mm. Spékání směsi cinvalditového koncentrátu s $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (čistoty p.a.) a Ca(OH)_2 (čistoty p.a.) v hmotnostním poměru 6:4,2:2 probíhalo v muflové peci s lineárním náběhem teploty v miskách z korundové keramiky. Teploty spékání se pohybovaly v rozmezí 900–975 °C, reakční doba 15, 30, 60 a 90 min. Vzorky byly vkládány do studené pece, náběh teploty byl 60 min. Po skončení spékání byly spečence ponechány v peci až do jejího vychladnutí na laboratorní teplotu. Spečence byly zváženy, vybrané vzorky podrobeny rentgenové difrakční analýze a chemické analýze na stanovení obsahu Li a Rb.

Složení spékané směsi a teploty spékání byly voleny



Obr. 1. Termogravimetrická křivka směsi koncentrátů: $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} : \text{Ca(OH)}_2$ v hmotnostním poměru 6:4, 2:2; 1 – TG, 2 – tepelný tok

Tabulka I

Obsahy vybraných prvků v natěženém cinvalditovém odpadu a koncentrátu z magnetické separace

Vzorek	Obsah prvků [hm. %]									
	Li	Rb	Cs	Fe	Na	K	Si	Al	Ca	Mn
Odpad	0,23	0,19	0,003	1,11	0,29	4,38	37,50	5,76	0,62	0,36
Koncentrát	1,21	0,85	0,016	6,09	0,23	10,97	29,73	13,68	0,50	1,41

v souladu s výsledky předchozích experimentů uvedených v pracích^{5,7} a na základě termogravimetrické analýzy spékané směsi. Z naměřené termogravimetrické křivky (obr. 1) vyplývá, že k chemickým reakcím mezi cinvalditovým koncentrátem a vápenatými solemi dochází až při teplotách nad 900 °C.

Stupeň transformace cinvalditu na rozpustnou sloučeninu byl vyhodnocen z výsledků loužicích zkoušek. Loužicí zkoušky probíhaly ve skleněných termostatovaných celách opatřených zábrusovým víkem. Ve víku byly zábrusové otvory pro míchadlo, teploměr, vodní chladič a odběr vzorků během loužení. Loužení jemně rozetřených spečenců probíhala v destilované H_2O při standardním míchání suspenze. Poměr kapalné a pevné fáze (k:p) byl 10:1, teplota 90 °C, reakční doba 30 min.

Výsledky a diskuse

Charakteristika cinvalditového odpadu a připravených koncentrátů

Průměrný obsah prvků v cinvalditovém odpadu, který byl podroben magnetické separaci a vzniklého cinvalditového koncentrátu, je uveden v tabulce I.

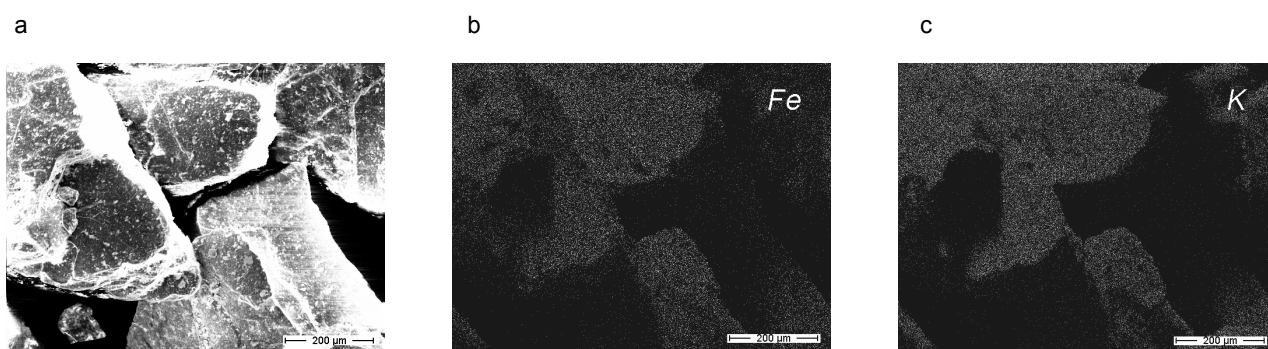
Podle rentgenové difrakční analýzy hlavní složkou cinvalditového odpadu byl křemen SiO_2 , minoritní fází cinvaldit $\text{KAl(FeLi)(Si}_3\text{Al)O}_{10}\text{F}_2$ a stopy polyolithionitu $\text{K(AlFeLi)(Si}_3\text{Al)O}_{10}\text{(OH)F}$. Cinvalditový koncentrát obsahoval zhruba 63 % cinvalditu, 28 % křemene a 9 % polyolithionitu. Zastoupení velikostních frakcí v cinvalditovém koncentrátu a obsahy Li a Rb v jednotlivých frakcích jsou uvedeny v tabulce II. Na obr. 2 a–c je mapa zrn cinvalditového koncentrátu a distribuce Fe a K v jednotlivých částicích. Použitou metodou nebylo možno určit distribuci Rb vzhledem k překrývání píků Rb a Si v EDS spektru. Z distribuce Fe, které je vázáno v cinvalditu, se potvrdilo, že cinvaldit je tvořen velkými zrny a je v něm zkoncentrován draslík.

Rentgenovou difrakční analýzou se v cinvalditovém koncentrátu nepodařilo prokázat přítomnost Rb v žádné přítomné fázi pravděpodobně v důsledku přítomnosti relativně vysokých obsahů draslíku. Z obsahu Li a Rb v jednotlivých velikostních frakcích vyplývá, že Rb bude společně s Li vázáno v cinvalditu nebo polyolithionitu.

Je zřejmé, že suchá magnetická separace je účinnou metodou pro oddělení cinvalditu od jalových složek, zejména SiO_2 . Obsah 1,21 % Li v magnetické frakci – tzv. cinvalditovém koncentrátu – je postačující pro jeho ekono-

Tabulka II
Obsahy Li, Rb a Fe ve velikostních frakcích cinvalditového koncentráту

Velikost ok [μm]	Četnost [%]	Obsah prvků [hm. %]		
		Li	Rb	Fe
+710	7,6	1,43	1,17	6,50
-710+500	9,0	1,34	1,14	6,43
-500+250	28,9	1,39	1,11	6,61
-250+100	36,9	1,29	1,12	6,38
-100+64	6,2	0,81	0,73	4,06
-64+45	4,4	0,36	0,37	2,40
-45	7,0	0,16	0,21	1,03

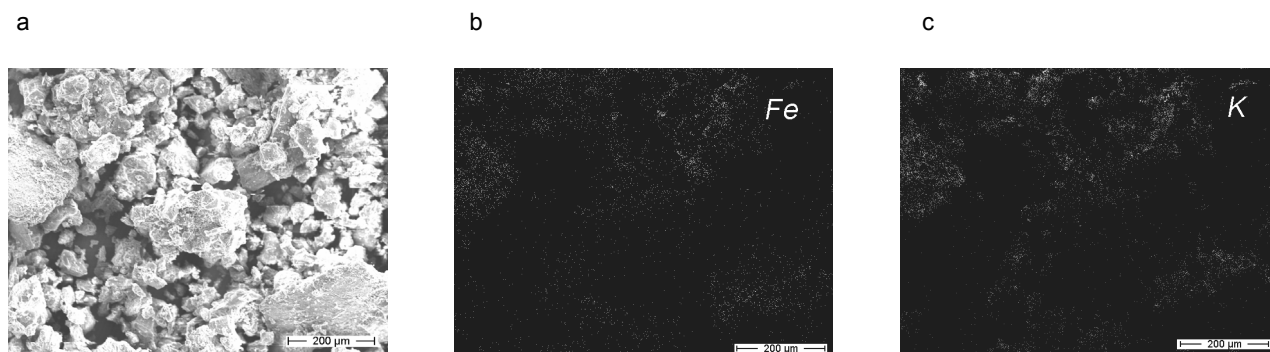


Obr. 2. a) SEM analyzovaného cinvalditového koncentráту, b) rentgenová mapa distribuce Fe, c) rentgenová mapa distribuce K

mické přepracování na sloučeniny Li (cit.⁴). Další zvýšení obsahu Li a Rb je možno docílit odstraněním velikostních frakcí s nižším obsahem Li, tj. frakcí o velikosti částic $>100 \mu\text{m}$, které by se vracely zpět na magnetickou separaci. Obsah Li v cinvalditovém koncentráту je však limitován obsahem Li v čistém cinvalditu. Cinvaldit, který se vyskytuje v oblasti Cínovce, obsahuje maximálně 1,7 % Li (cit.³)

Chemické a fyzikální vlastnosti spečenců

Spečence obsahovaly v průměru 0,7 % Li a 0,5 % Rb. Rentgenovou difrakční analýzou se podařilo ve spečencích připravených při 950 °C po dobu 60 a 90 min identifikovat nově vzniklou fázi obsahující lithium v rozpustné formě, a to KLiSO_4 . Opět nebylo v žádné fázi identifikováno Rb. Výsledky analýz jsou uvedeny v tab. III. Na obr. 3a–c je mapa zrn spečence připraveného při 950 °C



Obr. 3. a) SEM analyzovaného spečence (950 °C, 60 min), b) rentgenová mapa distribuce Fe, c) rentgenová mapa distribuce K

