Celoživotní vzdělávání na VŠCHT Praha

Pod pojmem celoživotní vzdělávání se nejčastěji rozumí vzdělávání dospělých, a to profesní, všeobecné nebo zájmové. Podle materiálů Evropské unie se toto vzdělávání chápe jako „komplexní systém institucionálně organizovaných a individuálních vzdělávacích aktivit, které nahrazují, doplňují, inovují nebo jinak obohacují počáteční vzdělávání dospělých osob a které rozvíjejí znalosti a dovednosti, hodnotové postoje, zájmy a jiné osobní a sociální kvality, potřebné pro plnohodnotnou práci i mimopracovní život.“

Celoživotní vzdělávání je jednou z priorit sofistikovaných společností pro 21. století. Mluví se nejenom o učících se organizacích, podnicích, firmách, ale dokonce o budování „učící se společnosti“ (learning society). V memorandu Lisabonského summitu Evropské rady je kladen důraz na přechod od informační ke znalostní společnosti (knowledge-based economy and society) a na celoživotní učení ve smyslu nikoli jen v průběhu všech životních období, ale s využíváním všech příležitostí k učení: life-wide learning.

Je pochopitelné, že velice významná role v uskutečňování programů celoživotního vzdělávání připadá vysokým školám. Novela zákona 111/98 Sb. dává činnosti vysokých škol v oblasti celoživotního vzdělávání novou dimenzi. Rozšiřuje totiž možnosti „poskytovat bezplatně nebo za úplatu programy celoživotního vzdělávání orientované na výkon povolání nebo zájmově.“ Tato úprava tedy poskytuje vysokým školám prakticky veškeré pravomoci při vytváření, zavádění a realizaci široké škály programů celoživotního vzdělávání.

Řada vysokých škol využívá tento prostor a nabízí studentům přípravu na přijímací řízení za úplatu nebo dokonce možnost studovat jeden či více semestrů oboru, na který nebyli přijati, za finanční úhradu.

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze se neubírá touto cestou a má v oblasti celoživotního vzdělávání již vytvořenu zcela odlišnou tradici. Soustředila svoji pozornost zejména na:

- *kvalifikační programy orientované na výkon povolání, a to v podobě jak dlouhodobých, tak krátkodobých specializovaných kurzů pro odbornou veřejnost,*
- *programy pro firmy na zakázku, zpracované na základě analýzy vzdělávacích potřeb, vždy pro konkrétní skupinu zaměstnanců firmy nebo profesi (chemický technolog, mechanik strojní údržby ap.),*
- *programy univerzity třetího věku.*

Vzhledem k trendu klesajícího zájmu o studium chemie, k nárůstu negativního vnímání chemických podniků a produktů laickou veřejností, i k neodbornému prezentování chemie v médiích vyvstala v oblasti celoživotního vzdělávání potřeba:

- *sjednotit a koordinovat nabídku programů celoživotního vzdělávání, dát jim marketingový podklad a zaměření,*
- *soustředit informace o aktivitách a záměrech pracovišť školy v této oblasti,*
- *zjišťovat informace zvnějšku, vytvářet adresné kontaktní a informační centrum:*
  - *vyhledávat a stimulovat poptávku,*
  - *zjišťovat potřeby a požadavky zákazníků,*
  - *stabilizovat vztahy s klíčovými klienty,*
  - *iniciovat vhodné pedagogické aktivity,*
  - *mapovat konkurenci,*
  - *zajišťovat styk s centrálními institucemi,*
- *systematicky vyhledávat příležitosti pro širší uplatnění VŠCHT Praha,*
- *rozšířit spektrum vzdělávacích programů (zakázkové programy, motivační – náborové programy, osvětové „PR pro chemii“, ...).*

Rozhodnutím rektora VŠCHT Praha bylo v souladu s § 22 odst.1 písm.c) zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách zřízeno s platností od 1.10.2002 celoškolské odborné pracoviště pro činnost v oblasti celoživotního vzdělávání, jehož posláním je analyzovat situaci na trhu vzdělávání, hledat a rozpoznávat příležitosti, spoluvytvářet a koordinovat nabídku celoživotního vzdělávání všech pracovišť školy. V organizační struktuře je oddělení celoživotního vzdělávání přímo podřízeno prorektorovi pro pedagogiku.

Záměrem školy v oblasti celoživotního vzdělávání je vytvořit vzájemně provázaný systém vzdělávání a poradenství za celou VŠCHT Praha. Pod tímto systémem se začalo budovat a rozvíjet komunikační, informační, vzdělávací a koordinační zázemí pro systematické celoživotní vzdělávání a vhodně doplňovat nabídka již existujícího vzdělávání a poradenství fakult a ústavů.

Již více než dva roky nabízí VŠCHT Praha v rámci programů celoživotního vzdělávání potenciálním zákazníkům:

krátkodobé, střednědobé i dlouhodobé tréninky, kurzy a vzdělávací programy strukturované podle konkrétních potřeb pro:

- *specialisty,*
- *nižší management,*
- *střední management,*

orientované především na:

- *prohloubení odborných znalostí v profesi,*
- *aktuality v chemicko-technologických oborech,*
- *principy manažerské práce,*
- *vedení lidí a pracovní právo,*
- *komunikační a prezentační dovednosti,*
- *normy a legislativu EU v příslušném oboru,*

lektorsky zabezpečené:

- *špičkovými odborníky působícími na VŠCHT Praha,*
- *zkušenými externími spolupracovníky – lektory a trenéry zejména v problematice „soft skills“ a v dalších potřebných oborech (komunikační a prezentační dovednosti, budování a vedení týmu, motivace, hodnocení, ...).*

Své aktivity v oblasti celoživotního vzdělávání škola orientuje zejména na:

- *perspektivní a potenciální cílové skupiny, zákazníky, firmy – provádí analýzu potřeb podniků, regionů, veřejné správy,*
- *spolupráci všech fakult a ústavů při vytváření a koordinaci nabídky kurzů a vzdělávacích aktivit,*
- *konkurenci, ostatní vysoké školy, vzdělávací firmy a instituce, jejich nabídku, jejich trh,*
- *alternativní finanční zdroje, možnosti podpory ze strany MŠMT, PHARE, EU.*

V intencích snah o změnu trendu, který v posledních letech vykazuje zájem o studium chemických oborů, VŠCHT Praha expandovala částí svých aktivit do Mostu, kde kromě denního a distančního bakalářského studia realizuje i programy celoživotního vzdělávání pro firmy a posluchače ze severozápadního regionu. Cílem je zvýšit zájem studentů v tomto regionu o obory využitelné ve velkých chemických a průmyslových provozech, a tím v důsledku přispívat k nárůstu zájemců o studium chemie a k postupnému rozvoji vzdělanostní struktury v daném regionu.

Analýzou vzdělávacích potřeb významných firem, která předcházela realizaci tohoto záměru, byl vytvořen i základ databáze pro tvorbu konkrétní nabídky krátkodobých, střednědobých a dlouhodobých programů celoživotního vzdělávání.

V současné době VŠCHT Praha nabízí a realizuje více než 40 otevřených seminářů, kurzů a programů celoživotního vzdělávání pro odbornou veřejnost s nejvyšší četností např. Zavádění HACCP (Hazard analysis critical control points - Systém kritických bodů) v provozech společného stravování, Vnitřní audit HACCP, Manažer HACCP – příprava na certifikaci, Senzorický kurz, Zdravotní nezávadnost potravin, Mikroskopické praktikum z hydrobiologie, Měření emisí, Laboratorní cvičení pro střední školy, Analýza korozních produktů, Technologie vody, Odpady, jejich využití a zneškodňování).

VŠCHT Praha je certifikované školicí středisko SIPVZ (Státní informační politiky ve vzdělávání), které provádí školení počítačové gramotnosti pro učitele základních a středních škol; v loňském roce absolvovalo toto školení 51 účastníků.

V průběhu roku 2004 byly na základě analýzy vzdělávacích potřeb a po společné přípravě projektu kurzu se zadavateli realizovány kvalifikační vzdělávací programy pro firmy na míru: Kvalifikační vzdělávání pro technology a.s. Chemopetrol v rozsahu 84 výukových hodin, Nové metody práce a normy v oblasti chemického průmyslu pro mechaniky a.s. Lovochemie v rozsahu 60 hodin, Technologie a ekologie anorganických procesů pro technology a.s. Lovochemie rovněž v rozsahu 60 hodin, Kurz pro mechaniky strojní údržby a.s. Kaučuk v rozsahu 48 hodin, Kurz celoživotního vzdělávání pro pracovníky odboru životního prostředí Magistrátu hlavního města Prahy v rozsahu 112 hodin.

Probíhají 3 dlouhodobé (čtyřsemestrální) programy v rámci univerzity třetího věku - Potraviny a výživa, Ochrana životního prostředí a Život s počítačem pro celkem 130 posluchačů, které jsou seniorům poskytovány bezplatně.

Na podporu uplatnění absolventů školy na trhu práce byl v průběhu prázdnin uskutečněn Trénink komunikačních a manažerských dovedností v rozsahu 40 hodin pro studenty zejména 3. ročníků, doplněný týdenní praxí ve vybraných podnicích. Pro mimořádný ohlas a zájem ze strany studentů i spolupracujících firem bude obdobný program uskutečněn i v letošním roce.

PhDr. Adéla Petrášková
vedoucí oddělení celoživotního vzdělávání
VŠCHT Praha

ÚOCHB AV ČR

April 4, 2005

Invited Lecture Series

Topic: Enantioselective Catalysis

Artificial Metalloenzymes for Enantioselective Catalysis Based on the Biotin-Avidin Technology

Homogeneous- and enzymatic catalysis offer complementary means to generate enantiomerically pure compounds. Incorporation of achiral biotinylated rhodiumdiphosphine complexes into (strep)avidin yields artificial metalloenzymes for the hydrogenation of Nprotected dehydroaminoacids. A chemogenetic optimization procedure allows to produce both enantiomers of acetamidoalanine in good enantioselectivity (up to 96% ee). Analysis of the performance of these hybrid catalysts reveal features reminsiscent both of enzymatic and of homogeneous systems.

Speaker: Professor Thomas R. Ward

Artificial Metallo-Enzyme's Laboratory, Institute of Chemistry,
University of Neuchâtel, Switzerland

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am

information: stara@uochb.cas.cz

Česká společnost chemická

uděluje

Cenu Miloše Hudlického

za významnou práci publikovanou v časopisech konsorcia EurChemSoc

v roce 2003
autorům
Ottovi Exnerovi a Stanislavu Böhmovi za práci „**Electroststic cqalculation of the substituent effect: an efficient test onisolated molecules**“ publikovanou v CHEMISTRY – A EUROPEAN JOURNAL 9(19): 4718–4723

v roce 2004
autorům
Michalovi Hockovi, Petru Štěpničkovi, Jiřímu Ludvíkovi a spol.
za práci „**Ferrocene-modified purines as potential electrochemical markers: Synthesis, crystal structures, electrochemistry and cytostatic activity of (ferrocenylethynyl)- and (ferrocenylethyl) purines**“ publikovanou v CHEMISTRY – A EUROPEAN JOURNAL 10(8): 2058–2066

POKROKY ASYMETRICKÉ KATALÝZY V OBLASTI ENANTIOSELEKTIVNÍCH HYDROGENACÍ

LUKÁŠ BARTEK, PETR KLUSOŇ a LIBOR ČERVENÝ

Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 6, 166 28 Praha 6
libor.cerveny@vscht.cz

Došlo 5.2.04, přijato 26.5.04.

Klíčová slova: asymetrická katalýza, enantioselektivní hydrogenace, chirální komplexy, imobilizace, heterogenizace

Obsah

1. Úvod
2. Heterogenní katalytické systémy
   2.1. Modifikované niklové katalyzátory
   2.2. Modifikované platinové kovy
3. Homogenní hydrogenační katalyzátory
   3.1. Ru-BINAP
   3.2. Imobilizace komplexů BINAP na anorganických nosičích
   3.3. Zakotvení katalyzátorů Ru-BINAP s využitím polymerních materiálů
   3.4. Imobilizace pomocí heteropolykyselin
4. Závěr

Úvod

Chiralita hraje velmi důležitou roli ve většině biologických systémů. Řada fyziologických jevů spočívá ve schopnosti molekuly či receptoru rozlišit mezi jednotlivými optickými isomery interagující sloučeniny. Formy jedné a téže látky, lišící se pouze optickou otáčivostí, mohou mít často jinou vůni a chuť, mnohem podstatnějším jevem je ovšem to, že mohou mít zcela opačné účinky v případě jejich použití ve formě léčiva. Obecně známým příkladem z této oblasti je causa účinné látky Thalidomidu[1]. Jeho podávání v podobě léku Contergan vyvolalo v šedesátých letech minulého století aféru, která svou závažností přiměla odborníky a vědce z akademické i průmyslové sféry zaměřit značné úsilí na výzkum a vývoj metod syntézy a separace opticky čistých sloučenin. Thalidomid byl distribuován ve formě racemické směsi, přičemž jeden z jeho optických isomerů (*R*) je účinným sedativem, zatímco isomer (*S*) je nebezpečným teratogenem. Podávání tohoto léčiva těhotným ženám způsobilo u řady narozených dětí malformace a defekty. I přes obrovské pokroky, které byly v oblasti stereoselektivních syntéz a katalýzy učiněny, ještě počátkem 90. let 20. století bylo 90 % syntetických léčiv podáváno ve formě racemátů[2].

Syntéza látek obsahujících více center chirality vyžaduje stereoselektivní reakce v jednotlivých reakčních stupních. Syntéza může vycházet buď z opticky aktivního materiálu (chirálního synthonu), nebo z racemátu či z látek achirálních (opticky neaktivních). Asymetrická katalýza ve snaze o získání opticky čistých látek vykazuje výrazné přednosti. Především je to vícenásobné enantiorozlišení reaktantu na jediném chirálním aktivním centru, kdy se vytvoří velké množství chirálního produktu za použití malého množství katalyzátoru jako zdroje chirality. U heterogenních či heterogenizovaných enantioselektivních katalyzátorů je výhodou ještě snadná separace katalyzátoru z reakční směsi. Enantioselektivní katalýza je v současnosti velmi dynamicky se rozvíjející oblastí chemie. To potvrzuje i udělení Nobelovy ceny za chemii v roce 2001 za dosažené výsledky právě v oblasti výzkumu asymetrické katalýzy[3].

2. Heterogenní katalytické systémy

Prvním z příkladů použití heterogenního enantioselektivního katalyzátoru byl již roku 1922 oxid zinečnatý na chirálním nosiči – fruktose. Tehdy na něm Erlenmayer[4] testoval adici bromu na kyselinu skořicovou s překvapující enantioselektivitou (ee 50 %). Jedním z dalších průkopnických pokusů o přípravu chirálního katalyzátoru bylo palladium nanesené na hedvábném vlákně. Akabori a spol.[5] s tímto katalyzátorem dosáhli v roce 1956 při hydrogenaci derivátů oxazolinu enantioselektivity až 66 %.