Tabulka III

Fázové složení spečenů připravených při 950 °C v závislosti na době spékání

Doba [min]	Identifikované fáze	Identifikované fáze	Semikvantitativní obsah [%]
15	Anhydrit	CaSO ₄	> 60
	Anorthit	Ca(Al ₂ Si ₂ O ₈)	~ 20
	Cuspidin	Ca ₄ Si ₂ O ₇ F ₂	~ 10
		Ca ₁₂ Al _{10,6} Si _{3,4} O ₃₂ Cl _{5,4}	< 10
	Quartz, syn	SiO ₂	< 5
	Fluorit	Ca F ₂	< 3
30	Anhydrit	CaSO ₄	> 60
	Anorthit	Ca(Al ₂ Si ₂ O ₈)	~ 20
	Cuspidin	Ca ₄ Si ₂ O ₇ F ₂	~ 10
		Ca ₁₂ Al _{10,6} Si _{3,4} O ₃₂ Cl _{5,4}	< 10
	Quartz, syn	SiO ₂	< 3
	Fluorit	Ca F ₂	< 3
60	Anhydrit	CaSO ₄	< 60
	Anorthit	Ca(Al ₂ Si ₂ O ₈)	~ 20
	Cuspidin	Ca ₄ Si ₂ O ₇ F ₂	< 10
		Ca ₁₂ Al _{10,6} Si _{3,4} O ₃₂ Cl _{5,4}	< 10
	Quartz, syn	SiO ₂	< 3
		KLiSO ₄	< 10
90	Anhydrit	CaSO ₄	< 60
	Anorthit	Ca(Al ₂ Si ₂ O ₈)	~ 20
	Cuspidin	Ca ₄ Si ₂ O ₇ F ₂	< 10
		Ca ₁₂ Al _{10,6} Si _{3,4} O ₃₂ Cl _{5,4}	< 10
	Quartz, syn	SiO ₂	< 3
		KLiSO ₄	< 10

po dobu 60 min a distribuce Fe a K v jednotlivých částicích.

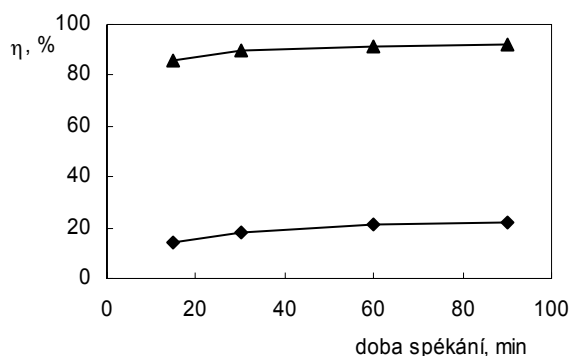
Z výsledků fázové analýzy je zřejmé, že při spékání cinvalditového koncentráту při teplotě 950 °C dochází k reakci mezi vápenatými solemi, cinvalditem a SiO₂ za

vzniku nových fází – anorthitu, cuspidinu, sloučeniny Ca₁₂Al_{10,6}Si_{3,4}O₃₂Cl_{5,4} a fluoritu. Se vzrůstající dobou spékání se ve spečeních snižuje množství SiO₂, zcela mizí fluorit a ve spečeních spěkaných 60 nebo 90 min se objevuje nová fáze – KLiSO₄. Ve všech spečeních zůstává relativně vysoké množství nezreagovaného anhydritu. Rentgenové mapy distribuce Fe a K jsou shodné a nelze z nich vyčíst vytvoření nové fáze KLiSO₄.

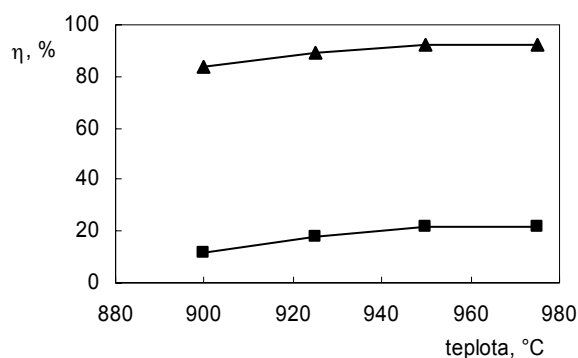
Vliv podmínek zpracování cinvalditových koncentrátů na extrakci Li a Rb

Vliv teploty spékání a doby spékání na transformaci cinvalditu jsou ilustrovány na obr. 4 a 5 jako závislosti účinnosti extrakce Li a Rb na těchto parametrech. Časová závislost extrakce Li a Rb ze spečenice připraveného při 950 °C po dobu 60 min je znázorněna na obr. 6.

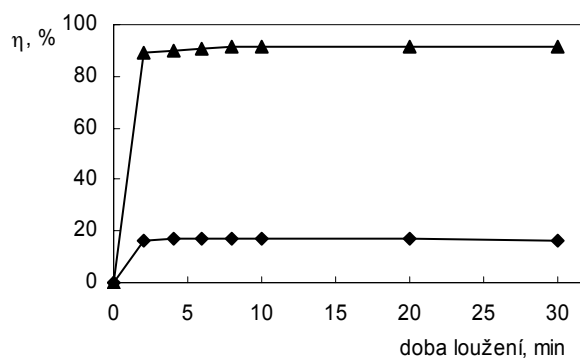
Z naměřených závislostí vyplynulo, že sádrovou metodou lze dosáhnout až 90% extrakce Li z cinvalditového koncentráту obsahujícího 1,21 % Li, o velikosti částic <0,5 mm do vodného výluhu. Těto účinnosti se dosáhne, pokud spékání probíhá při minimální teplotě 950 °C po dobu 60 min. Zvyšováním spěkáci teploty a doby spékání nedochází ke zvýšení extrakce Li. Při nižších teplotách spékání nebo kratší době nedochází k účinné transformaci cinvalditu na KLiSO₄, což se projevuje nižšími výtěžnost-



Obr. 4. Závislost účinnosti extrakce Li a Rb ze spečenů připravených při 950 °C na době spékání; podmínky loužení: 90 °C, k:p=10:1, 30 min, ▲ Li, ◆ Rb



Obr. 5. Závislost účinnosti extrakce Li a Rb ze spečenců na spékační teplotě, doba spékání 60 min; podmínky loužení: 90 °C, k:p=10:1, 30 min, ▲ Li, ◆ Rb



Obr. 6. Časová závislost extrakce Li a Rb ze spečenců spékaných při 950 °C, 60 min; podmínky loužení: 90 °C, k:p=10:1, ▲ Li, ◆ Rb

mi Li do vodného roztoku. Je pravděpodobné, že pro dosažení vyšší účinnosti extrakce bude účelné zmenšit zrna spékaného koncentrátu. Další možností je zvýšení obsahu Li v připraveném cinvalditovém koncentrátu z magnetické separace oddělením velikostních frakcí s nižším obsahem Li. Sádrouvou metodou se však do rozpustné formy na rozdíl od Li převede pouze 18 % Rb. Extrakce Li a Rb ze spečenců při 90 °C probíhá velmi rychle a je ukončena po 10 min loužení.

Podle chemické analýzy v souladu s dosaženými účinnostmi extrakce Li a Rb ze spečenců obsahovaly loužence přibližně 0,05 % Li a 0,40 % Rb. Byly tvořeny z cca 50 % anhydritem (CaSO_4), cuspidinem ($\text{Ca}_4\text{Si}_2\text{O}_7\text{F}_2$) a v malém množství obsahovaly andranit aluminian $\text{Ca}_3\text{Al}_{0,84}\text{Fe}_{1,16}\text{Si}_3\text{O}_{12}$. Na obr. 7a–c je mapa zrn loužence z loužení spečence připraveného při 950 °C po dobu 60 min a distribuce Fe a K v jednotlivých částicích.

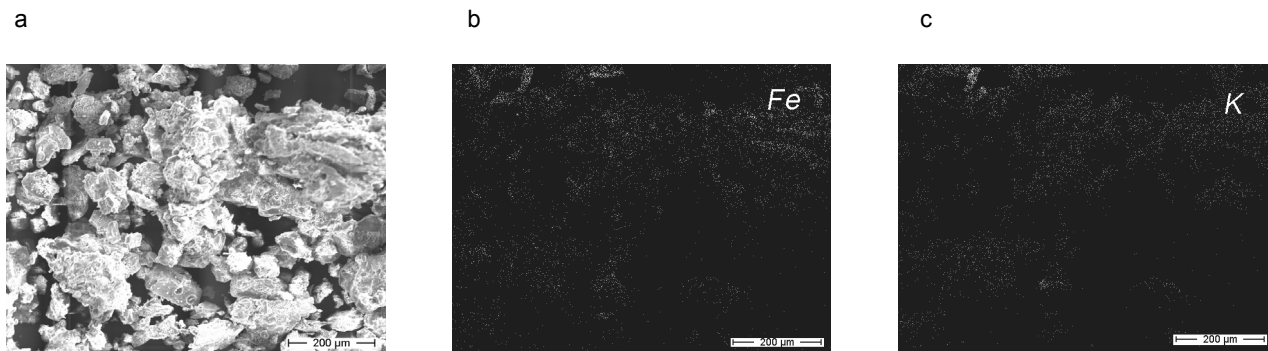
Důvody nízké výtěžnosti Rb při zpracování cinvalditového koncentrátu sádrouvou metodou, resp. nízké účinnosti převedení Rb z původní sloučeniny do rozpustné formy se zatím nepodařilo vysvětlit. Při RTG analýze se vzhledem k vysoké koncentraci K v cinvalditu nepodařilo prokázat výskyt Rb v cinvalditu nebo v jiné fázi. V rentgenových mapách distribuce Rb z rastrovacího

elektronového mikroskopu s EDS analyzátozem není možné stanovit jeho přítomnost ve fázích společně s Fe nebo K, které identifikují výskyt sloučenin Li v koncentrátu a ve spečencích. Důvodem je vysoký obsah Si ve všech analyzovaných vzorcích. Z výsledků loužících zkoušek lze předpokládat, že působením sádrouvé metody část Rb vázaného v cinvalditu přechází do rozpustného KLiSO_4 . Podle PDF databáze sloučeniny typu „lithium potassium rubidium sulfate“ existují⁸. Zbytek Rb pravděpodobně během rozkladu cinvalditu se váže buď spolu s fluoridovými ionty v nerozpustném cuspidinu ($\text{Ca}_4\text{Si}_2\text{O}_7\text{F}_2$) anebo spolu s Fe přechází do nově identifikované fáze – andranit aluminianu ($\text{Ca}_3\text{Al}_{0,84}\text{Fe}_{1,16}\text{Si}_3\text{O}_{12}$).