Známým a od poloviny 60. let intenzivně zkoumaným přístupem k heterogenní asymetrické katalýze je modifikace kovových hydrogenačních katalyzátorů. Tato oblast asymetrické katalýzy využívá klasické heterogenní katalyzátory s dobrou aktivitou pro příslušné reakce, které se modifikují malými organickými chirálními molekulami. Tento přístup se jeví jako velmi flexibilní, jelikož je k dispozici velké množství různých typů strukturně dobře definovaných modifikátorů. Modifikátory se mohou přidávat ke katalyzátoru nebo přímo do reakční směsi. Mezi nejznámější systémy, jejichž vývoji a výzkumu byla v posledních desetiletích věnována pozornost, patří niklové katalyzátory modifikované kyselinou vinnou a platinové kovy modifikované cinchoninovými alkaloidy.

2.1. Modifikované niklové katalyzátory

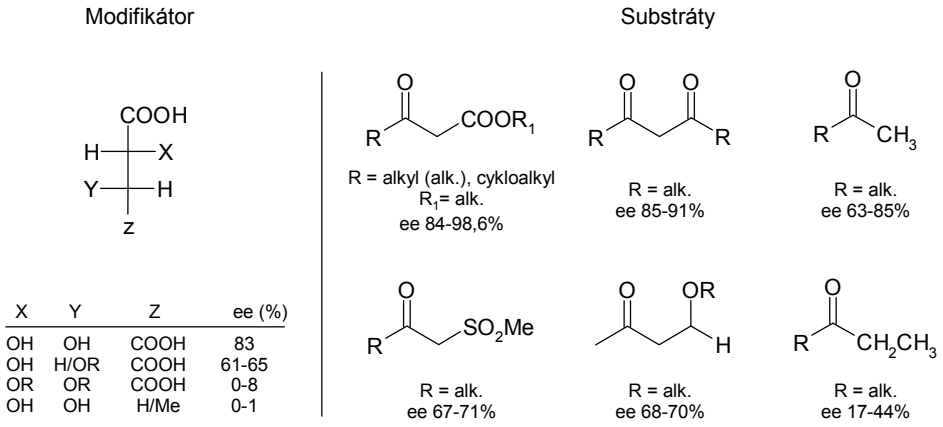
Od dob počátků výzkumu chirálně modifikovaných niklových katalyzátorů bylo shromážděno a publikováno

značné množství výsledků enantioselektivních hydrogenací β-ketoesterů, především methyl-acetoacetátu na niklových katalyzátorech modifikovaných opticky čistým isomerem kyseliny vinné[6]. Modifikace katalyzátoru je vysoce specifická vůči substrátu, což způsobuje, že daný katalyzátor modifikovaný specifickým chirálním modifikátorem je selektivní pouze v úzkém okruhu substrátů. Nejvyšších optických výtěžků bylo dosaženo při hydrogenacích β-ketoesterů, β-diketonů a alkyl(methyl)ketonů[7].

Objev katalytického systému Ni/kyselina vinná/NaBr, znamenal velký průlom v oblasti asymetrické katalýzy. S použitím takto modifikovaného katalyzátoru byly již v roce 1962 Izumiho skupinou hydrogenovány β-ketoestery s 89% optickým výtěžkem[8]. Bylo prokázáno, že kyselina vinná je optimálním modifikátorem, při použití α-aminokyselin a α-hydroxykyselin nebylo dosaženo uspokojivých výsledků (obr. 1).

Modifikace niklových katalyzátorů je stupeň velmi citlivý na řadů faktorů, jako např. teplotu, pH modifikačního roztoku, dobu modifikace, koncentraci modifikátoru a komodifikátoru[10]. Bylo zjištěno, že klasická modifikace niklového katalyzátoru je korozivní proces, při kterém se nikl vyluhuje do modifikačního roztoku. Modifikaci katalyzátoru lze provádět různým způsobem a podmínky modifikace musí být optimalizovány pro každý typ katalyzátoru. Předmětem výzkumu byly prakticky všechny typy niklových katalyzátorů počínaje Raney niklem[11–13] až po nosičové niklové katalyzátory[14–16]. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s Raney niklem modifikovaným kyselinou vinnou za působení ultrazvuku[17,18]. Takto připravený katalyzátor vykazoval vysokou aktivitu a zároveň vysokou enantioselektivitu (98 %) jak při hydrogenaci β-ketoesterů, tak i β-diketonů. Poměrně novým způsobem modifikace niklových katalyzátorů je modifikace *in situ*. Tyto modifikace jsou hlavní metodou pro enantioselektivní hydrogenace za použití cinchoninem modifikovaného platinového nebo palladiového katalyzátoru.

O modifikacích *in situ* v systémech s niklovými katalyzátory bylo zveřejněno pouze několik studií. V práci Osawy a spol.[19] byl použit při modifikacích *in situ* jako zdroj katalyzátoru jemný niklový prášek. Přídavkem kyseliny vinné a NaBr do reakčního prostředí bylo dosaženo 80% enantioselektivity při hydrogenacích methyl-acetoacetátu. Harada a spol.[20,21] uvádějí, že niklový prášek modifikovaný *in situ* malým množstvím roztoku kyseliny vinné, NaBr a kyseliny octové lze použít opakovaně. Po deseti opakovaných použitích tohoto katalyzátoru v hydrogenační reakci nebyl zaznamenán výraznější pokles v selektivitě a při dalších opakováních byl obdržen stabilní optický výtěžek 89 %. Katalyzátor byl mezi hydrogenacemi pouze promyt rozpouštědlem bez další modifikace. Katalyzátor byl použit opakovaně ve třiceti reakčních cyklech bez výraznějších změn v enantioselektivitě. Při tomto způsobu modifikace nenastávají korozívní změny niklového katalyzátoru, které ve velké míře přispívají k dezaktivaci a nestabilní adsorpci modifikátoru na povrchu niklu. Modifikace *in situ* představuje velmi slibný postup přípravy enantioselektivních heterogenních katalyzátorů s poměrně vysokou enantioselektivitou a s možností opakovatelného použití. Ačkoliv modifikované niklové katalyzátory nejsou aplikovány v průmyslovém měřítku, byly s úspěchem použity v řadě malotonážních hydrogenací chemických specialit. Jedním z příkladů je několikastupňová syntéza isomerů sexuálního feromonu pilatky borovicové[22], která byla zjednodušena hydrogenací 2-methyl-3-oxobutanoátu katalyzovanou Raney niklem modifikovaným kyselinou vinnou a NaBr. Shodný katalytický systém byl využit pro syntézu biologicky aktivních 3-hydroxykyselin C10–C16 z odpovídajících ketoesterů[23] s optickou čistotou 83–87 %, která se dále zvyšuje krystalizací až na 99 %. Modifikovaný Raney Ni je rovněž účinným katalyzátorem pro asymetrickou hydrogenaci methyl-3-oxo-tetradekanoátu při syntéze tetrahydrolipstatinu[24], pankreatického inhibitoru lipas. Při syntéze je dosahováno 100% výtěžků s 90–92% enantioselektivitou.

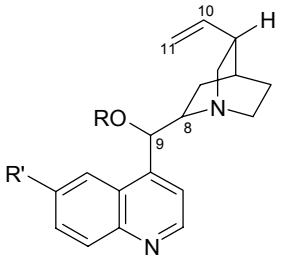


Obr. 1. **Vliv struktury modifikátoru niklových katalyzátorů a substrátu na enantioselektivitu hydrogenací sloučenin s karbonylovou skupinou**[9]

2.2. Modifikované platinové kovy

Orito a spol.[25] publikovali v roce 1979 první studii o aplikaci nosičového platinového katalyzátoru modifikovaného chininovými alkaloidy při enantioselektivních hydrogenacích α-ketoesterů. Ve výzkumu tohoto katalytického systému bylo do současnosti dosaženo značných pokroků. Byly testovány různé kovy platinové řady a rovněž různé druhy modifikátorů[26–28]. Z hlediska aktivity je nejvhodnějším kovem platina, méně pak palladium, rhodium a iridium[29]. Ruthenium a nikl jsou v tomto ohledu neaktivní. Prakticky vždy se používají kovy nanesené na tuhých nosičích[30] (alumina, silika, aktivní uhlí). Nedávno byly také jako nosiče použity zeolity[31]. Nejlepšími modifikátory z chininových alkaloidů jsou cinchonidin a jeho enantiomer cinchonin[32] (obr. 2).

Předmětem výzkumu katalytických vlastností modifikovaných platinových katalyzátorů byla řada substrátů. α-Ketoestery jako ethyl- nebo methylpyruvát však představují bezesporu substráty s nejvyššími optickými výtěžky[34] (obr. 3). Velká pozornost byla rovněž věnována



R = H, R'=H (8*S*, 9*R*) cinchonidin
R = H, R'=H (8*R*, 9*S*) cinchonin
R = H, R'=OMe (8*R*, 9*S*) chinidin
R = H, R'=OMe (8*S*, 9*R*) chinin

Obr. 2. **Struktura modifikátorů platinových katalyzátorů na bázi cinchonidinových alkaloidů[33]**

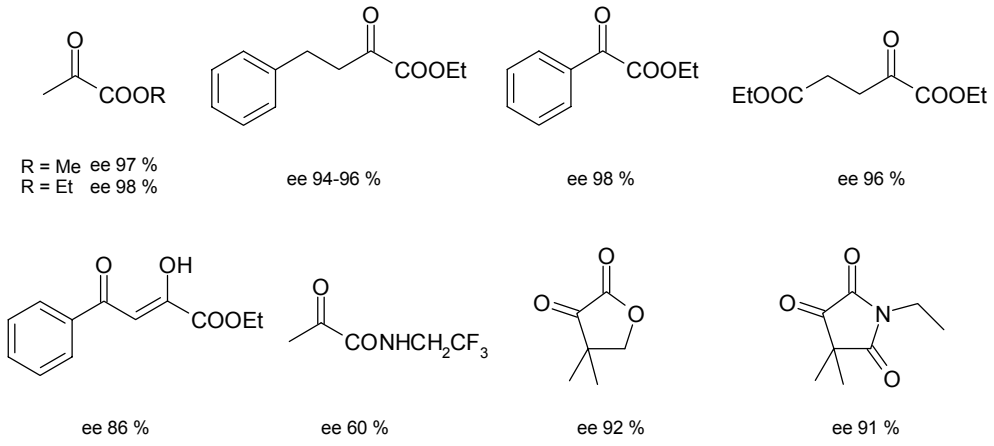
modifikačnímu postupu. Byla testována řada modifikačních strategií (použití koloidní platiny[35], ultrazvuku[36], směsí rozpouštědel[37], kyselých či bazických aditiv[38]) za účelem zvýšení enantioselektivity.

Za použití platinových a palladiových katalyzátorů modifikovaných cinchonidinem a cinchoninem byly v provozním měřítku syntetizovány dva možné meziprodukty pro syntézu vazodilatancia benazeprilu, inhibitoru enzymu konvertujícího angiotensin, methylester (*R*)-4-fenyl-2-hydroxybutanové kyseliny a α-chlorobenzazepinon[39]. Nevýhodou tohoto katalytického systému je, že vysokých selektivit je dosahováno pouze za použití platiny jako katalytického kovu, cinchonidinových alkaloidů jako modifikátorů a α-ketoesterů jako substrátů.

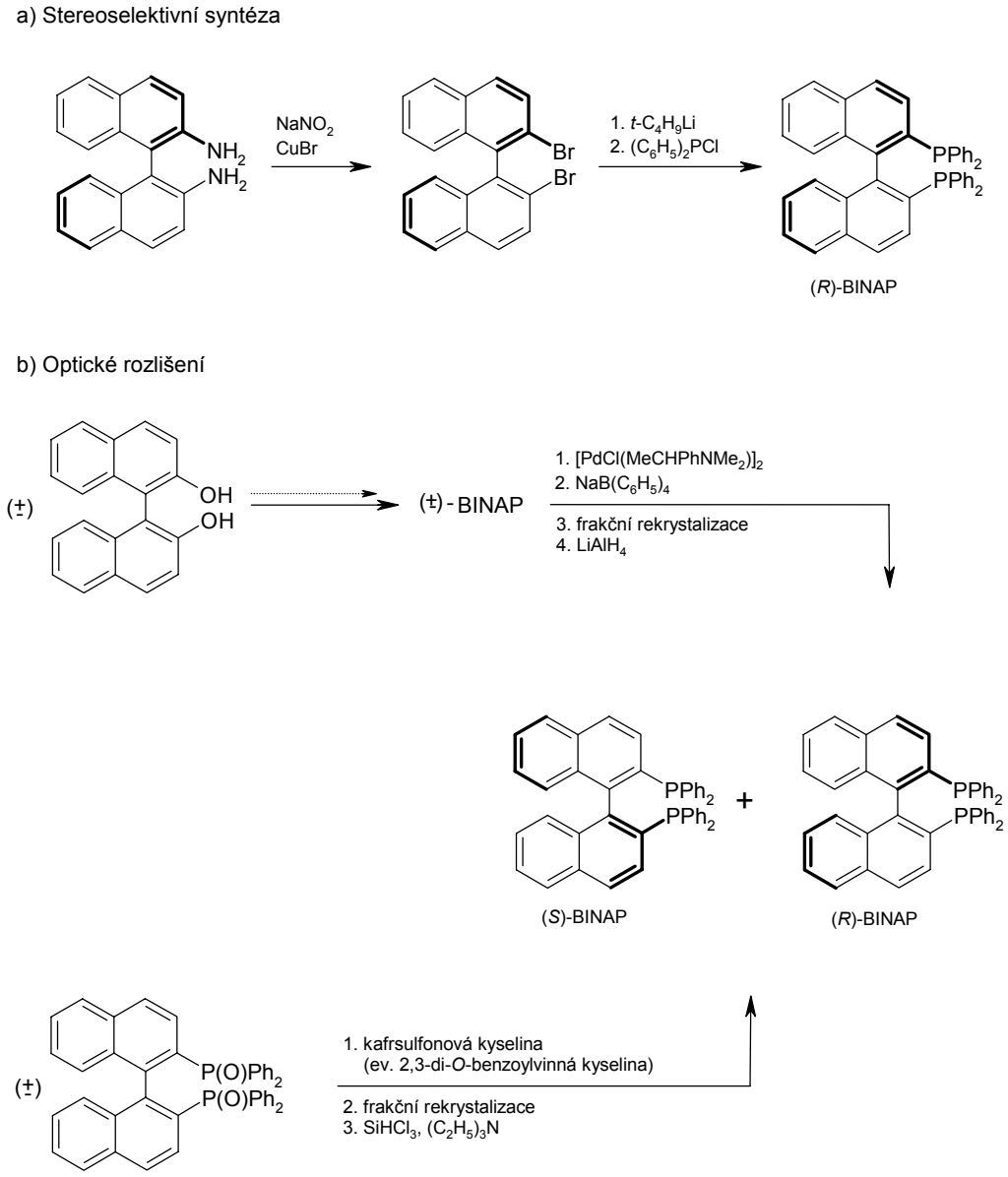
3. Homogenní hydrogenační katalyzátory

V řadě asymetrických hydrogenací poskytují homogenní katalyzátory při použití výborné optické výtěžky a mají vysokou aktivitu za relativně mírných podmínek reakce. V roce 1974 byl skupinou profesora Noyoriho na univerzitě v Nagoyi vyvinut chirální ligand BINAP (2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl)[40], jehož použití v komplexech rhodia a ruthenia znamenalo zásadní převrat v oblasti asymetrických hydrogenací. Syntéza ligandu BINAP byla nad očekávání složitá, neboť na první pohled přímá syntetická cesta vycházející z 2,2'-diamino-1,1'-binaftylu vykazovala řadu stupňů náchylných k racemizaci meziproduktů[41] (obr. 4a). Opticky čistý BINAP se stal běžněji dostupným po objevení postupů založených na optickém rozlišení[42–44] (obr. 4b).