Závěr

Z výsledků této studie vyplynulo:

- dvoustupňovou suchou magnetickou separací byly připraveny z cinvalditových odpadů po těžbě rud Sn–W na Cínovci koncentráty obsahující 1,21 % Li a 0,85 % Rb; pro jejich zpracování byla použita sádrouvá metoda, která se jeví jako perspektivní pro získávání sloučenin Li,



Obr. 7. a) SEM analyzovaného loužence, b) rentgenová mapa distribuce Fe, c) rentgenová mapa distribuce K

- bylo zjištěno, že během spékání cinvalditového koncentráту s CaSO_4 a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dochází k rozkladu cinvalditu za vzniku KLiSO_4 , do kterého pravděpodobně přechází část rubidia vázaného v cinvalditu,
- z naměřených závislostí extrakce Li a Rb ze spečenů připravených při 900–975 °C po dobu 15–90 min byly stanoveny optimální podmínky zpracování cinvalditových koncentrátů – spékání při 950 °C po dobu 60 min, loužení spečenů při 90 °C, k:p = 10:1, po dobu 10 min – za kterých se extrahovalo 90 % Li do vodného výluhu, zatímco extrakce Rb za stejných podmínek byla 18 %,
 - pro zvýšení účinnosti extrakce Li sádrovou metodou bude v pokračování práce zpracováván cinvalditový koncentrát o velikosti zrn <0,1 mm a připraven koncentrát s vyšším obsahem Li,
 - nepodařilo se objasnit příčiny nízké výtěžnosti Rb, je však zřejmé, že tato metoda je nevhodná pro získávání Rb; proto bude pro zpracování cinvalditových koncentrátů testována vápencová metoda. Tato metoda – principem je spékání cinvalditu s CaCO_3 – poskytuje ve srovnání se sádrovou metodou sice nižší výtěžnosti Li, ale je výhodnější pro separaci Rb (cit.⁵).

Práce vznikla za podpory grantového projektu GA ČR č. 104/07/0499 a výzkumných záměrů MSM 106 050 261.

LITERATURA

1. <http://www.stockhouse.ca/bullboards/viewmessage.asp?no=14471875&tableid=1>, staženo 4. září 2007.
2. Bauer R. J., v knize: *Ullmann's Encyclopedia of In-*

- dustrial Chemistry*, (Elvenrs B., Hawkins A., Schulz G., ed.), sv. A15, str. 393, páté vydání. VCH Publishers, New York 1990.
3. Moršttadt J.: *Rešeršní studie*, Zpracování silikátových lithiových koncentrátů. VÚAnCh, Ústí nad Labem 1987
4. Alex P., Suri A. K.: *Light Met.* (Warrendale, PA, U. S.), 1996, 1165.
5. Ternbachová Z., Šlemeda V.: *Interní zpráva*, Zpracování silikátových lithiových koncentrátů. VÚAnCh, Ústí nad Labem 1990.
6. Johan Z., Johan V.: *C. R. Acad. Sci., Ser. IIa: Sci. Terre Planetes* 332, 307 (2001).
7. Jandová J., Hong, N. V., Kondás J., Dvořák P.: *Proceedings of EMC 2007, Düsseldorf, 11.–14. June 2007.* (Waschki U., ed.), sv. 2, str. 667.
8. *ICDD (2005) Powder Diffraction File* (McClune F., ed.). International Centre for Diffraction Data, Pennsylvania 2005.

J. Jandová, H. Vu, T. Bělková, and P. Dvořák
(*Department of Metals and Corrosion Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Utilization of Zinnwaldite Wastes for Recovery of Lithium and Rubidium Compounds**

Chemical and mineralogical characteristics of zinnwaldite wastes deposited in the Činovec area and of zinnwaldite concentrates prepared by dry magnetic dressing of the wastes were determined. A study of structure changes in sintering of zinnwaldite concentrates with a mixture consisting of CaSO_4 and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (gypsum method) was carried out. The influence of sintering conditions on Li and Rb extraction from sintering products in water was described.

VŠCHT Praha přijme pracovníka/pracovnici na pozici technika pro laboratoř rentgenové difraktometrie.

Hlavní náplň práce:

- zajišťování servisu měření na rentgenových difraktometrech – příprava vzorků a měření difrakčních dat,
- vyhodnocování naměřených difrakčních dat – kvalitativní fázová analýza,
- zapojení do grantových projektů laboratoře.

Požadavky:

Středoškolské vzdělání s chemickým zaměřením. Částečná znalost anglického jazyka, znalost práce s počítačem, Internet, Microsoft Office.

Nabízíme:

- zajímavou práci v moderně vybavené laboratoři,
- příležitost k profesnímu rozvoji (možnost studia na VŠCHT),
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: od 1. října 2008

Kontakt: RNDr. Jaroslav Maixner, CSc., tel. 220 444 201, 604 842 790, jaroslav.maixner@vscht.cz

VÝBER SPEKTROCHEMICKÉHO PRÍDAVKU PRI ŠTÚDIU VYPAROVACIEHO PROCESU V RÁMCI OPTIMALIZÁCIE NOVEJ TANDEMOVEJ SPEKTROCHEMICKÉJ TECHNIKY*

SILVIA RUŽIČKOVÁ a MIKULÁŠ MATHERNY

Katedra chémie, Hutnícka fakulta, Technická univerzita
v Košiciach, Letná 9, 042 00 Košice, Slovenská republika
silvia.ruzickova@tuke.sk

Došlo 24.8.07, prijaté 30.11.07.

Kľúčové slová: spektrometria, optimalizácia, vyparovanie,
spektrochemický prídavok

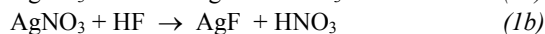
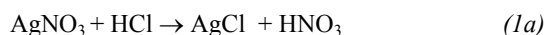
Úvod

Implementácia každej novej metódy do analytickej praxe si vyžaduje kompletnú optimalizáciu jednak základných experimentálnych parametrov ako aj dôkladné štúdium kalibračných možností danej metódy a teda nájdenie vhodného certifikovaného referenčného materiálu (CRM), ktorý by sa svojimi vlastnosťami v najväčšej miere približoval a vystihoval zloženie matrixu. V analytickej praxi sa využíva niekoľko modelov kalibrácií ako: technika prídavku štandardu, modelové kalibračné vzorky, tzv. „podnikové štandardy“, monoštandardová alebo mnoho-

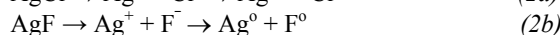
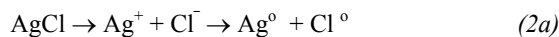
štandardová metóda. Účinným spôsobom optimalizácie analytickej kalibrácie je použitie spektrochemicky aktívnych prísad, ktoré výrazne ovplyvňujú efektívny ionizačný potenciál plazmy¹ a tým aj intenzitu budených spektrálnych čiar analyzovaných prvkov. Takéto prísady sa vyznačujú i tzv. „nosičovým“ efektom, čo znamená, že urýchľujú vyparovanie týchto prvkov.

Cieľom tohto príspevku je overenie účinnosti spektrochemicky aktívneho prídavku AgCl a AgF na modifikačné chloračné a fluoračné reakcie oxidických matrixov ako aj na zvýšenie vodivosti vyparovacej DC plazmy. Na overenie sa použila štatistická metóda exploratívnej analýzy založenej na jednorozmernom opakovaní stanovenia intenzity vyparovania analytických prvkov.

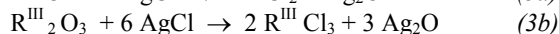
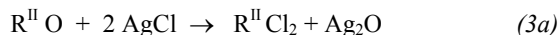
Prídavok AgCl alebo AgF sa môže buď primiešať ako prášok k analyzovanej vzorke, alebo vytvárať vhodnými reakciami (1a, 1b) priamo v nosnej elektróde ešte pred prídanim analyzovanej vzorky. V danom prípade sa jedná o reakciu dusičnanu strieborného s HCl, resp. HF:



Pri budení v DC plazme sa z vytvoreného AgCl (AgF) vytvoria najskôr termoióny Ag^+ a Cl^- (F^-) a až potom rekombinované Ag^0 a Cl^0 (F^0) atómy (2a, 2b):



Rekombinované atómy Cl^0 (F^0), ktoré sa nachádzajú v plazme „v stave zrodu“, reagujú potom s oxidickými zlúčeninami budeneho matrixu (3a, 3b, 3c):



$\text{R}^{\text{II}} = \text{Ca}, \text{Mn}, \text{Ni}$, $\text{R}^{\text{III}} = \text{Al}, \text{B}, \text{Cr}, \text{Fe}, \text{La}, \text{Y}$, $\text{R}^{\text{V}} = \text{V}$

Tabuľka I

Teploty varu oxidov, chloridov a fluoridov

Prvok	RO, R ₂ O ₃	T _b [°C]	RCl ₂ , RCl ₃	T _b [°C]	RF ₂ , RF ₃	T _b [°C]
Al	Al ₂ O ₃	3530	AlCl ₃	192	AlF ₃	1254
B	B ₂ O ₃	2247	BCl ₃	124	BF ₃	-99,9
Ca	CaO	3570	CaCl ₂	2000	CaF ₂	2500
Cr	Cr ₂ O ₃	2440	CrCl ₃	1150	CrF ₃	1200
Fe	Fe ₂ O ₃	1594	FeCl ₃	319	FeF ₃	1030
Mg	MgO	2822	MgCl ₂	1418	MgF ₂	2250
Ni	NiO	1960	NiCl ₂	1030	NiF ₂	1677
V	V ₂ O ₅	1800	VCl ₄	-28	VF ₃	1406
La	La ₂ O ₃	4200	LaCl ₂	1750	LaF ₃	2327
Y	Y ₂ O ₃	2146	YCl ₃	686	YF ₃	1152

* Prednesené na 13. spektroskopickú konferenciu v Lednici, 18.-21. júna 2007.