Použití v komplexu s rhodiem se axiálně chirální BINAP dočkal až po roce 1980. Prvních významnějších výsledků bylo dosaženo při použití komplexu BINAP-Rh v syntéze mentholu z myrcenu[45]. V isomerizačním stupni geranyldiethylaminu ve smyslu tvorby (*R*)-citronellal enaminu, bylo dosaženo enantioselektivity 96–99 %, což představovalo výrazně lepší alternativu než získávání dané látky z přírodního růžového oleje (ee 80 %).



Obr. 3. **Substráty hydrogenované za použití platinových katalyzátorů modifikovaných cinchonidinovými alkaloidy[34]**

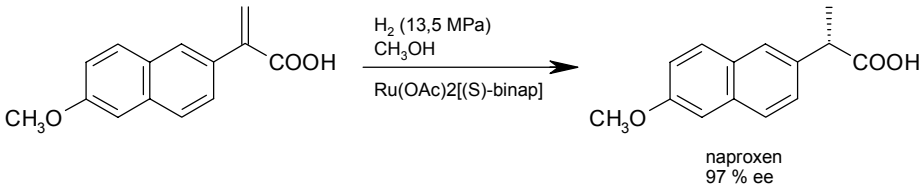


Obr. 4. **Způsoby přípravy chirálního ligandu BINAP**

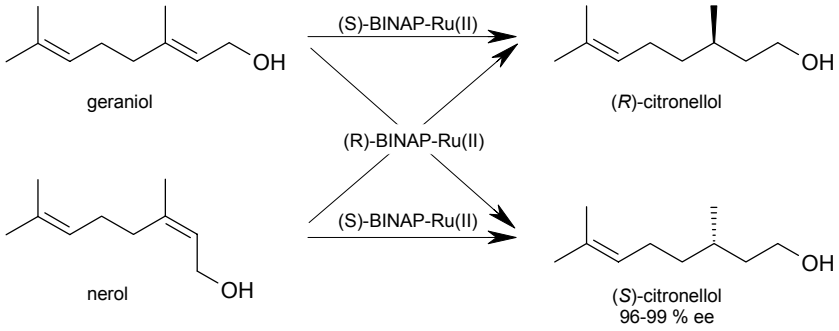
3.1. Ru-BINAP

Velký přelom v oblasti homogenních asymetrických hydrogenací znamenalo objevení katalytických vlastnosti ligandu BINAP v komplexech ruthenia[46]. Ru(II) komplexy dikarboxylátu BINAP (cit.[47,48]) jsou velmi účinným katalyzátorem hydrogenací funkcionalizovaných alkenů. Byly s úspěchem použity i u řady substrátů ze skupiny α,β-nenasycených karboxylových kyselin. Nejvýznamnějším příkladem aplikace v této třídě je hydrogenační stupeň při syntéze antiflogistika naproxenu[49], při němž je se 100% výtěžkem získáván naproxen s enantioselektivitou 97 % (obr. 5).

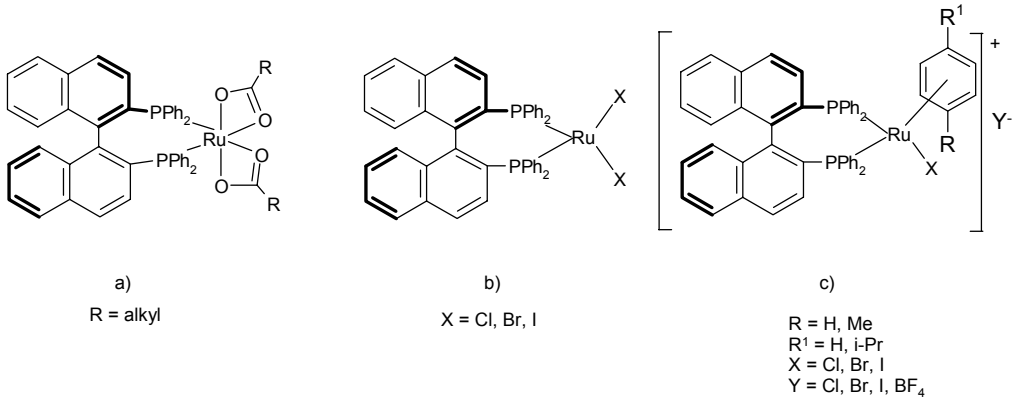
Hydrogenace enamidů s vysokou enantioselektivitou vytváří podmínky k účinné asymetrické syntéze isochinolinových alkaloidů[50]. Hydrogenační stupeň syntézy tetrahydropapaverinu vykazuje při použití komplexu $Ru(OCOCH_3)_2$-BINAP optický výtěžek převyšující 99,5 %, což usnadňuje syntézu opticky čistých derivátů tetrahydropapaverinu tretochinolu, norretikulinu, laudanosinu a salsolidinu, jejichž syntézy[51] mají optické výtěžky v rozmezí 96–99,5 %. Stupeň asymetrické hydrogenace při syntéze isochinolinových alkaloidů poskytuje přímou cestu k přípravě opticky čistých opioidů, morfinu, kodeinu a dalších farmaceuticky významných analgetik a antitusik. Hydrogenace 2-(acylamino)skořicové kyseliny či β-(acyl-



Obr. 5. **Hydrogenační stupeň syntézy naproxenu**[49]



Obr. 6. **Hydrogenace geraniolu a nerolu ve smyslu tvorby (*R*) a (*S*)-citronellolu**



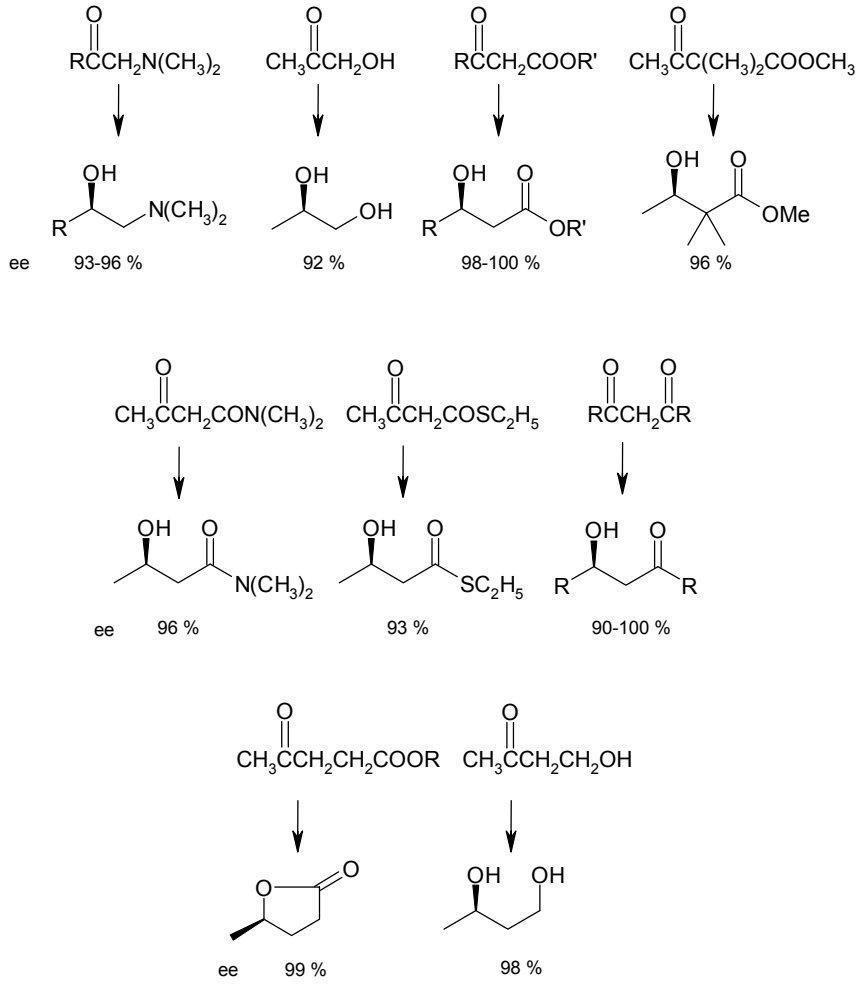
Obr. 7. **Formy komplexních katalyzátorů Ru-BINAP pro hydrogenaci: I. olefinů** a) [Ru(OCOR)$_2$(binap)]; **II. karbonylových sloučenin** b) [RuX$_2$(binap)], c) [RuX(aren)(binap)]Y

amino)akrylové kyseliny vede k získání α- či β-aminokyselin s vysokou enantioselektivitou[52] (ee 96–100 %). Z oblasti chemických specialit je významná hydrogenace vonných látek geraniolu a nerolu[53], která vede k získání jednotlivých optických isomerů citronellolu (obr. 6).

Vřazení asymetrického hydrogenačního stupně za použití dikarboxylátového katalyzátoru Ru-BINAP je významným krokem při syntéze α-tokoferolu[54], intermediátů karbapenových antibiotik[55] či stavebních bloků prostaglandinů[56].

Dikarboxylátové komplexy Ru-BINAP, které jsou vysoce účinné při hydrogenacích široké škály sloučenin obsahujících C=C vazbu, jsou neefektivní při hydrogenacích β-ketoesterů. Reaktivita v prostředí polárního rozpouštědla je nízká a enantioselektivita velmi nedostačující. Karboxylátové ligandy rutheniového komplexu mohou být v prostředí silné kyseliny zaměněny za jiné anionty. Komplexy obsahující halogen s empirickým vzorcem [RuX$_2$(binap)] (X = Cl, Br, I) lze připravit[57] smícháním [Ru(OCOR)$_2$(binap)] s HX nebo $(CH_3)_3SiI$ v molárním poměru 1:2. Syntézou vycházející z komerčně dostupných prekurzorů [RuCl$_2$(benzen)]$_2$ či [RuCl$_2$(*p*-cymen)]$_2$ a ligandu BINAP v dimethylformamidu při 373 K lze připravit kationtové komplexy[58] se strukturním vzorcem [RuX(aren)(binap)]Y (X = halogen, Y = halogen nebo BF_4). Oba typy komplexů obsahující halogeny jsou vynikajícími katalyzátory hydrogenací sloučenin s karbonylovou funkcí (obr. 7).

Komplexy Ru-BINAP obsahující halogeny jsou účinnými katalyzátory hydrogenací sloučenin s keto skupinou

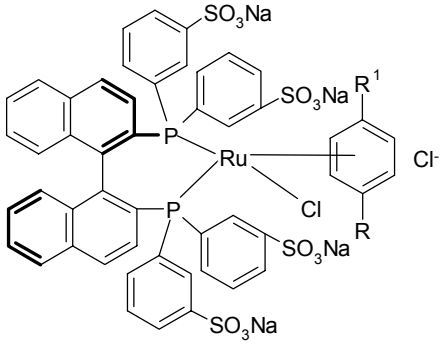


Obr. 8. **Substráty s karbonylovou skupinou v β či γ poloze hydrogenované za použití katalyzátorů Ru-BINAP**

jak v β-, tak v γ- poloze vůči karboxylové skupině či jejímu derivátu[59]. Optické výtěžky se prakticky u všech hydrogenací β-ketosloučenin pohybovaly v oblasti nad 90 % ve smyslu tvorby příslušných β-hydroxysloučenin. Hydrogenace γ-ketoesterů a γ-ketoalkoholů probíhala za tvorby příslušných γ-laktonů či 1,3-diolů s enantioselektivitou překračující 98 % (obr. 8).

3.2. Imobilizace BINAP komplexů na anorganických nosičích

Mimořádné katalytické vlastnosti homogenních komplexů Ru-BINAP vedly ke snaze tyto vysoce selektivní a aktivní katalyzátory imobilizovat. Při zachování jejich selektivity a aktivity by totiž představovaly ideální katalyzátor, spojující přednosti homogenní katalýzy s provozními výhodami heterogenních katalyzátorů. Jedním z prvních pokusů bylo zachycení ve vodě rozpustného komplexu [RuCl(binap($SO_3Na)_4$)(C_6H_6)]Cl (obr. 9) ve formě tenkého filmu vodného roztoku na matrici tvořené kuličkami hydrofilního porézního skla[60]. Takto zachycený katalyzátor byl schopen velmi účinně katalyzovat hydrogenaci intermediátu naproxenu ve dvoufázovém reakčním prostředí voda/ethylacetát. Zachycené katalyzátory projevovaly vysokou aktivitu vůči neimobilizovaným sulfono-



Obr. 9. **Ve vodě rozpustný komplex [RuCl(aren) (binap ($SO_3Na)_4$)]Cl, (R, R_1 = H, alkyl)**

vaným komplexům BINAP díky zvětšení mezifázového rozhraní, bylo s nimi však dosaženo poměrně nízké enantioselektivity 70 %. Tento způsob zachycení imobilizované vodné fáze byl později vylepšen záměnou nanášení ethylenglykolového filmu s rozpuštěným [RuCl(binap(SO_3Na)$_4$)(C_6H_6)]Cl. Komplex zachycený v imobilizované kapalné fázi vykazoval velmi dobrou enantioselektivitu 96 %, aktivitu srovnatelnou s katalyzátorem s nanesenou vodnou fází. Nepatrné množství ruthenia vylouženého do reakční směsi prokázalo, že systém je opravdu heterogenní[61].

Další cestou k získání heterogenního katalyzátoru na bázi komplexu Ru-BINAP a anorganického nosiče bylo použití vnějšího povrchu zeolitů jako efektivní matrice. Jacobs a spol.[62] využil elektrostatických interakcí kyselého β-zeolitu s komplexem [RuCl((*R*)-binap)(*p*-cymen)]Cl. Takto zachycený komplex katalyzoval hydrogenaci methylacetoacetátu s enantioselektivitou 95 %.

Podobným způsobem se Jacobs a spol.[63] pokusil zachytit sulfonovaný komplex Ru-BINAP na vrstevnatých hydroxidech iontovou výměnou. Takto připravený katalyzátor byl použit při hydrogenaci geraniolu s dobrým optickým výtěžkem.

3.3. Zakotvení katalyzátorů Ru-BINAP s využitím polymerních materiálů

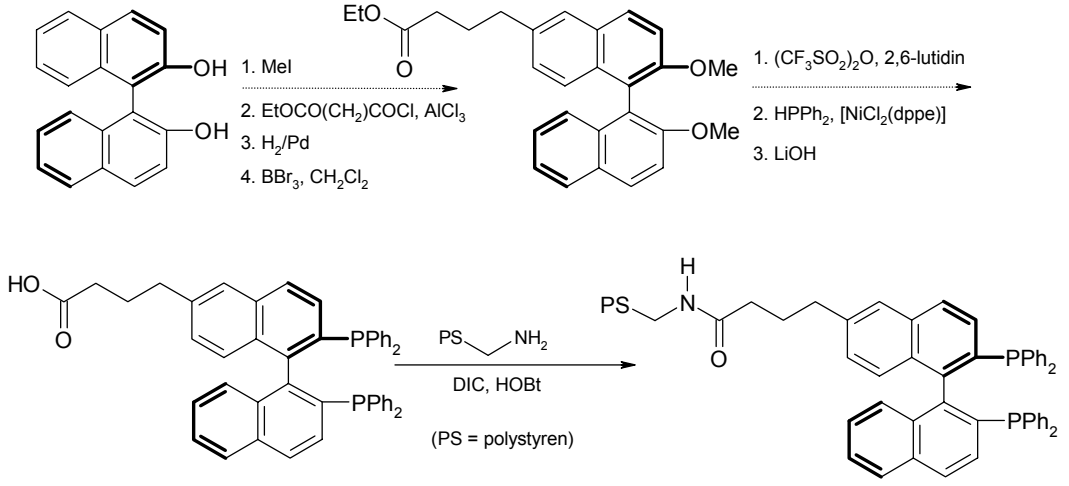
Jedním ze způsobů imobilizace komplexů Ru-BINAP je zachycení v řadě typů polymerních membrán. V roce 1996 Vankelecom a spol.[64] zakotvili [RuCl((*R*)-binap)(*p*-cymen)]Cl v elastomerním typu poly(dimethylsiloxanové) (PDMS) membrány. Komplex zachycený v této membráně byl testován při hydrogenaci methylacetoacetátu s enantioselektivitou 70 %. Lepších výsledků bylo posléze dosaženo přídavkem 4-methylbenzensulfonové kyseliny do membrány jako zdroje Brönstedovských kyselých center[65]. S takto modifikovanou membránou bylo zaznamenáno zvýšení ee na 92 %.

V roce 1998 Bayston a spol.[66] zakotvili ligand BINAP kovalentní vazbou na povrchově funkcionalizovaném polystyrenu (obr. 10). Několikastupňová syntéza ligandů opatřeného spojkou (spacerem) umožnila připravit katalyzátor, který byl schopen hydrogenovat β-ketoestery se 100% konverzí a enantioselektivitou až 90 %. Při testování opakovatelnosti použití takto heterogenizovaného katalyzátoru bylo prokázáno, že jeho aktivita i selektivita zůstávají i po několika opakovaných použitích v hydrogenaci vysoké.

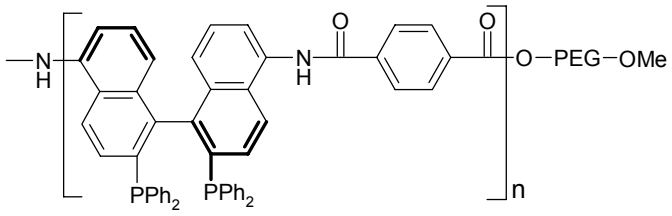
S použitím směsi rozpouštědel propan-2-olu a DMF dosáhl Noyorim a spol.[67] lepšího přenosu hmoty ve zbotnalém polymeru a tedy i vyšší aktivity i po několika použitích. Hydrogenace 1-acetylnaftalenu a β-ikononu poskytovaly i po 11 opakovaných použitích 100% konverzi s ee 97 % pro první substrát a ee 80 % pro druhý.

Strategie zabudování ligandů BINAP do polymerního řetězce byla s úspěchem použita při postupu vycházejícím z kopolymerace 5,5'-diamino-(*R*)-BINAP, (*S*,*S*)-pentan-2,4-diolu a chloridu kyseliny tereftalové[68]. Po následné komplexaci s prekurzorem ruthenia byl tento katalyzátor použit v hydrogenačním stupni syntézy naproxenu s konverzí až 95 % a optickým výtěžkem 90 %. Podobným postupem vycházejícím z ligandu 5,5'-diamino-(*R*)-BINAP byl připraven rozpustný dendrimer[69], který jako katalyzátor po komplexaci s rutheniem měl enantioselektivitu 92,8 % v hydrogenačním stupni syntézy ibuprofenu. Po vysrážení katalyzátoru z reakční směsi methanolem měly recyklovaný katalyzátor polyester-Ru-BINAP i dendrimerní Ru-BINAP stejné aktivity i optické výtěžky při opakovaném použití. Přímá polykondenzace 5,5'-diamino-(*R*)-BINAP, chloridu kyseliny tereftalové a monomethylesteru polyethylenglykolu vedla k syntéze řetězce[70] schopného po komplexaci s prekurzorem ruthenia katalyzovat hydrogenace 2-arylakrylových kyselin v methanolu s optickým výtěžkem až 90 %. Imobilizovaný katalyzátor vykazoval hodnoty enantioselektivity při nižší teplotě a vyšším tlaku než jeho homogenní protějšek (obr. 11).

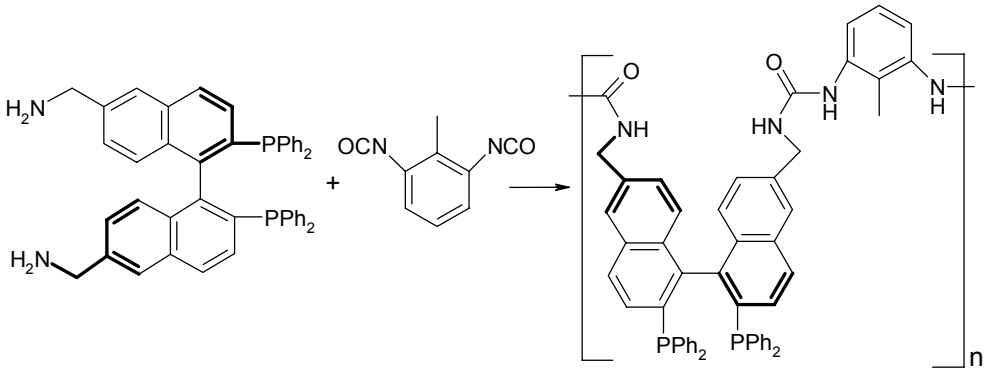
Podobným způsobem připravený katalyzátor, při jehož přípravě je ovšem použit polyethylenglykol,



Obr. 10. **Imobilizace komplexu Ru-BINAP na povrchově funkcionalizovaném polystyrenu**



Obr. 11. **Ligand BINAP zabudovaný v řetězci MeO-PEG**



Obr. 12. **(6,6'-bis(aminomethyl)BINAP) v polyurethanovém řetězci**

vede k syntéze řady ve vodě rozpustných katalyzátorů PEG-BINAP[71], které byly s úspěchem testovány v řadě dvoufázových hydrogenačních systémů.

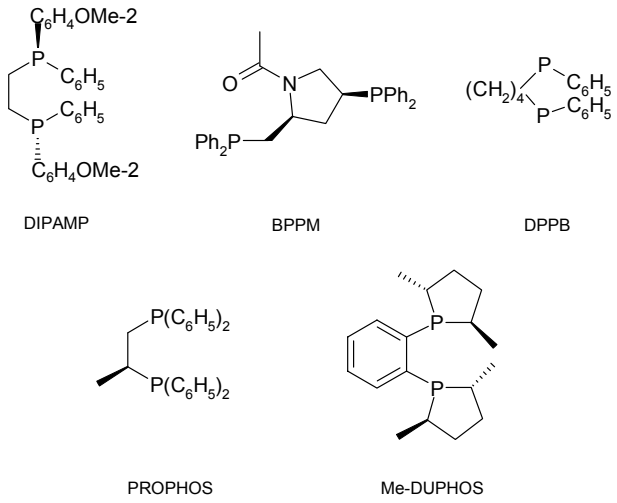
Snaha o zakotvení ligandu BINAP do více či méně rigidního polymerního řetězce vedla k přípravě řady dalších polymerně vázaných ligandů koordinovaných s atomem rhodia (poly(BINAP) Rh)[72] použitých při hydrogenacích derivátů dehydroaminokyselin. Mezi další funkční systémy patří skupinou profesora Noyoriho vyvinutý katalyzátor poly(BINAP)/DPEN/Ru[73] aktivní při hydrogenacích aryl(methyl)ketonů (ee 84 %). Za zmínku rovněž stojí bifunkční polymerní ligand[74] BINOL-BINAP (BINOL - 1,1'-binaftyl-2,2'-diol), který byl po koordinaci s $[RuCl_2(C_6H_6)]_2$ použit při hydrogenaci acetofenonu s optickým výtěžkem 84 % jednotlivých optických isomerů 1-fenylethanolu.

Lemaire a spol.[75] efektivně imobilizovali ligand (6,6'-bis(aminomethyl)-BINAP) reakcí s diisokyanáty za vzniku polyurethanových řetězců. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s komplexem poly-NAP-Ru jehož řetězec byl připraven kopolymerací s toluen-2,6-diisokyanátem. S tímto katalyzátorem byl hydrogenován methylacetoacetát se stabilní 99% enantioselektivitou dokonce po čtyřech použitích (obr. 12).

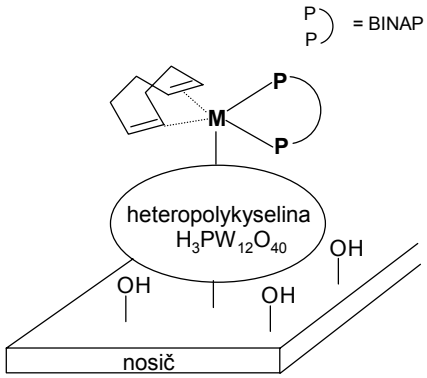
Komplexy imobilizované v polymerech ve většině zmíněných případů projevovaly podobnou aktivitu a selektivitu jako jejich homogenní ekvivalenty[76]. Dá se z toho soudit na poměrně malý vliv struktury polymerního řetězce na katalytické vlastnosti. Dokonce Baystonův ligand vázaný na polystyrenu dokazuje, že i ztráta axiální symetrie nemusí být na úkor enantioselektivity. Ukotvení ligandu BINAP v pozicích 5,5' nebo 6,6' v polymerním řetězci poskytuje cestu k přípravě vysoce aktivních a selektivních heterogenizovaných katalyzátorů.

3.4. Imobilizace heteropolykyselinami

Překvapující výsledky byly publikovány Augustinem a spol.[77], kteří se pokusili zakotvit řadu komplexů rhodia a ruthenia na povrchu různých nosičů s použitím heteropolykyselin. Tento koncept lze aplikovat pro homogenní



Obr. 13. **Ligandy imobilizované heteropolykyselinami**



Obr. 14. **Zakotvení komplexu na povrchu nosiče za účasti heteropolykyseliny**

katalyzátory obsahující ligandy[76] DIPAMP, BPPM, DPPB, PROPHOS, Me-DUPHOS a BINAP (obr. 13). Jako nosiče byly testovány montmorillonit, aktivní uhlí, alumina či oxid lanthaničitý[78] a heteropolykyseliny jako např. $H_3PW_{12}O_{40}\cdot nH_2O$ či další polyoxometaláty na bázi P/Mo, Si/W nebo Si/Mo tvořily spojku (spacer) mezi komplexem a povrchem nosiče (obr. 14).

Jednoduchá příprava těchto katalyzátorů zahrnuje postupné smíchání nosiče s roztokem heteropolykyseliny a posléze s komplexem přechodného kovu. Ze žádného z publikovaných systémů se navyluhoval komplex ani po 15 reakčních cyklech[79]. Aktivita i selektivita těchto komplexů se s rostoucím počtem recyklací nemění, po prvním použití oba parametry dokonce výrazně vzrostou.

Interakce povrch-heteropolykyselina a heteropolykyselina-komplex jsou doposud tématem diskuse, neboť jejich pravý charakter nebyl spolehlivě objasněn. Jednou z koncepcí je interakce van der Waalsovými silami či elektronové interakce. V novějších pracích[80] je vazba přechodný kov-heteropolykyselina prezentována jako kovalentní vazba či jako iontová vazba kov-kyslík heteropolykyseliny. Tento postup přípravy heterogenizovaných katalyzátorů představuje velmi slibnou alternativu k synteticky náročným imobilizačním postupům díky jednoduchosti provedení, poměrně nízkým nákladům a výrazně vyšší efektivitě.

4. Závěr

Asymetrické katalyzátory byly testovány již od počátků výzkumu v oblasti stereoselektivních syntéz. Od počátku 60. let bylo o principech asymetrické katalýzy shromážděno obrovské množství dat, a to jak na poli modifikovaných heterogenních katalyzátorů, tak v oblasti homogenních a následně imobilizovaných homogenních katalyzátorů. Tyto dva přístupy, které stojí často zdánlivě proti sobě, nabízejí řadu perspektivních praktických aplikací a rozšiřují tak možnosti syntézy čistých opticky aktivních isomerů. V současnosti se v katalýze prosazují čisté technologie, založené na vývoji vysoce efektivních katalyzátorů s možností jejich recyklace. Obnovený zájem o homogenní katalýzu a snahy o přenesení jejích předností do systémů se snadnou separací a recyklací může otevřít obrovské možnosti praktického využití. Imobilizace katalyzátorů BINAP dnes představují cestu k získání velmi účinných katalytických systémů s širokou aplikovatelnosti při hydrogenacích celé řady substrátů významných pro syntézu farmaceutických substancí, vonných a chuťových látek a agrochemikálií. Imobilizace založené na různých principech, počínaje prostým nanášením homogenních katalyzátorů na anorganické nosiče, přes sofistikovanější metody zachycení v kavitách a pórech zeolitů a mezoporézních látek až po synteticky náročné zabudování funkcionalizovaných ligandů kovalentními vazbami v polymerních řetězcích ať už přímo nebo přes vhodné spojky (spacery) našly svoje uplatnění nejen v oblasti enantioselektivních a regioselektivních hydrogenací, ale i při isomeracích, epoxidacích, oxidacích, vzniku vazeb C–C, hydroformylacích, a v řadě dalších reakcí. Nabízí se tak velmi perspektivní cesta k syntézám splňujícím požadavky na vysokou selektivitu, vysoké výtěžky a nízké ekonomické náklady.

Pokud bychom se chtěli pokusit vyjádřit trend a budoucí směřování asymetrické syntézy, nemůžeme se vyhnout pojmu interdisciplinarita. Účelem není připravit více či méně čistou opticky aktivní látku, ale s použitím sofistikovaných syntetických postupů připravit látku, která bude splňovat náročné požadavky medicíny a farmakologie. Příkladem je aplikace isotopově značených sloučenin, připravených za použití katalyzátorů BINAP, jako kontrastních látek v positronové emisní tomografii mozku. Dalším poučným příkladem je pokračování kauzy léčiva, které bylo zmíněno na samém začátku tohoto článku – thalidomidu. Léčivo, které způsobilo tragédii mnoha lidem, pomohlo odstartovat dynamický rozvoj celé oblasti asymetrické syntézy, způsobilo, že chemie dnes úzce spolupracuje s medicínou a farmakologií. Vyřešení problému teratogenních a mutagenních účinků tohoto léčiva umožnilo další výzkum jeho farmakologických účinků a thalidomid je dnes úspěšně testovaným lékem při akutní myeloidní leukémii, lepře a celé řadě karcinomů.