Celkom identicky reaguje aj AgF a vytvára iónové zlúčeniny, príslušné fluoridy. Rekombinované atómy Ag⁰ zvyšujú vodivosť plazmy.

Hodnoty teploty varu oxidov, chloridov a fluoridov sú v súlade s literárnymi údajmi²⁻⁴ uvedené v tabuľke I. To znamená, že reakcie prebiehajú ešte v nosnej elektróde, ktorej maximálna teplota tečna je cca 3500 °C (cit.⁵), a preto do plazmy vstupujú prevažne už rekombinované atómy.

Zlúčeniny typu RCl₂, RF₂, RCl₃, RF₃, RCl₅ a RF₅ sú iónové zlúčeniny a sú podstatne prchavejšie ako oxidy. Ich body varu, až na LaF₂, sú pre všetky uvažované chloridy, ale i fluoridy, vždy nižšie ako 2000 °C. Naproti tomu body varu oxidov Al, B, Ca, Cr, Fe, Mg, Ni a V vykazujú výraznú prvkovú špecificitu, ale sú vždy vyššie ako 2500 °C. Oxidy, okrem Fe₂O₃, MgO a V₂O₅, sa vyznačujú bodmi varu vyššími ako 2000 °C. Body varu ich chloridov a fluoridov, okrem CaCl₂, CaF₂ a LaF₃, sú výrazne nižšie ako 2000 °C, preto spektrochemicky aktívne prídavky AgCl a AgF zvyšujú vyparovanie prvkov.

Experimentálna časť

Stanovený cieľ sa sledoval novou tandemovou spektrochemickou metódou, ktorá je založená na oddelení vyparovacieho procesu od budiaceho procesu⁶. Vyparovanie sa uskutočňuje pomocou jednosmerného riadeného oblúkového výboja⁷ (DC) v špeciálnej kremennej cele v argó-

novej ochrannej atmosfére. Budenie prebieha v Marinkovičovom plazmovom zdroji⁸. Experimentálne parametre sú uvedené v tab. II. Použité spektrálne čiary a ich vlnové dĺžky, hodnoty budiacej energie a relatívne intenzity uvádza tab. III. Experimentálne usporiadanie (obr. 1) je v prvom rade prispôbené na injektovanie aerosólu z vyparovacej cely (obr. 2) do Marinkovičovho plazmového zdroja (obr. 3), ale umožňuje i priame injektovanie analyzovaného roztoku, čím sa zvyšuje jeho univerzálne použitie pre analytické účely.

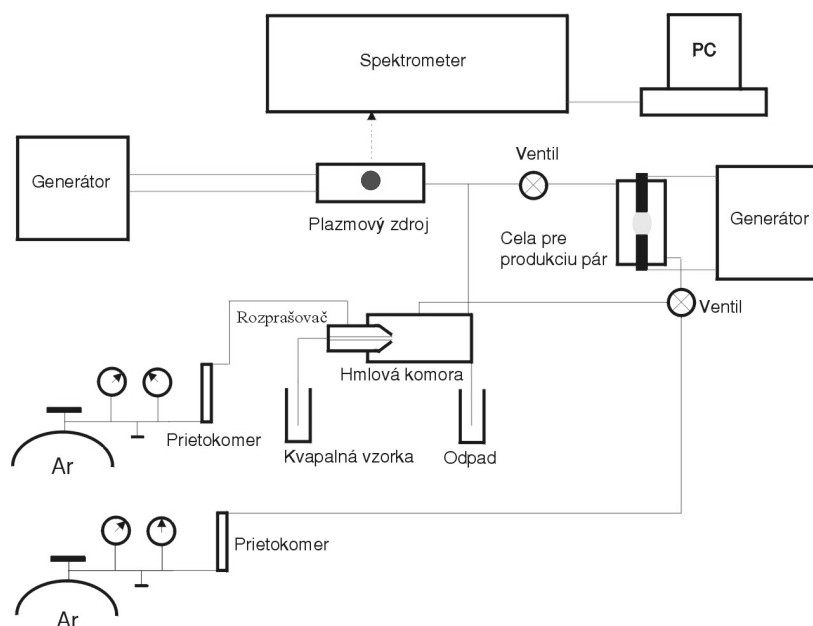
Výsledky a diskusia

Pre matrix tvorený zmesou hore uvedených oxidov vedľajších (Ca, Fe, Mg) a stopových prvkov (Al, B, Cr, Ni a V) + oxidov La a Y + spektrochemicky aktívneho prídavku AgCl alebo AgF sa opakovane za reprodukovateľných podmienok registrovali (N=10) budené spektrá na popísanom tandemovom zariadení. Získané intenzitné hodnoty $I(x)_i$ sa spracovali v programe QC Expert⁹ a v súlade s literárnymi údajmi¹⁰. V tab. IV sú uvedené typické príklady, kde AgCl (prvok B) a AgF (prvok Ca) predstavujú najúčinnnejšie pôsobenie spektrochemického prídavku.

Pre všetky prvky ako aj pre tri kombinácie, matrix bez spektrochemického prídavku, s prídavkom AgCl a s prídavkom AgF, sa v prvom rade testovali vo vertikálnom smere na zhodu aritmetického priemeru, mediánu,

Tabuľka II
Experimentálne podmienky

<i>Všeobecné podmienky</i>	
Spektrometer	LECO – 750
<i>Vyparovacie podmienky</i>	
Vyparovací zdroj	DCA 301
Prúd jednosmerného oblúka	15 A
Nosná elektróda	SW 380, Elektrokarbon Topoľčany
Protielektróda	SU 206, Elektrokarbon Topoľčany
Medzielektródová vzdialenosť	1 mm
Koncentrácia prídavku	9,3 mg cm ⁻³ AgNO ₃
Vzorka	0,06 % zmes oxidov vybraných prvkov
Množstvo vzorky	10 mg
Prietok primárneho Ar	2,8 dm ³ min ⁻¹
Prietok sekundárneho Ar	2 dm ³ min ⁻¹
<i>Excitačné podmienky</i>	
Excitačný zdroj	Marinkovičova plazma
Intenzita prúdu plazmy	11 A
<i>Zobrazovacie a vyhodnocovacie podmienky</i>	
Zobrazovacia zóna	$r = 3,5$ mm
Expozičný čas	42 s
Software	SPECTRUMAT



Obr. 1. Schéma experimentálnej zostavy

Tabuľka III

Parametre vybraných prvkov a spektrálnych čiar

Prvok	Oxidická forma	λ [nm]	E_e [kJ mol ⁻¹]	I_r
Al	Al ₂ O ₃	396,152	577,6	9000
B	H ₃ BO ₃	249,773	800,8	4800
Ca	CaO	393,367	589,9	42000
Cr	Cr ₂ O ₃	425,433	652,0	20000
Fe	Fe ₂ O ₃	238,207	759,5	1300
Mg	MgO	280,270	737,8	3700
Ni	NiO	349,296	736,8	5500
V	V ₂ O ₅	318,540	652,5	3800
La	La ₂ O ₃	408,642	292,5	5500
Y	Y ₂ O ₃	371,029	339,8	1300

Pozn.: λ – vlnová dĺžka, E_e – budiaca energia, I_r – relatívna intenzita

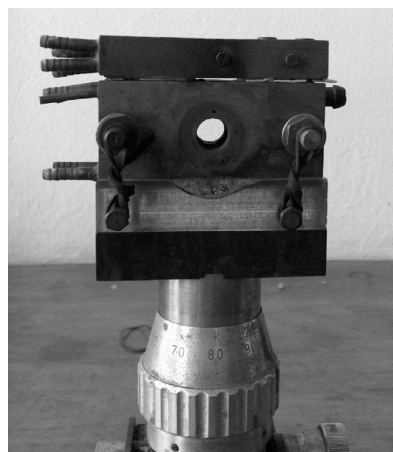
modusu a polosumy. Pri tomto testovaní sa zohľadnila absolútna štandardná odchýlka aritmetického priemeru $s(\bar{I})_x$, ako aj štandardná odchýlka mediánu $s(\tilde{I})_x$ (obr. 4). Zhoda týchto hodnôt potvrdzuje normálny a homogénny charakter rozptylu hodnôt $I(x)_i$. Šikmost' sa testovala na rozdielnosť od nuly a tento test bol pre všetky kolónky pozitívny. Treba však poznamenať, že zhoda testovaných hodnôt pre La a Y bola najmenej preukázaná. Zlepšenie hodnôt RSD bolo však pre prípad použitia spektrochemicky aktívnych prísad AgCl a AgF už celkom výrazné. Testovanie šikmosti, s výnimkou La a Y s prídavkom AgCl, potvrdilo zhodu experimentálnych hodnôt s nulou. Špica-

tosť sa testovala na nezhodu s optimálnou hodnotou, ktorá je v prípade použitého programu pevne určená ako hodnota 3. Test v prevažnej väčšine prípadoch potvrdil štatistickú zhodu s trojkou. Tieto testy potvrdzujú normálny a homogénny charakter rozptylu. V prípade La a Y je táto zhoda len čiastočná, pretože AgCl nie je vhodnou prísadou, lebo spontánne nezlepšuje hodnotiace parametre explorátornej analýzy.

Horizontálne porovnanie hodnôt explorátornej analýzy demonštruje pozitívny vplyv AgCl ako aj prídavku AgF na priemernú intenzitu $I(x)$, čiže na intenzitu vyparovania. Táto hodnota je pre matrix bez spektrochemicky aktív-



Obr. 2. Cela pre produkciu pár



Obr. 3. Marinkovičov plazmový zdroj

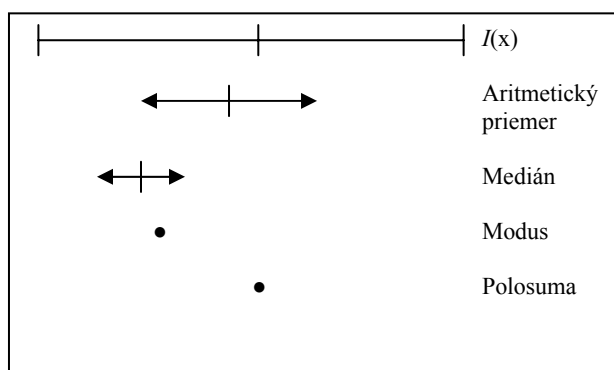
neho prídavku vo všetkých prípadoch najnižšia. Podobne i hodnoty RSD sú v spektrách bez prídavku najvyššie, čiže hodnoty opakovateľnosti (repeatability) sú najhoršie. Rozdiely medzi prídavkom AgCl a AgF sú prvkovo špecifické. V prípade Al, B, Cr, Ni a V, AgCl výraznejšie zvyšoval intenzitu analytických spektrálnych čiar oproti AgF. Naproti tomu za použitia AgF sa u Ca pozorovalo veľmi výrazné a u prvkov Cr, Fe a Mg stredne alebo až nepatrne výrazné zvýšenie intenzít. To znamená, že u týchto prvkov je zvýšenie intenzít rovnaké pre obidva prídavky. V prípade La a Y sa dostavil rozdielny efekt zvýšenia intenzít, AgF zvyšuje výraznejšie intenzitu vyparovania ako AgCl. AgCl dokonca v prípade La a Y nepotvrdilo ani šikmost', špicatosť, normalitu a homogenitu testovaných súborov.

Experimentálne zariadenie umožnilo nielen uvádzanie aerosólu práškovej vzorky do Marinkovičovej plazmy, ale i uvádzanie rozprášeného roztoku (obr. 1) do tej istej plazmy. Zloženie týchto roztokov bolo identické so zložením práškových matrixov. Typické výsledky predstavujú (tab. IV) parametre pre prvky B (najväčšia účinnosť) a Ni (najnižšia účinnosť). Tieto údaje sú porovnané s výsledkami budenia práškových vzoriek s prídavkom AgCl (tab. IV). Vertikálne porovnanie zhody aritmetických priemerov, mediánov, modusov a polosúm pre všetky stanovované prvky potvrdilo normálny a homogénny charakter vstupných údajov. Šikmost' a špicatosť bola taktiež optimálna. Okrem Cr sa u všetkých prvkov dosiahla vyššia účinnosť rastu intenzít spektrálnych čiar. Podobne sa za použitia roztokov dosiahli výrazne výhodnejšie hodnoty RSD. Naproti týmto výsledkom sa upustilo od testovania účinnosti La a Y, pretože efekt výrazného zvýšenia intenzitných hodnôt ako i zlepšenia RSD hodnôt sa nedostavil.

Záver

Vo všetkých kombináciách matrixov sa najmenej

vyparovali vedľajšie a stopové prvky z čistého oxidického matrixu. Prídavok AgCl ale aj AgF vždy zvýšil odparovanie, a tým i priemernú intenzitu čiar analytických prvkov. Je to vyvolané jednak zvýšením elektrickej vodivosti plazmy prítomnosťou iónov Ag ako i rekombinovaných atómov Ag. Okrem tohto vplyvu, zvýšenie intenzít bolo podmienené i termochemickými chloračnými a fluoračnými reakciami, ktorými sa vytvorili prchavé chloridy alebo fluoridy, ktoré však pôsobili výhradne prvkovo špecificky. Tento rozdielny vplyv sa prejavil i na rozdielnych hodnotách RSD. Tieto hodnoty boli vždy výhodnejšie použitím prídavku AgCl a AgF ako hodnoty získané pre oxidický matrix bez spektrochemických prídavkov. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že použitie spektrochemického prídavku výrazne pozitívne ovplyvňuje vyparovanie a teda aj intenzitu spektrálnych čiar, čo nás iniciovalo k používaniu prídavku AgCl aj v ďalšej experimentálnej práci, konkrétne pri analytickej kalibrácii v rámci optimalizácie tejto navrhovanej metódy.



Obr. 4. Schéma testovania zhody aritmetického priemeru, mediánu, modusu a polosumy

Tabuľka IV
Základné hodnotiace štatistické parametre

Prvok	B				Ni			
Vlnová dĺžka λ , nm	249,773				349,296			
Počet dát	10	10	9	8	10	10	9	8
Matrix	1	2	3	4	1	2	3	4
Arit. priemer, $\bar{I}(x)$	1,27	6,82	32,60	57,64	3,66	12,61	10,70	15,65
RSD [%], $s(\bar{I})_{x,r}$	23,60	16,10	23,65	8,41	29,78	26,10	21,96	13,04
Medián, $\tilde{I}(x)$	1,19	7,02	31,59	58,47	3,68	12,18	11,52	15,34
RSD [%], $s(\tilde{I})_{x,r}$	12,60	10,4	17,70	6,14	20,92	16,30	12,63	11,28
Modus, $\hat{I}(x)$	1,05	7,35	29,97	59,76	3,72	11,48	12,83	14,85
Polosuma, $\tilde{I}(x)_p$	1,34	6,69	32,34	57,71	3,90	13,04	10,18	15,20
Šikmost', $A(x)$	0,52	-0,29	0,06	-0,19	0,16	0,24	-0,25	-0,47
Test šikmosti, $t_{Ax=0}$	N	N	N	N	N	N	N	N
Špicatosť, $E(x)$	2,35	1,86	1,62	1,92	1,61	2,19	1,58	2,87
Test špicatosť, $t_{Ex=3}$	V	V	V	V	V	V	V	V
Test normality	+	+	+	+	+	+	+	+
Test homogeneity	+	+	+	+	+	+	+	+

Pozn.: 1 – zmes oxidov + oxidy La + Y; 2 – zmes oxidov + oxidy La + Y + AgF; 3 – zmes oxidov + oxidy La + Y + AgCl; 4 – zmes oxidov + La, Y v roztoku + AgCl; N nevýznamná; V významná; + prijatá

Táto práca vznikla za finančnej podpory Slovenskej grantovej agentúry VEGA 1/3149/06 a projektu APVV 20-009404.

S. Ružičková and M. Matherny (Department of Chemistry, Faculty of Metallurgy, Technical University, Košice, Slovak Republic): **Selection of a Spectrochemical Additive in the Evaporation Study in the Frame of Optimization of a New Spectrometric Tandem Method**

LITERATÚRA

- Koller L., Matherny M.: *Magy. Kém. Folyóirat* 108, 79 (2002).
- Lax E.: *D'Lax Taschenbuch für Chemiker und Physiker*. Springer Verlag, Berlin 1967.
- Brezina F., Mollin J., Pastorek R., Šindelář Z.: *Chemické tabulky anorganických sloučenin*. SNTL, 1986.
- Liptay G.: *Atlas of Thermoanalytical Curves*. Akadémiai Kiadó, Budapest 1975.
- Möller H., Mazurkiewicz M., Nickel H.: *Berichte der KFA No 1449*. Jülich 1977.
- Ružičková S., Jankovská E., Koller L., Matherny M.: *Chem. Pap.* 57, 204 (2003).
- Hassler J., Perzl P. R.: *GIT Labor-Fachzeitschrift* 40, 989 (1996).
- Marinković M., Antonijević V. G.: *Spectrochim. Acta* 56 B, 129 (1980).
- Kupka K.: *QC.Expert™ Statistical Software*. TriloByte, Pardubice 2002.
- Meloun M., Militký J., Forina M.: *Chemometrics for Analytical Chemistry*. Ellis Horwood, Chichester 1992.

The effective way of optimization of analytical calibration is the use of spectrochemical additives, which have a considerable influence on the effective ionization potential of plasma and on the intensity of the excited spectral lines of the analyzed elements. The additives also show a carrier effect, i.e., they accelerate evaporation of the elements. The phenomenon has a positive influence not only on the detection of the elements but also on the accuracy of the method. AgCl and AgF were used as spectrochemical additives. Their influence on chlorination and fluorination of the oxidic matrix as well as on the increase in the conductivity of the DC evaporation plasma was studied. The experiments were carried out using a special spectroscopic tandem device consisting of an evaporation cell with a DC arc, excitation source (Marinković plasma source) and a LECO-750 spectrometer. A statistical method of exploratory analysis was used in processing of the obtained data.