LITERATURA

1. Von Moos R., Stoly R., Cerny T., Gillessen S.: Swiss Med. Weekly *133*, 77 (2003).
2. Stinson S. C.: Chem. Eng. News *79*, 45 (2001).
3. Noyori R.: Adv. Synth. Catal. *345*, 15 (2003).
4. Baiker A., v knize: *Chiral Catalyst Immobilization and Recycling*. (De Vos D. E., Vankelecom I. F. J., Jacobs P. A., ed.), kap. 7. Wiley, Weinheim 2000.
5. Izumi Y., Imaida M.,Fukawa H., Akabori S.: Bull. Chem. Soc. Jpn. *36*, 155 (1963).
6. Osawa T., Harada T., Takayasu O.: Topics. Catal. *13*, 155 (2000).
7. Kukula P., Červeny L.: Chem. Listy *93*, 500 (1999).
8. Izumi Y, Imaida M., Fukawa H., Akabori S.: Bull.

Chem. Soc. Jpn. *36*, 21 (1963).
9. Studer M., Blaser H. U., Exner Ch.: Adv. Synth. Catal. *345*, 45 (2003).
10. Kukula P., Cerveny L.: J. Mol. Catal., A *185*, 195 (2002).
11. Bennet A., Christie S., Keane M. A., Peacock R., Webb G.: Catal. Today *10*, 363 (1991).
12. López-Martínez A., Keane M. A.: J. Mol. Catal., A *153*, 257 (2000).
13. Kukula P., Červený L.: Appl. Catal., A *210*, 237 (2001).
14. Keane M. A.: Langmuir *13*, 41 (1997).
15. Web G., Wells P. B.: Catal. Today *12*, 319 (1992).
16. Osawa T., Mita S., Iwai A., Takayasu O., Hashiba H., Hashimoto S., Harada T., Matsura I.: J. Mol. Catal., A *157*, 207 (2000).
17. Tai A., Kikukawa T., Sugimura T., Inoue Y., Abe S., Osawa T., Harada T.: Bull. Chem. Soc. Jpn. *67*, 2473 (1994).
18. Tai A., Kikukawa T., Sugimura T., Inoue Y., Abe S., Osawa T., Harada T.: Stud. Surf. Sci. Catal. *75*, 2443 (1993).
19. Osawa T., Ozawa A., Harada T., Takayatsu O.: J. Mol. Catal., A *154*, 271 (2000).
20. Osawa T., Sakai S., Deguchi K., Harada T., Takayasu O.: J. Mol. Catal., A *185*, 65 (2002).
21. Osawa T., Ozaki N., Harada T., Takayasu O.: Bull. Chem. Soc. Jpn. *75*, 2695 (2002).
22. Tai A., Morimoto M.N., Yoshikawa M., Uehara K., Sugimura T., Kikukawa T.: Agric. Biol. Chem. *54*, 1753 (1990).
23. Nakahata M., Imaida M., Ozaki H., Harada T., Tai A.: Bull. Chem. Soc. Jpn. *55*, 2186 (1982).
24. Schmid R., Broger E. A., Cereghetti M., Crameri Y., Foricher J., Lalonde M., Muller R. K., Scalone M., Schoettel G., Zutter U.: Pure and Appl. Chem. *68*, 131 (1996).
25. Orito Y., Imai S., Niwa S.: Nippon Kagaku Kaishi *8*, 1118 (1979).
26. Blaser H. U., Jalett H. P., Müller M., Studer M: Catal. Today *37*, 441 (1997).
27. Blaser H. U.: Tetrahedron: Asymmetry *2*, 843 (1991).
28. Baiker A.: J. Mol. Catal., A *115*, 473 (1997).
29. Wehrli J. T., Baiker A., Monti D. M., Blaser H. U.: J. Mol. Catal. *61*, 207 (1990).
30. Blaser H. U., Jalett H. P., Monti D. M., Reber J. F., Wehrli J. T.: Stud. Surf. Sci. Catal. *41*, 153 (1988).
31. Reschetilowski W., Böhmer U., Wheil J.: Stud. Surf. Sci. Catal. *84*, 2021 (1994).
32. Blaser H. U., Jalett H. P., Lottenbach, W., Studer, M.: J. Am. Chem. Soc. *122*, 12675 (2000).
33. Margitfalvi J. L., Talas E., Tfirst E.: Chim. Oggi *18*, 46 (2000).
34. Bartok M., Balazsik K., Bartok T., Kele Z.: Catal. Lett. *87*, 235 (2003).
35. Margitfalvi J. L., Talas E., Yakhyaeva L., Tfirst E., Bertoti I., Toth L.: Chem. Ind. *89*, 393 (2003).
36. Toeroek B., Balazsik K., Toeroek M., Felfoeldi K., Bartok M.: Catal. Lett. *81*, 55 (2002).
37. Perosa A., Tundo P., Selva M.: J. Mol. Catal., A *180*, 169 (2002).
38. Blaser H. U., Jalett H. P., Wiehl J.: J. Mol. Catal. *68*, 215 (1991).
39. Blaser H. U., Jalett H. P., Sedelmeier G.: Eur. Pat. Appl. EP 206993; Chem. Abstr. *107*, 77434 (1986).
40. Miyashita A., Yasuda A., Takaya H., Toriumi K., Ito T., Souchi T., Noyori R.: J. Am. Chem. Soc. *102*, 7932 (1980).
41. Miyashita A., Takaya H., Souchi T., Noyori R.: Tetrahedron *40*, 1245 (1984).
42. Brown K. J., Berry M. S., Waterman K. C., Lingenfelter D., Murdoch J. R.: J. Am. Chem. Soc. *106*, 4717 (1984).
43 Takaya H., Mashima K., Koyano K., Yagi M., Kumobayashi H., Taketomi T., Akutagawa S., Noyori R.: J. Org. Chem. *51*, 629 (1986).
44. Cai D., Payack J. F., Bender D. R., Hughes D. L., Verhoeven T. R., Reider P. J.: Org. Synth. *76*, 6 (1998).
45. Akutagawa S. v knize: *Chirality in Industry: The Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Collins A. N., Sheldrake G. N., Crosby J., ed.), kap. 16. Wiley, Chichester 1992.
46. Noyori R., Ohta M., Hsiao Y., Kitamura M., Ohta T., Takaya H.: J. Am. Chem. Soc. *108*, 7117 (1986).
47. Kitamura M., Tokunaga M., Noyori R.: J. Org. Chem. *57*, 4053 (1992).
48. Takaya H., Ohta T., Inoue S., Tokunaga M., Kitamura M., Noyori R.: Org. Synth. *72*, 74 (1993).
49. Akutagawa S.: Appl. Catal., A *128*, 171 (1995).
50. Ramos Tombo G. M., Bellus G.: Angew. Chem. *103*, 1219 (1991).
51. Ohkuma T., Kitamura M., Noyori R., v knize: *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 2. vyd. (Ojima I., ed), kap. 1. Wiley-VCH, New York 2000.
52. Lubell W. D., Kitamura M., Noyori R.: Tetrahedron: Asymmetry *2*, 543 (1991).
53. Inoue S., Osada M., Koyano K., Takaya H., Noyori R.: Chem. Lett. *7*, 1007 (1985).
54. Inoue S., Takaya H., Tani K., Otsuka S., Sato T.: J. Am. Chem. Soc. *112*, 4897 (1990)
55. Kitamura M., Nagai K., Hsiao Y., Noyori R.: Tetrahedron Lett. *31*, 549 (1990).
56. Noyori R.: Chemtech *22*, 360 (1992).
57. Taber D. F., Silverberg L. J. Tetrahedron Lett. *32*, 4227 (1991).
58. Hoke J. B., Hollis L. S., Stern E. W.: J. Organomet. Chem. *455*, 193 (1993).
59. Noyori R.v knize: *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, kap 1., Wiley, New York 1994.
60. Wan K. T., Davis M. E.: J. Catal. *152*, 25 (1995).
61. Wan K. T., Davis M. E.: US. Pat. Appl. US 5935892, A1/19990810 (1999).
62. Van Brussel W., Renard M., Tas D., Rane V. H., Parton R., Jacobs P. A.: Int. Pat. Appl. WO 9714500, A1/19970424 (1997).

63. Tas D., Jeanmart D., Parton R. F., Jacobs P. A.: Stud. Surf. Sci. Catal. *108*, 493 (1997).
64. Vankelecom I. F. J., Tas D., Parton R. F., Van de Vyver V., Jacobs P. A.: Angew. Chem. *35*, 1346 (1996).
65. Tas D., Thoelen C., Vankelecom I. F. J., Jacob P. A.: Chem. Commun. *23*, 2323 (1997).
66. Bayston D. J., Fraser J. L., Ashton M. R., Baxter A. D., Polywka M. E. C., Moses E.: J. Org. Chem. *63*, 3137 (1998).
67. Ohkuma T., Takeno H., Honda Y., Noyori R.: Adv. Synth. Catal. *343*, 369 (2001).
68. Fan Q.-H., Deng G.-J., Lin C.-C., Chan A. S. C.: J. Am. Chem. Soc. *121*, 7407 (1999).
69. Fan Q.-H., Chen Y.-M., Chen X.-M., Jiang D-Z., Xi F., Chan A. S. C.: Chem. Commun. *9*, 789 (2000).
70. Fan Q.-H., Ren C.-Y., Yeung C.-H., Hu W.-H., Chan A. S. C.: Tetrahedron: Asymmetry *12*, 1241 (2001).
71. Lamouille T., Saluzzo C., Ter Halle R., Le Guyader F., Lemaire M.: Tetrahedron Lett. *42*, 663 (2001).
72. Yu H.-B., Hu Q.-S., Pu L.: Tetrahedron Lett. *41*, 1681 (2000).
73. Ohkuma T., Doucet H., Pham T., Mikami K., Korenaga T., Terada M., Noyori R.: J. Am. Chem. Soc. *120*, 1086 (1998).
74. Yu H.-B., Hu Q.-S., Pu L.: J. Am. Chem. Soc. *122*, 6500 (2000).
75. Lemaire M., Ter Halle R., Schulz E., Colasson B., Spagnol M., Saluzzo C., Lamouille T.: Int. Pat. Appl. WO 2000052081, A1/20000908 (2000).
76. Saluzzo C., Lemaire M.: Adv. Synth. Catal. 344, 915 (2002).
77. Augustine R. L., Tanielyan S. K., Anderson S., Gao Y.: Precious Met. 24, 1 (2001).
78. Tanielyan S. K., Augustine R. L.: Int. Pat. Appl. WO 9964154, A1/19991216 (1999).
79. Vankelecom I. F. J., Jacobs P. A., v knize: Chiral Catalyst Immobilization and Recycling (De Vos D. E., Vankelecom I. F. J., Jacobs P. A., ed.), kap. 2. Wiley, Weinheim 2000.
80. Augustine R. L., Tanielyan S. K., Mahata N., Gao Y., Zsigmond A., Yang H.: Appl. Catal., A 256, 69 (2003).

L. Bartek, P. Klusoň, and L. Červený *(Department of Organic Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague):* **Recent Progress in Asymmetric Hydrogenation Catalysis**

Asymmetric catalysis has become an essential part of many processes in the production of chiral fine chemicals. The review summarizes the progress in enantioselective catalysis in recent years. The review is focused on advances in the field of heterogeneous, homogeneous and immobilized enantioselective hydrogenation catalysts. The most promising methods in the research and development of modified metals, Ru-BINAP complexes and immobilization procedures are discussed. Since the beginning of asymmetric catalysis research, many stereoselective syntheses have been put into practice on industrial scale. Heterogeneous and homogeneous approaches used in this field suggest the chances of immobilization as a technique that combines the advantages of both of them. The most useful heterogenisation techniques are presented.

Redakce oznamuje čtenářům,

že v prosincovém čísle 2005 připravuje vydání série článků zaměřených na **nanomateriály a nanotechnologie**. Rukopisy je třeba dodat na adresu redakce nejpozději do konce září 2005.

PREBIOTICKÝ ÚČINEK GALAKTOOLIGOSACHARIDŮ A VYUŽITÍ LAKTOSY PRO JEJICH PRODUKCI

JANA RUDOLFOVÁ a LADISLAV ČURDA

Ústav technologie mléka a tuků, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
ladislav.curda@vscht.cz

Došlo 29.4.04, přepracováno 25.11.04, přijato 6.12.04.

Klíčová slova: DOPLNIT

Obsah

1. Úvod
2. Probiotika, jejich vliv na konzumenta a látky ovlivňující jejich životaschopnost a aktivitu
   2.1. Růstové faktory
   2.2. Prebiotika a jejich účinek
3. Nestravitelné oligosacharidy
   3.1. Laktulosa, laktitol, kyselina laktobionová
   3.2. Fruktooligosacharidy
   3.3. Galaktooligosacharidy
4. Hydrolýza laktosy a transgalaktosylace
   4.1. Hydrolýza laktosy, laktosová intolerance
   4.2. Transgalaktosylace, podmínky pro produkci galaktooligosacharidů
      4.2.1. Vliv koncentrace laktosy
      4.2.2. Vliv zdroje a koncentrace enzymu
      4.2.3. Vliv pH a teploty
      4.2.4. Vliv přítomnosti různých minerálních látek
      4.2.5. Vliv imobilizace
5. Využití nestravitelných oligosacharidů v mlékárenské technologii

1. Úvod

Funkční potraviny jsou jednou z oblastí potravinářského průmyslu s největší dynamikou růstu. Přímo nebo preventivně ovlivňují zdraví konzumenta, a tím jsou pro spotřebitele atraktivní. Mezi takové potraviny patří také ty, jež obsahují probiotické kultury nebo prebiotické sacharidy. Slovo probiotikum pochází z řeckého pro bios (pro život) a používá se pro živé mikroorganismy (převážně bakterie mléčného kvašení), které pozitivně ovlivňují složení a vlastnosti střevní mikroflóry konzumenta. Prebiotika jsou naproti tomu nestravitelné složky potravy (převážně komplexní cukry), které selektivně stimulují růst nebo aktivitu některých kultur střevní mikroflóry (prebiotik). Na rozdíl od růstových faktorů, které podporují růst a životaschopnost mikroorganismů *in vitro* (při kultivaci v laboratoři), prebiotika působí *in vivo* (přímo v tlustém střevě). Zřejmě prvním prebiotikem, se kterým se lidský organismus setká, je laktosa (mléčný disacharid složený z glukosy a galaktosy). Mateřské mléko má vysoký obsah laktosy (více než 7 %), všechna nemůže být hydrolyzována a metabolizována v tenkém střevě, velká část se dostává do tlustého střeva a slouží k výživě probiotických mikroorganismů, bifidobakterií a laktobacilů. Laktosa může být také surovinou pro produkci dalších prebiotických sacharidů, čehož by se mohlo využít při zpracování syrovátky, jejíž hlavní složkou je právě laktosa (70 % sušiny). Při výrobě sýrů se totiž ročně vyprodukuje na celém světě více než 150 mil tun syrovátky (na 1 kg sýra připadá průměrně 10 l syrovátky) a celosvětová produkce sýrů neustále stoupá. Syrovátka je málo využitá, vyrábí se z ní koncentráty syrovátkových bílkovin (WPC) a jinak bývá zkrmována hospodářskými zvířaty.

2. Probiotika, jejich vliv na konzumenta a látky ovlivňující jejich životaschopnost a aktivitu

Bakterie mléčného kvašení, zvláště bifidobakterie, vstupující do organismu při konzumaci kysaných mléčných výrobků, přežívají v nezanedbatelném počtu v prostředí trávicího traktu (jsou tolerantní vůči kyselému prostředí a žlučovým solím) a jejich produkty mají různé zdraví prospěšné vlastnosti[1]. Bifidogenní mikroflóra zajišťuje β-oxidasami hydrolýzu prebiotik na monomerní jednotky a v druhé fázi je metabolizuje na těkavé mastné kyseliny (octovou, propionovou, mléčnou, máselnou) a plyny[2] (CO_2, H_2, CH_4). Vznikající krátké řetězce mastných kyselin jsou nejen zdrojem energie, ale stimulují také střevní peristaltiku a kyselina máselná má navíc ochranný vliv na buňky intestinální mukosy. Kyselina octová a mléčná snižují pH a v důsledku toho se zlepšuje absorpce některých minerálů (železo, vápník) ve střevech a klesá počet patogenních mikroorganismů (*Clostridium perfringens*), které kyselé prostředí nesnášejí. Následně se snižuje také obsah hnilobných produktů v moči a stolici a předchází se průjmům. Některé kmeny *Lactobacillus acidophilus* asimilují cholesterol z prostředí, jiné zase inhibují absorpci cholesterolových micel střevní stěnou, a tak se snižuje obsah cholesterolu v krevním séru. Nezanedbatelná je také produkce vitaminů B_1, B_2, B_6, B_{12}, kyselin nikotinové a listové[1–4]. V rámci celoevropského projektu s názvem Demonstration of the Nutritional Functionality of Probiotic Foods (zkráceně PROBDEMO) byla potvrzena stimulace imunitního systému i zmírnění projevů alergických reakcí na jídlo včetně atopických ekzémů[5]. Lourens-Hattingh a Viljoen[6] uvádějí pro zajištění pozitivního účinku denní příjem 1.10^8–1.10^9 JTK.ml^{-1} (jednotek tvořících kolonie v 1 ml) živých probiotických buněk, což odpovídá konzumaci 100 g výrobku s obsahem 1.10^6–1.10^7 JTK.ml^{-1} denně. Pozitivní účinky (např. imunostimulace) mohou mít

také výrobky s obsahem neživé kultury[5]. Některé kmeny velmi rychle rostou v první fázi výroby, ale v průběhu skladování rychle odumírají. Vlastnosti a účinek probiotické kultury bývá také ovlivněn typem a vlastnostmi zákysové kultury (hlavně metabolity). Často je opomíjena také možnost využití kvasinek jako probiotik. Například *Saccharomyces cerevisiae* prochází zažívacím traktem a působí v tlustém střevě proti *Escherichia coli, Shigella, Salmonella*. Kvasinky jsou schopné metabolizovat galaktosu, která se při metabolismu laktosy hromadí v prostředí, nevadí jim nízké pH a využívají organické kyseliny. Proto jsou pro ně kysané mléčné výrobky velmi vhodným prostředím a některé jsou na těchto poznatcích přímo založeny (kumys, kefír)[6].

2.1. Růstové faktory

Bifidobakterie jsou citlivé na kyslík a kyselé prostředí, proto je jejich životaschopnost v mléčných výrobcích velmi omezená. Látky, které ji zlepšují, jsou tzv. růstové faktory[7,8] a patří mezi ně například κ-kasein, α-laktalbumin, β-laktoglobulin, kvasničný extrakt, threonin, cystein, pepton, dextrin, maltosa a hydrolyzáty kaseinu. Kaseinomakropeptid (CMP) obsažený v hydrolyzátech syrovátkových bílkovin (WPC) je lepším růstovým faktorem, než čistý CMP (cit.[9]). Významnými růstovými faktory jsou galaktooligosacharidy (GOS), inulin, rafinosa nebo fruktooligosacharidy (FOS), které jsou zároveň také prebiotiky. GOS jsou pro bifidobakterie kultivované *in vitro* lepší substrát než laktulosa či rafinosa[10]. Výborným médiem pro bifidobakterie je sojové mléko obsahující sacharosu, rafinosu a stachyosu[11], proto se vyrábí jogurt ze sojového mléka zakysaný standardní jogurtovou kulturou s přídavkem bifidobakterií. Výsledek je dvojí – konzument přijímá probiotika a senzorické vlastnosti sojového mléka se fermentací výrazně zlepší.

2.2. Prebiotika a jejich účinek

Novorozenci nemají v zažívacím traktu žádné mikroorganismy[1], kolonizace enterokoky, klostridiemi, koliformními bakteriemi a laktobacily začíná krátce po narození. Ke konci prvního týdne již převládají bifidobakterie a u kojených dětí tvoří až 85 % intestinální flóry. Nekojené děti mají o řád nižší počty bifidobakterií a o to vyšší obsah enterokoků a streptokoků[10,12]. V průběhu dospívání a stárnutí začnou v zažívacím traktu převládat příslušníci rodů *Bacteroides* a *Eubacterium* a bifidobakterie jsou až 3. nebo 4. nejrozšířenější skupinou mikroorganismů[7,13]. Tyto údaje ukazují na funkci složek mateřského mléka jako bifidogenního faktoru (podporují růst bifidobakterií v tlustém střevě). Oligosacharidy mateřského mléka[2] obsahují převážně pět základních složek – kyselinu sialovou, *N*-acetylglukosamin, L-fukosu, D-glukosu a D-galaktosu[2,13]. Frakce s těmito sloučeninami lze získat po trypsinovém nebo chymotrypsinovém srážení kaseinu a syrovátkových bílkovin mateřského mléka[13]. V průběhu kojení se z těchto komponent syntetizují oligosacharidy, ale jejich složení není vždy stejné. Během 1. měsíce obsahuje mateřské mléko přibližně 24 % galaktooligosacharidů z celkového obsahu cukrů a po 2 měsících již pouze 15 %. Stále jsou ale po laktose a lipidech nejvíce zastoupenou složkou mateřského mléka. Proč se jejich složení mění, není zcela jasné, ale v rozvoji specifické intestinální mikroflóry kojených dětí hrají důležitou roli[2], čímž nepřímo snižují riziko infekce (jejich metabolizováním se snižuje pH ve střevech a počty patogenních mikroorganismů). Oligosacharidy mají také přímou účinnost proti enteropatogenům, protože slouží jako vazebná místa pro jejich toxiny, které se potom nemohou vázat na střevní stěnu. Zvláště v prvních dnech a týdnech kojení je tato ochrana před infekcí velmi důležitá, protože imunitní systém teprve vzniká a nedostatečně kyselé pH žaludku není přirozenou ochranou. Při metabolismu oligosacharidů mateřského mléka se uvolňuje velké množství

Tabulka I
Nárůst (+), pokles (–), případně žádná změna (0) v počtech mikroorganismů během fermentace prebiotik střevní mikroflórou *in vitro* (cit.[16]); Bif – bifidobakterie, Bac – *Bacteroides*, Lac – laktobacily, Clos – klostridia, FOS – fruktooligosacharidy, IMO – isomaltooligosacharidy, GOS – galaktooligosacharidy

Prebiotika	pH	Dávka prebiotika [g.l^{-1}]							
		10				20			
		Bif	Bac	Lac	Clos	Bif	Bac	Lac	Clos
FOS	6	+	–	0	+	+	–	–	+
	6,8	+	–	0	0	+	+	–	+
Inulin	6	+	0	0	+	+	0	0	+
	6,8	+	–	0	0	+	0	–	+
IMO	6	+	–	0	+	+	–	0	+
	6,8	+	–	–	–	+	–	0	+
GOS	6	+	–	+	+	+	–	–	+
	6,8	+	–	+	–	+	–	–	+
Laktulosa	6	+	–	0	+	+	–	0	+
	6,8	+	–	0	–	+	+	0	+

kyseliny sialové (zvláště v 1. týdnu laktace jsou velmi aktivní jaterní enzymy zodpovědné za její syntézu v mléce), která je využívána k syntéze mozkových gangliosidů a glykoproteinů, dochází k velkému rozvoji mozku. Složení a struktura oligosacharidů mateřského mléka nemůže být reprodukována, proto jsou hledány a využívány jiné skupiny oligosacharidů s podobným účinkem. Nejvíce jsou používané deriváty laktosy (laktulosa, laktitol, kyselina laktobionová), galaktooligosacharidy (GOS), isomaltooligosacharidy (IMO), fruktooligosacharidy (FOS) a inulin[8,14,15]. Palframan a spol.[16] studovali vliv pH a dávkování těchto prebiotik na střevní mikroflóru (tabulka I). Pro zjišťování počtů bifidobakterií, laktobacilů, klostridií a *Bacteroides* používal fluorescenční hybridizaci *in situ* (FISH). Za všech testovaných podmínek rostly celkové počty mikroorganismů a rostl i počet bifidobakterií.

3. Nestravitelné oligosacharidy

Sacharidy je možné klasifikovat podle různých kritérií, podle délky řetězce, podle technologických vlastností, podle fyziologických vlastností. Prebiotika laktulosa, laktitol, fruktooligosacharidy, inulin, xylooligosacharidy a galaktooligosacharidy spadají do skupiny nestravitelných oligosacharidů[15], přitom podle klasifikace na základě délky řetězce by patřily do různých skupin[17]. Nejsou hydrolyzovány ani absorbovány v tenkém střevě a působí podobně jako rozpustná vláknina[18,19]. V posledních dvou desetiletích se často stávají složkami funkčních potravin[8], hlavně v Japonsku a v Evropě. Jejich důležitou vlastností je, že hrají roli receptorových analogů, které se zapojují do specifických interakcí mezi bakteriálními patogeny a oligosacharidovými složkami receptorů střevní stěny. Některé nestravitelné oligosacharidy vznikají při potravinářských technologiích, např. xylooligosacharidy najdeme v chlebu a isomaltooligosacharidy v pivu nebo v sojové omáčce[15].

3.1. Laktulosa, laktitol, kyselina laktobionová

Laktulosa (4-*O*-β-D-galaktopyranosyl-D-fruktosa) vzniká izomerací glukosylu v laktose působením záhřevu na mléko a je v malém množství přirozenou složkou tepelně ošetřeného mléka a mléčných výrobků. Signifikantní vliv na střevní mikroflóru má až ve větších koncentracích, je proto komerčně produkována zahříváním laktosy za katalýzy např. hydroxidu sodného. Laktitol (4-*O*-β-D-galaktopyranosyl-D-glucitol) vzniká elektrolytickou redukcí, redukcí tetrahydridoboritanem sodným nebo hydrogenací na niklu[13]. Laktulosa i laktitol jsou podávány pacientům s jaterní encefalopatií (intoxikací mozku močovinou v důsledku nefunkčnosti jater) a s chronickou zácpou. Jsou zkvašovány v tlustém střevě intestinální mikroflórou a redukují tvorbu amoniaku[20]. Kyselina laktobionová (4-*O*-β-D-galaktopyranosyl-D-glukonová kyselina) vzniká z laktosy oxidací, má sladkou chuť, nízkou energetickou hodnotu a prebiotické vlastnosti. Používá se do dětských výživ jako prebiotikum a přidává se i do dalších potravin (sladkosti, žvýkačky, mléčné výrobky, zmrzliny, pečivo)[20,21]. Zatímco laktulosa a kyselina laktobionová v tenkém střevě metabolizovány nejsou, laktitol částečně ano, ale většina je využívána až v tlustém střevě za vzniku mastných kyselin s krátkým řetězcem, které jsou absorbovány, slouží jako zdroj energie a ovlivňují metabolismus kyseliny cholové. Laktitol také slouží jako sladidlo pro diabetiky. Laktulosa je v tlustém střevě lépe využívána bifidobakteriemi, než FOS a laktitol, je ale také dobře metabolizována klostridiemi. Zatímco kojenci mají výskyt bifidobakterií v tlustém střevě 85–88 %, děti krmené kojeneckou výživou s obsahem 2 % laktulosy pouze 67 % (bez laktulosy dokonce jen 20 %). U dospělého člověka způsobí příjem 3 g laktulosy denně kolonizaci střev bifidobakteriemi ze 47 % (cit.[7]).

3.2. Fruktooligosacharidy

Fruktooligosacharidy (FOS) jsou polymery (polymerizační stupeň 2–30) D-fruktosy spojené β (2→1) vazbami zakončené molekulou sacharosy, jsou rostlinného původu (čekanka, cibule, artyčoky, rajčata, česnek, banán) a jejich průměrný obsah v čerstvém ovoci či zelenině je 6 %. Průmyslově se vyrábí buď hydrolýzou inulinu[22] nebo ze sacharosy červené řepy účinkem fruktosylfuranosidasy z *Aspergillus niger* (transfruktosylace)[2,13,15,19,22]. Nejsou využívány patogenními mikroorganismy tlustého střeva (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*) ani *Streptococcus mutans* v ústech (nepřispívají k tvorbě zubního kazu). Při dávkování 3–6 g FOS denně se snižuje produkce toxických složek a nežádoucích enzymů ve střevech o 40–45 %. Pozitivní efekt pro dospělého jedince má dávka 2–10 g.den^{-1}, průměrná spotřeba je však pouze 0,8 g.den^{-1} (cit.[2]). Jiné zdroje uvádějí pozitivní vliv při dávkování 3 g.den^{-1} (cit.[15]) nebo dokonce až 15 g.den^{-1} (cit.[23]).

3.3. Galaktooligosacharidy

Galaktooligosacharidy (GOS) jsou živočišného původu (kravské mléko) a průmyslově se vyrábějí z laktosy transgalaktosylací účinkem β-galaktosidasy[22]. Podobně jako FOS působí jako rozpustná vláknina[24–26]. GOS mají kromě fyziologických účinků také významné fyzikálněchemické vlastnosti. Ve srovnání s monosacharidy mají vyšší molekulovou hmotnost, a tím zvyšují viskozitu výrobků. U mražených produktů ovlivňují bod tuhnutí, u tepelně zpracovávaných potravin omezují hnědnutí v důsledku Maillardových reakcí. Způsobují zádrž vlhkosti, vazbou vody snižují její aktivitu, a tím významně omezují projevy mikrobiální kontaminace výrobků. Mohou být využívány jako inhibitory retrogradace škrobu[17].