RECENZE

James N. Spencer, George M. Bodner, Lyman H. Rickard:

CHEMISTRY Structure and Dynamics

Vydal John Wiley & Sons, 2008.
737 stran textu + dodatky, pevná vazba, cena neuvedena.
ISBN-13 978-0-470-129289

Jedná se již o čtvrté, přepracované vydání učebnice obecné chemie určené jako úvodní kurz chemie pro univerzitní studenty přírodních věd. Autoři si v něm kladou za cíl vysvětlit základy chemie názorným, mnohdy originálním způsobem s mnoha kontrolními příklady. Zároveň je čtenář seznámen s i případovými studii, které ilustrují důležitost role dané partie chemie v současném světě. Jedním ze základních postupů výkladu, jak již napovídá i podtitul svazku, je vzájemný vztah mezi chemií v mikroskopickém a makroskopickém měřítku.

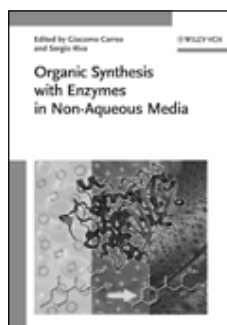
Vlastní text knihy je rozdělen do 16 kapitol a předpokládá se, že bude i v tomto pořadí studován. Pro případ, že student má zájem pouze o speciální problematiku, připravili autoři 8 separátních modulů (např. Biochemie, Chemie nekovů, Organická chemie: Reakční mechanismy) dostupných na internetu - s tím, že jsou v knize pro každý modul doporučeny kapitoly, jejichž předchozí zvládnutí je nutné k pochopení problematiky toho kterého modulu. Vážný zájemce si může ke knize obstarat velké množství doprovodných materiálů, namátkou jmenujme: často kladené otázky (Chem FAQs), demonstrační videa, animované prezentace, řešení příkladů, databanku testů, přednáškové průsvitky atd. Autoři pro toto přepracované vydání změnili v porovnání s klasickými přístupy strategii výkladu některých partií. Tak např. místo klasického výkladu slučovací entalpie sloučeniny z prvků ve svých nejstabilnějších stavech, zavádějí důsledně posloupnost dvou procesů - zánik vazby reaktantů při vzniku atomů v plynné fázi a následné spojování atomů za vzniku molekuly daného produktu.

Výklad se odvíjí od mikroskopického pojetí (struktura atomů, molekuly, druhy vazeb a jejich vznik a zánik) směrem k makrosvětlu (plynné skupenství, kapaliny a roztoky, tuhé látky). Nechybí samozřejmě partie jako rovnováhy, chemická kinetika, kyseliny a zásady, nukleární chemie či chemická analýza. Jednotlivé partie jsou doplněny přehledem klíčových poznatků a řešenými i neřešenými příklady. V obsáhlém dodatku lze nalézt informace o systémech jednotek, neurčitosti měření, významném počtu číslic výsledku, návod jak graficky zpracovat naměřená data atd. Uvedeny jsou zde i základní chemické tabulky a výsledky příkladů. Jednoznačně sympatickým rysem knihy je snaha autorů učinit vysvětlovanou problematiku zajímavou a ukázat význam a aplikaci chemie v praxi na aktuál-

ních problémových studiích. Čtenář se tak např. dozví co způsobilo úhyn koček v okolí Glen Oaks, jak se určuje identita osob na bázi DNA a proč Franklinova výprava z roku 1845 skončila tragédií.

Ve prospěch textu vypovídá i skutečnost, že se jedná o učebnici doporučenou pro úvodní kurzy obecné chemie na prestižním Massachusetts Institute of Technology (MIT). Kniha se velmi dobře čte, výklad je jasný a množství (někdy až přílišné) řešených příkladů v textu usnadňuje pochopení. Na straně druhé musím konstatovat, že učebnice není vhodná pro čtenáře, který chce získat solidní teoretický základ chemie. Autoři se vyhýbají podrobnějšímu vysvětlení složitějších jevů a pro řešení příkladů lze vystačit se znalostí základů algebry (např. integrace rychlostní rovnice reakce prvního řádu je podána jako zvláštní téma na konci kapitoly o chemické kinetice). Komu lze tedy tuto knihu v našich podmínkách doporučit? Rozhodně by „slušela“ studentovi v prvním ročníku bakalářské formy studia přírodních věd a čtenáři, který potřebuje získat hladký úvod do studia chemie bez znalosti vyšší matematiky.

Pavel Chuchvalec



G. Carrea a S. Riva (ed.)
**Organic Synthesis with
Enzymes in Non-Aqueous
Media**

Wiley-VCH, 2008, 310 stran, pevná vazba.
ISBN: 978-3-527-31846-9

Když na začátku osmdesátých let minulého století bylo zjištěno, že některé enzymy vykazují aktivitu v čistých organických rozpouštědlech, stal se tento objev počátkem nového oboru, tzv. nevodné enzymologie. Editoři recenzované monografie si vytkli za cíl shrnout výsledky dosažené v této oblasti v posledních deseti letech, přesněji od r. 1996 ve kterém vyšla kniha jednoho ze zakladatelů tohoto oboru (A.M.P. Koskinen a A.M. Klivanov, Eds : Enzymatic reactions in organic media. Blackie Academic and Professional, Glasgow 1996) hodnotící předchozí výzkum. K tomuto účelu přizvali odborníky z řady renomovaných evropských pracovišť a USA.

Již rozsah díla dokumentuje, že i v tomto desetiletí se problematika organické enzymatické katalýzy těšila intenzivnímu zájmu (v textu je citováno přibližně 1000 prací). Ten byl zaměřen v několika směrech: na biokatalýzu a) v čistých organických rozpouštědlech, b) dvoufázových systémech, c) iontových kapalinách, d) systémech plynpevná látka i e) některých nových systémech, obsahujících

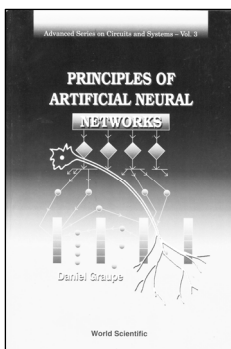
např. nerozpuštěné pevné substráty a produkty. Přibližně v tomto pořadí jsou tyto směry diskutovány i v posuzované knize. Ta je členěna do 3 částí a 12 kapitol.

Úvodní část poskytuje čtenáři základní informace o biokatalýze v čistých organických rozpouštědlech, o jejich vlivu na selektivitu enzymu i způsobech jeho aktivace pro použití v těchto prostředích. Syntetickým aplikacím je věnována další část, zaměřená na a) využití enantioselektivity hydroláz v organických rozpouštědlech, b) chemoenzymatické deracemizační procesy, či c) využití chemoselektivity a regioselektivity enzymů. V neposlední řadě je nutné zmínit i přehled průmyslových procesů založených na tomto principu. Závěrečná část se zabývá biokatalýzou ve dvoufázových systémech; shrnuje i poznatky získané při využití iontových kapalin, substrátů v plynné fázi či enzymů v přítomnosti nerozpuštěných substrátů a produktů.

Po formální stránce jsou jednotlivé kapitoly jednotně upraveny a graficky pečlivě provedeny. Po věcné stránce je nutné vyzvednout úspěšnou snahu autorů zveřejněné výsledky výzkumu nejen shrnout, ale i kriticky posoudit a vyjádřit svůj názor na další vývoj v dané oblasti.

Jasná prezentace přispívající ke čtivosti monografie a pečlivě uvážený výběr detailněji diskutovaných specifických příkladů i jejich aktuálnost (jsou zahrnuty práce z roku 2007) mi umožňují knihu doporučit nejen specialistům a studentům v oboru. Domnívám se, že poskytne užitečné informace i řadě čtenářů, kteří se dosud neseznámili s touto oblastí enzymatické katalýzy i vyvolá v nich trvalejší zájem o její další vývoj.

Jiří Hetflejš



Daniel Graupe
Principles of Artificial Neural Networks

World Scientific Publishing, 1997,
stran 238.
ISBN 981-02-2516-4

Ačkoliv se jedná o knihu poněkud staršího data, jde o poměrně zdařilé dílo, které zájemci umožní pochopit to co název slibuje – základní prin-

cipy umělých neuronových sítí. I v předmluvě autor zmiňuje svůj cíl shrnout své zkušenosti z řady let výuky daného tématu především do učebnice, použitelné pro výuku základních kurzů, zaměřených na umělé neuronové sítě.

Knihy je velmi vhodná pro začátečníky. Výklad začíná od naprostých základů, ve kterých je popsána obecná filosofie umělých neuronových sítí, jejich paralely k biologickým sítím neuronů a hlavní body jejich vývoje v průběhu minulých desetiletí. Následuje přehled elementárních stavebních kamenů, jako je např. perceptron, a přes popis základních algoritmů používaných k učení neuronových sítí se dostává k mírně pokročilejším tématům, jakými jsou sítě se zpětnou vazbou, Kohonenovy samoorgani-

zující se mapy, statistické učení sítí, apod. Poslední kapitola je však již spíše autorovou specialitou a pojednává o využití umělých neuronových sítí k ukládání velkých datových struktur a vyhledávání v nich. Kniha klade velký důraz na aplikace. Je doplněna řadou příkladů zaměřených na použití jednotlivých typů sítí a kromě implementovaných příkladů uvádí i typické oblasti vhodného použití různých typů sítí, jakož i příklady úloh, k jejichž řešení nejsou tyto sítě vhodné. Ačkoliv je zbytek knihy psán do značné míry oborově neutrálně, v příkladech je jasně vidět autorovo praktické zaměření na elektroinženýrství a kybernetiku.

Vhodná volba a didaktický přínos příkladů je částečně potlačen jejich nejednotností z hlediska použitého jazyka. Lze jen spekulovat, zda je to způsobeno dílčími revizemi druhého vydání nebo jinými faktory, faktem však zůstává, že příklady v knize zahrnují nejméně tři programovací jazyky – BASIC, C a MATLAB. Pro studenta základního kurzu se takové vstupní požadavky mohou stát prohibitivními, zvláště vezmeme-li v potaz to, že kódy příkladů zahrnují nejen vlastní algoritmy, ale i vstupně-výstupní operace, apod., navíc bez doprovodného CD, takže zdrojové kódy jsou k dispozici pouze v textové podobě. Na druhé straně to není tak velkou závadou, jelikož v dnešní době lze ze strany začínajících uživatelů umělých neuronových sítí očekávat spíše použití nějakého komerčního balíku pro práci s nimi.

Proto, přes určitou problematičnost zpracování příkladů programů lze knihu doporučit jako vstupní studijní materiál do problematiky umělých neuronových sítí všem chemikům a chemickým inženýrům, kteří se chystají využít jejich jednodušší aplikace ve své práci.

Petr Zámostný

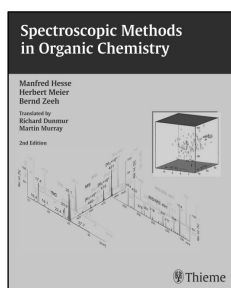


Baldridge K., Abendroth T.:
Mixing with MerryGold: A Fairy Tale

Wiley-VCH, VCHCA, 2008,
56 stran, pevná vazba,
cena 19,90 Euro.
ISBN-13: 978-3-906390-57-4.

„Setkání s veselým zlatičkem“ je půvabná knížka, určená „všem přítomným i budoucím vědcům, kteří považují vědu za umění života“. Předkládá chemii jako „přírodovědeckou fantasy“ tato plně ilustrovaná knížka představuje jednu z možností, jak pohádkou potěšit nejen dítě, ale i jejich rodiče. Milým způsobem vypráví o atomech, elektronech, molekulách a jejich království, s tím, že předpokládá, že v malých posluchačských duších se chemie zabydlí natolik, že později v životě snadno překonají Arrheniovu bariéru k učení přírodním naukám.

Pavel Drašar



Hesse Manfred,
Meier Herbert, Zeeh Bernd:
**Spectroscopic Methods in
Organic Chemistry**

2. vydání 2007, 470 stran, měkká
vazba, Thieme Verlag Stuttgart,
cena EUR 79,95.
ISBN: 9783131060426

Kniha vychází z německé příručky *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, vydané týměž nakladatelstvím jako 7. vydání. Překlad pořídili Richard Dummur a Martin Murray; zůstali však, zejména u některých mnemotechnických pomůcek, vázání na němčinu.

Tato cenná kniha poskytuje výtečný studijní i praktický nástroj pro studium i použití základních spektroskopických metod v organické chemii a lze jí chápat jako základní učebnici.

Kniha přináší informace o základech, ale i moderních aplikacích z metod popisujících UV/VIS spektroskopii, která je doplněna o spektroskopii derivační a metody chiroptické (CD a ORD). Zabývá se agregovanými molekulami, komplexy s přenosem náboje, konjugovanými oligomery. Infračervená (IR) a Ramanova spektroskopie jsou pojednány moderně s výkladem Fourierovy transformace v IR spektroskopii a takových metod jako je kombinace GC/IR. Jaderná magnetická rezonanční spektroskopie (NMR) logicky pojednává klasická jádra ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{15}N a ^{31}P , spin decoupling, triple rezonanci, INDOOR diferenční spektroskopii, 2D- a 3D-NMR, COSY, TOCSY, ROESY a NOESY spektra, NOE, INEPT a DEPT techniky, DEPTQ, HETCOR, HRMAS, INADEQUATE a posuvová činidla s lanthanidy, simulace a výpočty spekter a sprážené separační a NMR metody. Ukazuje, jak pomocí moderních nástrojů kompletně popsat všechny ^1H a ^{13}C NMR signály dané látky.

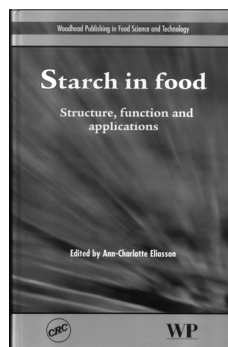
Kapitola o hmotové spektroskopii je také obsažná. Pojednává o klasických ionizacích (EI, CI, FAB, ESI a TSI), MS/MS technikách (MS^n), ionizaci a desorpci polem, chemickou ionizací za atmosférického tlaku (APCI), MALDI TOF techniky, GC/MS, LC/MS, a HPLC-UV (DAD)-APCI MS/MS. Probírá i iontovou cyklotronovou rezonanci s Fourierovou transformací MS (FT-ICR-MS).

Technické provedení, vybavení mnoha tabulkami a schémata poslouží jak začínajícímu studentovi, tak pokročilému odborníku. Kniha má rozsáhlý doplňkový materiál na URL http://www.thieme.de/specials/hmz_en.html, kde jsou například pro pedagogy k dispozici všechny obrázky v rozlišení 300 dpi, zdarma. Koncepce knihy neobtěžuje fyzikou, ale používá jí v nutné míře k vysvětlení dějů. Přináší kvalitní literaturu pro další studium a spoustu praktických příkladů. Závěr knihy přináší praktické příklady řešení struktur za použití několika spektroskopických technik i s jejich komentovaným řešením. Kniha je vybavena kvalitním rejstříkem.

Bohužel, je nekonzistentní v použití čárkované vazby, kterou používá i jako vazbu směřující od stereogenního centra dozadu, ale i jako vazbu neukončenou a dokonce i jako vazbu vodíkovou. Některé obrázky ukazují, že jejich autor měl velmi daleko k prostorové představivosti. Znázornění strukturálních vzorců není jednotné. Pro *cis/trans* isomery dekalinu používá znázornění s tlustými puntíky, které je IUPAC dokonce zakázáno(!), a to opět nekonzistentně, protože podobné puntíky používá k vyznačení poloh na skeletu.

Kniha je bezesporu hodna stát na čelním místě v knihovně, a to nejen organického chemika.

Pavel Drašar



Anne-Charlotte
Eliasson:
**Starch in Food: Structure,
Function and Application**

Vydali Woodhead Publishing Limited (Cambridge England) a CRC Press LLC (Boca Raton Boston New York Washington USA), august 2004, 1. vydanie, 624 strán, tvrdá väzba, cena £ 155, US\$ 295, € 225.

ISBN: 1 85573 731 0 (kniha) a 1 85573 909 7
(elektronická podoba) pre Woodhead Publishing Limited
a 0-8493-2555-2 pre CRC Press

Prof. A-C. Eliasson vedie Oddelenie potravinárskej technológie, inžinierstva a výživy na Univerzite v Lund (Švédsko). Je vydavateľkou viacerých monografií a autorou mnohých vedeckých publikácií v oblasti cereálnej a potravinárskej chémie. Zastáva funkciu prezidentky The Swedish Association of Cereal Chemists, je členkou American Association of Cereal Chemistry aj členkou redakčnej rady renomovaných časopisov (*Biomacromolecules*, *Cereal Chemistry*, *Current Topics in Cereal Chemistry*, *Food Biophysics*, *Food Chemistry*, *Journal of Cereal Science*, *Journal of Food Biochemistry*, *Starch/Stärke*...).

Monografia *Starch in food: structure, function and application* je dielom kolektívu univerzitných profesorov z USA, Kanady, Austrálie, Švédska, Fínska, Holandska, Belgicka a Anglicka. Je súčasným komplexným prehľadom poznatkov o škrobe v humánnej výžive. Zahŕňa chemické, biologické, fyziologické, fylogenetické aj technologické aspekty. Pozostáva zo štyroch častí, ktoré sú systematicky rozčlenené do 21 kapitol. Každá kapitola je doplnená súčasným bibliografickým materiálom, prípadne aj odkazmi na elektronické informačné pramene. Kniha obsahuje veľa prehľadných obrázkov, grafov, schém a tabuliek a vecný register. Odborne, graficky aj technicky je veľmi dobre spracovaná.

Prvá časť sa zaoberá významom, zložením, biosyntézou, vlastnosťami a analýzou štruktúry škrobu a možnos-

tami jeho genetickej modifikácie. Zvláštna pozornosť sa venuje modifikovaným škrobom – ich fyzikálno-chemickým vlastnostiam, technológii výroby a možnostiam využitia v potravinárstve. Táto časť je zakončená prehľadom analytických metód na stanovenie obsahu škrobu v potravinách (polarimetria, kolorimetria, kapilárna elektroforéza, enzýmové metódy, HPLC, GLC, NIRS).

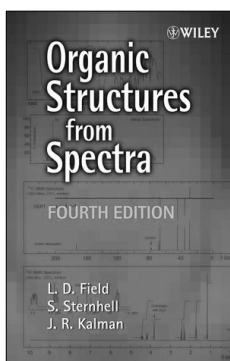
V druhej časti sú podrobne zhrnuté prírodné zdroje škrobu – od pšenice, zemiakov, ryže a kukurice až po tropické rastliny.

Ďalšia časť je venovaná škrobu ako prísade, jeho priemyselnej výrobe a využitiu v pekárstve, cukrárenstve, pri výrobe mliečnych a mäsových výrobkov, nápojov, polievok, omáčok, štiav, majonéz, plniek, mrazených potravín a pod.

V poslednej časti sa rieši celosvetovo veľmi aktuálna problematika výroby funkčných potravín na báze rezistentného škrobu, ktorý priaznivo ovplyvňuje telesné i duševné zdravie človeka. V úvode je vysvetlený pojem glykemický index potravín (GI) podľa kritérií FAO/WHO a jeho význam pre zdravie.