4. Hydrolýza laktosy a transgalaktosylace

4.1. Hydrolýza laktosy, laktosová intolerance

β-Galaktosidasa (EC 3.2.1.23), triviálně nazývaná

Tabulka II
Výskyt laktosové intolerance v různých oblastech světa[28]

Oblast	Výskyt [%]	Oblast	Výskyt [%]
Skandinávie	1 – 5	Východní Evropa	10 – 20
Západní Evropa	10 – 20	Střední Evropa	15 – 50
Jižní Evropa	50 – 80	Severní Afrika	70 – 80
Jihozápadní Asie	25	Východní Asie	70 – 100
Indiáni	60 – 100	Kanada, Amerika, Austrálie	méně než 30[a]

[a] Číslo odpovídá výskytu mezi bílým obyvatelstvem

laktasa, katalyzuje hydrolýzu laktosy na monosacharidy D-glukosu a D-galaktosu. Tato reakce je nutným krokem pro správné trávení laktosy a v případě, že laktasa není v zažívacím traktu přítomna nebo nemá dostatečnou aktivitu, projeví se tzv. laktosová intolerance (většinou trávicí potíže, nevolnosti a bolesti hlavy). V dospělé populaci je laktosová intolerance velmi rozšířená po celém světě[27,28] (tabulka II), protože laktasa je indukovatelný enzym a poté, co dítě přestane být kojeno, postupně ztrácí aktivitu. Podmínky a vlivy různých faktorů na enzymovou hydrolýzu laktosy byly podrobně zkoumány, laktasa byla izolována z různých zdrojů (tabulka III) a enzymové preparáty o rozličné čistotě a aktivitě jsou komerčně dostupné. V různých zemích světa (nikoli v České republice) se také vyrábějí mléčné výrobky na bázi hydrolyzované laktosy. Hydrolýzy laktosy v mléce se využívá při výrobě sladkého kondenzovaného mléka, mražených mléčných produktů[29], dezertu dadih[30] a sýra[31,32]. Mezi výrobky ze syrovátky s hydrolyzovanou laktosou[33] patří mražené smetanové krémy a mražené dezerty, cukrovinky, pekařské produkty[34], nápoje[35] a kysané produkty[29]. Finská firma Valio Research and Development od konce 70. let uvádí na trh své produkty HYLA s laktosou hydrolyzovanou alespoň z 80 % – mléko, jogurt, kysané mléko, sýr, zmrzlina, syrovátkový nápoj a další[27].

4.2. Transgalaktosylace, podmínky pro produkci galaktooligosacharidů

Transgalaktosylace je doprovodnou reakcí enzymové hydrolýzy laktosy na glukosu a galaktosu účinkem β-galaktosidasy. β-Galaktosidasa katalyzuje přenos galaktosylu, uvolněného po rozštěpení vazby mezi glukosou a galaktosou, na jiný sacharid přítomný v prostředí. V tom nejjednodušším případě jde o přenos na molekulu vody a vznikne volná galaktosa (hydrolýza). V ostatních případech vznikají di-, tri-, tetra- a pentasacharidy (transgalaktosylace). Vznik vyšších oligosacharidů není znám. Mechanismus reakce je ovlivněn povahou aktivního centra enzymu[38], množství a typy GOS závisejí na mnoha faktorech[39,40], mezi něž patří koncentrace substrátu[8,19,26, 41–45] (tabulka IV), zdroj a koncentrace enzymu[19,42,44,45,51], pH a teplota[19,26,42,46,47] (tabulka V), přítomnost různých minerálních látek[47] a typ reakce[41,43,51] (imobilizace enzymu, membránový reaktor). Transglykosylační vlastnosti enzymů izolovaných z různých mikroorganismů byly zlepšovány mutagenezí případně změnou specifických aminokyselin přítomných v aktivním místě enzymu[48].

4.2.1. Vliv koncentrace laktosy

Obecně platí, že čím vyšší je počáteční koncentrace laktosy, tím více galaktooligosacharidů v průběhu reakce vzniká[46] (tabulka IV). Hydrolýzy laktosy s plísňovým enzymem byly prováděny v pufru při 40 °C a pH 4. Hydrolý-

Tabulka III
Přehled nejpoužívanějších mikrobiálních zdrojů β-galaktosidas[36,37]

Bakteriální zdroje	Kvasinkové zdroje	Plísňové zdroje
Escherichia coli	*Kluyveromyces (Saccharomyces) lactis*	*Aspergillus foetidus*
Bacillus megaterium	*Kluyveromyces (Saccharomyces) fragilis*	*Aspergillus niger*
Bacillus circulans	*Candida pseudotropicalis*	*Aspergillus flavus*
Thermus equaticus	*Sporobolomyces singularis*	*Aspergillus oryzae*
Streptococcus lactis		*Aspergillus phoenicis*
Streptococcus thermophilus		*Mucor pusillus*
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus*		*Mucor miehei*
Lactobacillus helveticus		*Neurospora croussa*
Bifidobacterium bifidum		*Penicillium chrysogenum*
Sulfolobus solfataricus		*Penicillium simplicissimum*

Tabulka IV
Vliv koncentrace laktosy na výtěžek GOS (galakto-oligosacharidů)[26,45]

Původ enzymu	Počáteční koncentrace laktosy [%]	Maximální výtěžek GOS [%]
Aspergillus oryzae	4,5	10
Aspergillus oryzae	9	15
Aspergillus oryzae	18	21
Aspergillus oryzae	36	31
Kluyveromyces lactis	5	5
Kluyveromyces lactis	10	8,5
Kluyveromyces lactis	20	12,5

zy laktosy s kvasinkovým enzymem byly prováděny v permeátu po ultrafiltraci syrovátky při 30 °C a pH 7. K výtěžkům 5 % GOS z počáteční koncentrace laktosy 5 % účinkem enzymu z *Kluyveromyces lactis* dospěl také Burvall[49]. Foda a López-Leiva[51] získali se stejným enzymem výtěžek až 18,6 % ze 14 % laktosy a až 22,2 % pro 20 % laktosy na počátku reakce.

4.2.2. Vliv zdroje a koncentrace enzymu

Prenosil uvádí, že každá laktasa z jiného mikrobiálního zdroje vede při použití k unikátnímu spektru galaktooligosacharidů[45]. Nejpoužívanější komerční preparáty jsou buď kvasinkového původu (izolované z *Kluyveromyces lactis* nebo *fragilis*) nebo plísňového původu (izolované z *Aspergillus niger* nebo *oryzae*). Plísňové preparáty tvoří maximum oligosacharidů při dosažení 40–50% hydrolýzy při 50 °C a pH 4,5. Kvasinkové preparáty tvoří maximum oligosacharidů při dosažení 70–80% hydrolýzy při teplotě 37 °C a pH 7. Za stejných podmínek vzniklo nejvíce galaktooligosacharidů při použití enzymu z *Aspergillus oryzae* (17 % trisacharidů a 3,8 % tetrasacharidů)[44]. Boon a spol.[42] porovnávali tři enzymy, enzym z *Bacillus circulans* vedl k vyšším výtěžkům než enzym z *Aspergillus oryzae* a nejmenší výtěžky byly dosaženy s enzymem z *Kluyveromyces spp.* Enzym z *Bacillus circulans* dokonce vedl k nejširšímu spektru galaktooligosacharidů (tri-, tetra- i pentasacharidy). Termostabilní bakteriální β-galaktosidasa ze *Sulfolobus solfataricus* vede ve srovnání s komerční termotolerantní β-galaktosidasou z *Aspergillus oryzae* a termolabilní β-galaktosidasou z *Escherichia coli* k nejvyšším výtěžkům oligosacharidů (48 % vs. 36 % vs. 32 %)[50]. Vliv koncentrace enzymu z *Kluyveromyces lactis* (0,05 a 0,5 %) sledovali Foda a López-Leiva[51] v permeátu po ultrafiltraci mléka při 45 °C a pH 7. V membránovém reaktoru byl při výchozí koncentraci laktosy 20 % výtěžek GOS 22 % při koncentraci enzymu 0,05 % a 31 % GOS při 0,5 % enzymu.

4.2.3. Vliv pH a teploty

Při nižších počátečních koncentracích laktosy (přibližně 5 %) je s enzymem z *Aspergillus oryzae* při pH 7 dosaženo poněkud vyšších výtěžků GOS než při pH 4 a výtěžek naopak klesá s rostoucí teplotou v rozmezí 30 až 60 °C. Při počátečních koncentracích laktosy vyšších než 20 % je vliv pH i teploty minimální[26]. Vyšší výtěžky při vyšším pH potvrdil také Cruz[46] s enzymem z *Penicillium simplicissimum*. Optimum pH tohoto enzymu pro hydrolýzu je 4,0–4,6, avšak nejvyššího výtěžku GOS bylo dosaženo při pH 6,5. Optimální pH pro hydrolýzu laktosy se tak často neshoduje s optimálním pH pro tvorbu galaktooligosacharidů[46,52]. Vliv pH, teploty i zdroje enzymu byl sledován také Rustomem a spol.[19] v permeátu po ultrafiltraci mléka o počáteční koncentraci laktosy 14 % (tabulka V). Podle Prenosila a spol.[44] však nemá pH ani teplota na tvorbu GOS pro enzymy *Aspergillus niger* i *A. oryzae* a *Kluyveromyces lactis* i *K. fragilis* statisticky významný vliv.

4.2.4. Vliv přítomnosti různých minerálních látek

Mahoney[38] uvádí nižší obsah galaktooligosacharidů získaný hydrolýzou laktosy v mléce než v pufru. Chen[53] uvádí podobný závěr, v zahuštěném mléce dosáhl účinkem enzymu z *Aspergillus oryzae* nižších výtěžků galaktooligosacharidů (22,8 %) než v zahuštěném permeátu (27,9 %) o stejné počáteční koncentraci laktosy (16,7 %). Mléko, permeát i pufr obsahují různé minerální látky, některé inhibují aktivitu β-galaktosidasy (například vápník), jiné ji zlepšují (například hořčík)[39]. Podle Garmana[39] by vápník obsažený v mléce velký inhibiční účinek mít neměl, protože je vázaný na kasein. Různé minerální látky neovlivňují typy vznikajících galaktooligosacharidů, ale pouze množství. Mléko, permeát i pufr se ale liší také v obsahu bílkovin, které tvorbu GOS negativně ovlivňují[53].

Tabulka V
Vliv zdroje enzymu, teploty a pH na výtěžek GOS (galaktooligosacharidů) [19]

Teplota [°C]	pH	Maximální výtěžek GOS [%]		
		Aspergillus oryzae	*Kluyveromyces lactis*	*Kluyveromyces fragilis*
35	5	17,9	13,6	7,9
45	5	15,7	18,6	20,0
35	7	15,7	18,6	17,9
45	7	15,0	16,4	18,6

4.2.5. Vliv imobilizace

Při použití imobilizovaného systému β-galaktosidasy z Bacillus sp. zjistil Rugh[54] významný pokles maximální koncentrace trisacharidů a tetrasacharidů ve srovnání s volným enzymem. Betschart a Prenosil[55] a Mahoney[38] obdrželi podobné výsledky při použití *Aspergillus niger* (maximum koncentrace trisacharidů kleslo na 14 % , resp. 23 % a tetrasacharidů na 28 %, resp. 33 % z obsahu získaného účinkem neimobilizovaného enzymu). Foda a López-Leiva[51] dospěli v membránovém reaktoru k poklesu z 5,1 % na 4,5 % oligosacharidů.

5. Využití nestravitelných oligosacharidů v mlékárenské technologii

Nestravitelné oligosacharidy (nejvíce fruktooligosacharidy) se využívají jako aditiva do různých mléčných výrobků (kysaných mlék, jogurtů, sušených produktů, zmrzlin)[12,15]. Toba a spol[56] sledovali změny v obsahu oligosacharidů v průběhu fermentace a skladování jogurtu zakysaného jogurtovou kulturou za současného působení β-galaktosidasy z *Aspergillus oryzae*. Obsah laktosy klesl o 64 %, u kontrolního jogurtu klesl o 35 % (bez účinku β-galaktosidasy), po 2 hodinách kultivace obsahoval jogurt 15 % galaktooligosacharidů, po 8 hodinách 12 % a po 10 dnech skladování při 5 °C obsahoval stále ještě 7 % galaktooligosacharidů. I kontrolní jogurt obsahoval galaktooligosacharidy díky transglykosylační aktivitě β-galaktosidas bakterií jogurtové kultury, nicméně 4–19× menší množství (0,3–1,7 %). Holubová a spol. aplikovali při výrobě jogurtu zároveň s fermentací β-galaktosidasu z *Aspergillus oryzae* a z *Kluyveromyces lactis* a sledovali změny v obsahu sacharidů v průběhu fermentace. Kromě toho zkoušeli také nejprve provést hydrolýzu laktosy v mléce z 80 % a pak teprve zahájit fermentaci. Ve všech těchto případech byl obsah galaktooligosacharidů v produktu již nevýznamný[57]. V České republice se mnoho zpracovatelů mléka (především výrobců sýrů a tvarohu) v posledních letech zajímá o možnosti zatím ekonomicky problematického využití syrovátky. Výroba preparátů s GOS je příležitostí pro zpracovatele syrovátky a možností pro využití laktosy do receptur nových výrobků. Výhodná je možnost spojení fyzikálně-chemických vlastností oligosacharidů s jejich funkcí růstového faktoru a prebiotickými vlastnostmi. Výzkumná činnost se zaměřuje na zavedení kysaného mléčného výrobku s obsahem probiotických kultur a galaktooligosacharidů na trh. Výroba preparátů s GOS je příležitostí pro zpracovatele syrovátky a možností pro vývoj nových výrobků.

Tato práce vznikla s podporou výzkumného záměru MŠMT (CEZ:J19/98:223300005) a grantu MZe (QD 0281).