Kniha je cennou príručkou pre vedecko-výskumných pracovníkov v oblasti biochémie, analytickej, fyzikálnej, potravinárskej a medicínskej chémie, molekulárnej biológie a biotechnológií, ale aj pre technológov v potravinárskom a škrobárenskom priemysle.

Daniela Mikulíková



Field Leslie D., Sternhell Sev, Kalman John R.:
Organic Structures from Spectra

4. vydání, John Wiley & Sons 2008,
468 stran, pevná vazba, cena
€101,30; ISBN: 978-0-470-31926-0,
paperback, cena €43,90,
ISBN: 978-0-470-31927-7

Čtvrté vydání úspěšné učebnice australských autorů je komentovaný kvalitně vybraný soubor více než 300 úloh,

ve kterých má čtenář ze zobrazených spektrálních měření zjistit strukturní vzorec. Cvičení zahrnují téměř všechny běžné spektroskopické techniky. Úlohy jsou odstupňovány podle obtížnosti tak, že čtenář své znalosti stále zlepšuje a získává lepší celkový přehled. Kniha je vybavena základními informacemi o použitých spektroskopických technikách na úrovni, která je potřebná pro řešení úloh. Nové vydání je obohaceno zejména o rozšíření úloh z 2D NMR spektroskopie mj. i se zaměřením na COSY, NOESY a CH-korelace. Stávající úlohy a tabulkový materiál byly často rozšířeny o přidaná data. Přidána byla přehledná informace o tom, jak řešit spektroskopické problémy. Podstatně byla rozšířena část úloh na jednoduché straně série. V závěru knihy je čtenáři na několika příkladech ukázán metodický postup řešení úkolů. Kniha je vybavena odpovídajícím rejstříkem.

Technická výprava knihy jakoby „nešetřila místem“, tisk je roztažený a poslouží tak i špatně vidícím čtenářům. Ke klasickým nectnostem opakovaných vydání patří nerespektování pravidel IUPAC pro převedení zobrazení z trojrozměrného světa do roviny papíru.

Tak jako předchozí verze (která byla na pohled stejně vypravená, avšak v červené obálce) kniha účelně uvádí čtenáře do teorie a praxe základních spektroskopických metod, neobtěžuje fyzikálními teoriemi a přímo uvádí čtenáře do řešení strukturních problémů pomocí dotřených technik. Učebnice představuje velmi užitečnou pomůcku pro studium této části chemie.

Pavel Drašar

**Česká společnost chemická
a Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha**

pořádají

mezinárodní konferenci „Polysacharidy IV“.

Datum a místo konání: 13.–14. 11.2008, na Novotného lávce 5, Praha 1

Konference bude zaměřena na výrobu, přípravu a využití polysacharidů, výskyt, vlastnosti a strukturu biologicky aktivních polysacharidů a deriváty polysacharidů.

Uzávěrka přihlášek je 15. září 2008 a uzávěrka zaslání abstraktů příspěvků (přednášek a posterů) je 30. června 2008. Abstrakta budou publikována v Chemických listech č. 9/2008 v českém jazyce a v časopise Stärke/Starch v anglickém jazyce. Předpokládá se zájem účastníků a společností bez odborného příspěvku.

Úvodní přednášky:

Ing. Jiří Trnka, ředitel odboru environmentální politiky a obnovitelných zdrojů energie, Ministerstvo zemědělství ČR: Koncepce rozvoje biopaliv na bázi škrobnatých a celulóзовých surovin v ČR a Evropské unii.

Maciej Fiedorowicz Ph.D., Dr. Sc., Department of Chemistry, University of Agriculture, Cracow, Poland: The effect of illumination of polarized light on polysaccharides and polysaccharide degrading enzymes.

Vložené:

Člen ČSCH nebo SCHS 900 Kč, ostatní 1000 Kč. Po 15. září 2008 činí vložné 1200 Kč.

Vložené zahrnuje: CD s plnými texty přednášek a posterů (bude obsahovat ISBN), výtisk Chemických listů č. 9 s abstrakty přednášek a posterů, občerstvení a organizační náklady.

Je možné zajistit ubytování na kolejích na Jižním městě.

Organizační výbor:

RNDr. Helena Pokorná – Česká společnost chemická

Ing. Alena Vlková – Česká společnost chemická

Ing. Radmila Řápková – Chemické listy

Ing. Anežka Veselá – VŠCHT Praha

Vědecký výbor:

Doc. Jana Čopíková, CSc. – Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha

Ing. Evžen Šárka, CSc. – Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha

Prof. Ing. Miloslav Milichovský, DrSc. – Katedra dřeva, celulózy a papíru, Univerzita Pardubice

Prof. Alexander Dandár, DrSc. – Katedra sacharidov a konzervácie potravín, STU Bratislava

RNDr. Vladimír Erban, CSc. – Výzkumný ústav potravinářský, Praha

Prof. Milan Marounek, DrSc. – Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR

Ing. Miroslav Novák, CSc. – Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Bližší informace na adrese <http://www.csch.cz>

Kontaktní adresa: Česká společnost chemická, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1,

tel.: 221 082 370, tel/fax: 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz, chem.spol@csvts.cz



Česká společnost chemická · Univerzita Palackého
Statutární město Olomouc · SIGMA-ALDRICH – hlavní sponzor



SIGMA-ALDRICH

60. JUBILEJNÍ SJEZD ASOCIACÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Olomouc 1. – 4. září 2008

Program:

Pondělí 1.9.

Moravské divadlo 15:00 – 22:00

Slavnostní zahájení

J.-M. Lehn: *From Supramolecular Chemistry to Constitutional Dynamic Chemistry*

Večer na uvítanou

Úterý 2.9.

Regionální centrum Olomouc 8:30 – 16:00

Irena Valterová: *Biosyntéza hmyzích feromonů*

Lubor Fišera: *1,3-Dipolárne cykloadície chirálnych nitrónov a ich využitie v syntéze*

Přednášky v sekcích, minisymposia, soutěž „Cena SHIMADZU“

Umělecké centrum Univerzity Palackého 16:30 – 23:00

Plakátová sdělení

Výstava firem (Umělecké centrum Univerzity Palackého)

Setkání u moravských vín

Středa 3.9.

Regionální centrum Olomouc 8:30 – 18:00

Miloslav Frumar: *Rychlé reversibilní změny amorfni-krystalická fáze a nové materiály pro optické a elektrické paměti vysoké hustoty*

Karel Lemr: *Hmotnostní spektrometrie – od elektrického výboje k zobrazování tkání*

Přednášky v sekcích, minisymposia

Regionální centrum Olomouc 19:00 – 22:00

Vyhlášení vítězů plakátových sdělení a společenský večer, k tanci a poslechu hraje cimbálová muzika Poljanka

Čtvrtek 4.9.

Exkurze, výlety (www.ckpressburg.cz)

www.sjezd2008.upol.cz

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	409	EDITORIAL	409
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
Signální dráhy oxidu dusnatého v rostlinách	410	Signalling Pathways of Nitric Oxide in Plants	410
J. Piterková, M. Petřivalský a L. Luhová		J. Piterková, M. Petřivalský, and L. Luhová	
Formaldehyd v životním prostředí – Stanovení formaldehydu metodou laserové a fotoakustické detekce	417	Formaldehyde in the Environment – Determination of Formaldehyde by Laser and Photoacoustic Detection	417
M. Ferus, J. Cihelka a S. Civiš		M. Ferus, J. Cihelka, and S. Civiš	
Fluorescenční vlastnosti kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů a jejich využití jako supravitalních DNA sond	427	Fluorescence Properties of Quaternary Benzo[c]phenanthridine Alkaloids and Their Use as Supravital DNA Probes	427
I. Slaninová, J. Slanina a E. Táborská		I. Slaninová, J. Slanina, and E. Táborská	
Kategorizace pórů v poréznych maticích	434	Pore Classification in the Characterization of Porous Materials	434
B. Zdravkov, J. J. Čermák, J. Janků, V. Kučerová a M. Šefara		B. Zdravkov, J. J. Čermák, J. Janků, V. Kučerová, and M. Šefara	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Vliv složení rop na jejich chování při dlouhodobém uskladnění	439	The Effect of Oil Composition on Deposit Formation During a Long-Term Storage	439
L. Darebník, P. Straka, D. Maxa a G. Šebor		L. Darebník, P. Straka, D. Maxa, and G. Šebor	
Konduktometrické stanovení složení vodního skla	444	Conductometric Analysis of Water Glass	444
V. Bednařík a M. Vondruška		V. Bednařík and M. Vondruška	
Využití cinvalditových odpadů pro získávání sloučenin lithia a rubidia	447	Utilization of Zinnwaldite Wastes for Recovery of Lithium and Rubidium Compounds	447
J. Jandová, H. Vu, T. Bělková a P. Dvořák		J. Jandová, H. Vu, T. Bělková, and P. Dvořák	
Výber spektrochemického přídatku při štúdiu vyparovacího procesu v rámci optimalizácie novej tandemovej spektrochemickej techniky	453	Selection of a Spectrochemical Additive in the Evaporation Study in the Frame of Optimization of a New Spectrometric Tandem Method	453
S. Ružičková a M. Matherny		S. Ružičková and M. Matherny	
RECENZE	458	BOOK REVIEWS	458

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 102 (2008), čís./no. 6 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 132, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 118 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORŮ/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hettflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHraničNí A OBLASTNí REDAKTORŮ/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvicka (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNí RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Cervený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZAšILÁNí PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNĚM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Generála Svobody 335, 533 51 Pardubice - Rosice nad Labem; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2008 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 153 Kč, roční plné předplatné 2008 (12 čísel) 1570 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 785 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 83 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 63 EUR (doručování via SCHS), 234 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: M. Pojarová • Dáno do tisku 30.5.2008.