LITERATURA

1. Fernandes C. F., Shahani K. M., Amer M. A.: Microbiol. Rev. *46*, 343 (1987).
2. Rivero-Urgell M., Santamaria-Orleans A.: Early Hum. Dev. *65*, S43 (2001).
3. Sanders M. E.: Int. Dairy J. *8*, 341 (1998).
4. Ziemer Ch. J., Gibson G. R.: Int. Dairy J. *8*, 473 (1998).
5. Mattila-Sandholm T., Blum S., Collins J. K., Crittenden R., de Vos W., Dunne C., Fondén R., Grenov G., Isolauri E., Kiely B., Marteau P., Morelli L., Ouwehand A., Reniero R., Saarela M., Salminen S., Saxelin M., Schiffrin E., Shanahan F., Vaughan E., von Wright A.: Trends Food Sci. Technol. *10*, 393 (1999).
6. Lourens-Hattingh A., Viljoen B. C.: Food Res. Int. *34*, 791 (2001).
7. Gomes A. M. P., Malcata F. X.: Trends Food Sci. Technol. *10*, 139 (1999).
8. Mattila-Sandholm T., Myllaerinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fondén R., Saarela M.: Int. Dairy J. *12*, 173 (2002).
9. Janer C., Peláez C., Requena T.: Food Chem. *86*, 263 (2004).
10. Gopal P. K., Sullivan P. A., Smart J. B.: Int. Dairy J. *11*, 19 (2001).
11. Scalabrini P., Rossi M., Spettoli P., Matteuzzi D.: Int. J. Food Microbiol. *39*, 213 (1998).
12. Lourens-Hattingh A., Viljoen B. C.: Int. Dairy J. *11*, 1 (2001).
13. Modler H. W.: Int. Dairy J. *4*, 383 (1994).
14. Zubillaga M., Weill R., Postaire E., Goldman C., Caro R., Boccio J.: Nutr. Res. *21*, 569 (2001).
15. Voragen A. G. J.: Trends Food Sci. Technol. *9*, 328 (1998).
16. Palframan R. J., Gibson G. R., Rastall R. A.: Anaerobe *8*, 287 (2002).
17. Crittenden R. G., Playne M. J.: Trends Food Sci. Technol. *7*, 353 (1996).
18. Englyst H. N., Hudson G. J.: Food Chem. *57*, 15 (1996).
19. Rustom I. Y., Foda M. I., López-Leiva M. H.: Food Chem. 62, 141 (1998).
20. Schaafsma G., v knize: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Roginski H., Fuquay J. W., Fox P. F., ed.), str. 1529. Academic Press, London 2003.
21. Harju M.: Int. J. Dairy Technol. *54*, 61 (2001).
22. Playne M. J., Crittenden R.: Bull. International Dairy Federation *313*, 22 (1996).
23. Mitsuoka T.: Nutr. Rev. *50*, 438 (1992).
24. Alander M., Maetto J., Kneifel W., Johansson M., Koegler B., Crittenden R., Mattila-Sandholm T., Saarela M.: Int. Dairy J. *11*, 817 (2001).
25. Morishita Y., Oowada T., Ozaki A., Mizutani T.: Nutr. Res. (N. Y.) *22*, 1333 (2002).
26. Iwasaki K., Nakajima M., Nakao S.: Process Biochem. 31, 69 (1996).

27. Jelen P., Tossavainen O.: Austr. J. Dairy Technol. 58, 161 (2003).
28. Alm L., v knize: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Roginski H., Fuquay J. W., Fox P. F., ed.), str. 1533. Academic Press, London 2003.
29. Holsinger V. H.: Food Technol. *3*, 34 (1978).
30. Manan D. M. A., Karim A. A., Kit W. K.: Food Chem. *65*, 439 (1999).
31. Fox P. F., Stepaniak L.: Int. Dairy J. *3*, 509 (1993).
32. Gambelli L., Manzi P., Panfili G., Vivanti V., Pizzoferrato L.: Food Chem. *66*, 353 (1999).
33. Knorr D.: Trends Food Sci. Technol. *9*, 295 (1998).
34. Mahoney R.R., v knize *Developments in Dairy Chemistry* (Fox P. F. ed.), str. 69. Elsevier, London 1985.
35. Battelle Research Center Geneva: Food Eng. *3*, 116 (1978).
36. Yanahira S., Kobayashi T., Suguri T., Nakakoshi M., Miura S., Ishikawa H., Nakajima I.: Biosci. Biotechnol. Biochem. *59*, 1021 (1995).
37. Richmond M. L., Gray J. I., Stine C. M.: J. Dairy Sci. *64*, 1759 (1981).
38. Mahoney R. R.: Food Chem. *63*, 147 (1998).
39. Garman J., Coolbear T., Smart J.: Appl. Microbiol. Biotechnol. *46*, 22 (1996).
40. Ekhart P. F., Timmermans E.: Bull. International Dairy Federation *313*, 59 (1996).
41. Jeon I. J., Mantha V. R.: J. Dairy Sci. *68*, 581 (1985).
42. Boon M. A., Janssen A. E. M., van´t Riet K.: Enzyme Microbiol. Technol. *26*, 271 (2000).
43. Greenberg N. A., Wilder T., Mahoney R. R.: J. Dairy Res. *52*, 439 (1985).
44. Prenosil J. E., Stuker E., Bourne J. R.: Biotechnol. Bioeng. *30*, 1026 (1987).
45. Prenosil J. E., Stuker E., Bourne J. R.: Biotechnol. Bioeng. *30*, 1019 (1987).
46. Cruz R., Cruz V. D´A., Belote J. G., Khenayfes M. O., Dorta C., Oliviera L. H. S., Ardiles E., Galli A.: Biores. Technol. *70*, 165 (1999).
47. Kim S. H., Lim K. P., Kim H. S.: J. Dairy Sci. *80*, 2264 (1997).
48. Joergensen F., Hansen O. C., Stougaard P.: Appl. Microbiol. Biotechnol. *57*, 647 (2001).
49. Burvall A., Asp N. G., Dahlqvist A.: Food Chem. *4*, 243 (1979).
50. Reuter S., Nygaard A. R., Zimmermann W.: Enzyme Microbiol. Technol. *25*, 509 (1999).
51. Foda M. I., López-Leiva M. H.: Process Biochem. *35*, 581 (2000).
52. Bonnin E., Thibault J. F.: Enzyme Microbiol. Technol. *19*, 99 (1996).
53. Chen Ch. S., Hsu Ch. K., Chiang B. H.: Process Biochem. *38*, 801 (2002).
54. Rugh S.: Appl. Biochem. Biotechnol. *1*, 27 (1982).
55. Betschart H. F., Prenosil J. E.: J. Chromatogr. *299*, 498 (1984).
56. Toba T., Arihara K., Adachi S.: J. Dairy Sci. 69, 1241 (1986).
57. Holubová J., Rudolfová J., Čurda L.: Mliekarstvo *34*, 51 (2003).

J. Rudolfová and L. Čurda *(Department of Dairy and Fat Technology, Institute of Chemical Technology, Prague):* **Galactooligosaccharides as Prebiotics and Their Production from Lactose**

In recent years an increasing interest in functional foods has been observed. Prebiotic oligosaccharides are one of the recognized ingredients. This group of compounds includes, e.g., fructooligosaccharides, inulin, isomaltooligosaccharides, lactose derivatives such as lactitol, lactulose, lactobionic acid or galactooligosaccharides. Prebiotic oligosaccharides enhance the growth of bifidobacteria and lactobacilli in the intestine, which are considered to be beneficial to human health. Galactooligosaccharides are produced in the lactose hydrolysis using lactase (β-galactosidase, EC 3.2.1.23) preparations since lactase shows also transferase activity. Lactose accounts for over 70 % of the solid content in the milk whey obtained in cheese production. Production of galactooligosaccharides from lactose could be a method of whey utilization. Due to a rapidly increasing production and use, the conditions for achieving their maximal yields have been tested (lactose concentration and source, pH, temperature, enzyme concentration and source, enzyme immobilization). Galactooligosaccharides are used in beverages, powdered milk for infants, confectionery, bakery products, yoghurts and dairy desserts.

VŠCHT Praha vlastní novou telefonní ústřednu, její provolba je

220 44

Čtyřmístná čísla vnitřních linek zůstávají beze změny.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VYUŽITÍ MALDI-TOF MS PŘI ANALÝZE SMĚSÍ POLYMERŮ

KAREL MAZANEC[a,b] a JOSEF CHMELÍK[a,*]

[a]*Ústav analytické chemie AV ČR, Veveří 97, 611 42 Brno,* [b]*Chemická fakulta Vysokého učení technického, Purkyňova 118, 612 00 Brno*
mazanec@iach.cz, chmelik@iach.cz

Došlo 26.7.04, přijato 14.10.04.

Klíčová slova: MALDI, polystyren, distribuce, molekulové hmotnosti, polydisperzita

Úvod

Cílem tohoto článku je na modelových vzorcích směsí polystyrenů ukázat možnosti praktického využití MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight Mass Spectrometry) pro analýzu směsí polymerních látek. MALDI-TOF MS je relativně nová, perspektivní metoda, objevená a zavedená koncem osmdesátých let původně pro analýzu biopolymerů. O metodě MALDI-TOF MS syntetických polymerů bylo v posledních patnácti letech napsáno mnoho původních článků a několik souhrnných referátů[1,2].

Polystyren je polymer, který je využíván v široké škále aplikací. Vyrábí se radikálovou polymerací styrenu probíhající velmi snadno i za normálního tlaku. Protože homopolymer má nízkou houževnatost, v praxi se uplatňují především modifikované typy. Dá se předpokládat, že množství různých modifikací poroste a je dobré pro ně najít i patřičné analytické metody.

MALDI využívá skutečnosti, že přidáním určité nízkomolekulární látky (matrice) k analytu a jejich společnou krystalizací vznikne systém, ze kterého se ostřelováním laserovými pulsy celkem snadno uvolňují ionty i relativně velkých molekul. Výhodou této metody je, že jen zřídka dochází k fragmentaci molekul analyzované látky a vzniklé ionty jsou převážně jednonásobně nabité. To znamená, že lze určit hmotnosti celých molekul, v případě polymerů i distribuce jejich relativních molekulových hmotností.

Pro měření daného analytu je důležité nalézt vhodnou matrici. Velmi zjednodušeně platí, že pro hydrofilní polymery jsou vhodné hydrofilní matrice, a opačně – pro hydrofobní polymery hydrofobní matrice. Částečně to vyplývá z nutnosti nalézt vhodné rozpouštědlo, ale existují i další faktory, které nejsou dosud obecně vysvětleny. Výběr vhodné matrice je tedy poměrně složitý a ve většině případů je nutné optimální podmínky hledat, přičemž je třeba věnovat pozornost možným interferencím (matricové klastry, interakce matrice s polymerem). Např. při měření PS se s velkým úspěchem používá dithranol (1,8,9-anthracentriol) se stříbrnými solemi, ale složení roztoku této směsi je stabilní jen několik minut[1]. Využití různých matric pro měření syntetických polymerů popisuje mnoho původních článků a velmi dobrý přehled je v již zmíněném referátu[1]. Jako matrice jsou nejčastěji využívány slabé aromatické kyseliny s chromoforem, které vykazují silnou absorpci při vlnové délce použitého laseru (N_2 – 337 nm). Pro hydrofilní polymery to jsou kyseliny 2,5-dihydroxybenzoová, α-kyano-4-hydroxyskořicová a chlorosalicylová, pro hydrofobní polymery kyselina retinová a dithranol.

Mechanismus tvorby iontů v MALDI je komplikovaný. Dochází ke třem základním typům ionizace: (*i*) přenos protonu, (*ii*) interakce s ionty (např. kationizace kovovými ionty) a (*iii*) vytvoření iontu odtržením elektronu. Všechny uvedené typy ionizací byly pozorovány i u syntetických polymerů. Přetrvává ovšem otázka, jestli k ionizaci dochází v oblaku vytvořeném laserem nad povrchem vzorku, nebo jestli dochází k ablaci předem vytvořených iontů[2].

Při ionizaci syntetických polymerů hraje hlavní roli kationizace kovovými ionty, zatímco u biopolymerů se více uplatňuje mechanismus přenosu protonu. Ve spektrech relativně polárních polymerů jsou často pozorovány sodné a draselné adukty, přestože ani sodné ani draselné soli nebyly dodatečně přidány. Tyto kationty jsou přítomny jako nečistoty ze skla, rozpouštědel, reagencií apod., a polymery s relativně vysokou iontovou afinitou nutně nevyžadují jejich vyšší koncentraci ve vzorku pro MALDI. Naproti tomu nepolární syntetické polymery bez heteroatomů, jako právě polystyren, ale i polybutadien a polyisopren, mohou být úspěšně ionizovány teprve po přidání stříbrných či měděných solí, jejichž kationty interagují s dvojnými vazbami těchto polymerů[1]. Pro měření nepolárních polymerů bez heteroatomů a dvojných vazeb, jako je polyethylen a ostatní polyolefiny, nejsou konvenční metody ionizace dostatečné a polymery musí být před měřením pomocí MALDI-TOF MS modifikovány[3].

Porovnání výsledků MALDI-TOF MS a jiných analytických metod (např. gelové permeační chromatografie) ukazuje, že u MALDI-TOF MS dochází k určitému posunu distribuce relativních molekulových hmotností ať už k vyšším, či (většinou) nižším hodnotám[1]. Usuzuje se, že k těmto odchylkám přispívá jak příprava vzorku, tak i instrumentální faktory.

Při přípravě vzorku je potřeba nalézt vhodnou matrici, sůl a rozpouštědlo, a směs správně nanést na destičku s cílem dosáhnout co nejvíce homogenní společné krystalizace všech látek. Různé polymery, případně polymery s různými koncovými skupinami, se různě ochotně ionizují

a tedy mají různé iontové efektivity. Rozdílné iontové efektivity mají ovšem i jednotlivé oligomery téhož polymeru s různým počtem strukturních jednotek v řetězci. Obdobně tomu je i s desorpcí různých polymerů z matrice po aplikaci laserového pulsu.

Při měření polymerů s širšími distribucemi relativních molekulových hmotností zpravidla dochází k určitému posunu průměru relativní molekulové hmotnosti. Tyto hmotnostní posuny mohou být minimalizovány srovnáním s měřením polymerů s úzkou distribucí, případně měřením separovaných frakcí polymerů s širší distribucí[4–6]. Jiný přístup ukazuje práce amerického NIST (Národní úřad pro standardizaci a technologii), kde jsou srovnány výsledky průměrných relativních molekulových hmotností totožných polymerních vzorků změřených za stejných podmínek přípravy mnoha laboratořemi po celém světě a následně statisticky vyhodnoceny[7]. Součástí podobného projektu je i tato práce, která je zaměřena na charakterizaci různých směsí dvou polystyrenů připravených v NIST. Cílem projektu je srovnat a statisticky vyhodnotit jednotlivými laboratořemi naměřené hodnoty průměru relativních molekulových hmotností a poměrů složek. Poměry, v jakých byly složky smíchány, nebyly jednotlivým laboratořím oznámeny.

Experimentální část

Všechna měření metodou MALDI-TOF MS byla provedena na přístroji Kompact MALDI SEQ tDE (Kratos Analytical, Shimadzu) TOF vybaveném dusíkovým laserem (337 nm) v lineárním módu s pulsní extrakcí. Směsi polystyrenů (PS) byly získány z NIST (Gaithersburg, USA). Každý z pěti vzorků (označených písmeny A až E) byl směsí obsahující v různém poměru polystyren zakončený hydroxylovou skupinou (PSOH) a polystyren zakončený vodíkem (PSH). Pro zajištění homogenního promíchání obou složek byly připraveny roztoky těchto dvou polymerů v toluenu a přeneseny do vialek. Toluen byl poté odpařen. Každá vialka obsahovala přibližně 7 mg PS. Jako matrice byla používána kyselina retinová (Fluka, Buchs, Švýcarsko). Trifluoroctan stříbrný (AgTFA) byl získán od firmy Aldrich (Milwaukee, USA). Všechny látky byly použity bez dalšího přečištění.

PS směsi, matrice a soli byly rozpuštěny v tetrahydrofuranu (Lachema, Neratovice, Česká republika) na koncentraci 5 mg.ml^{-1} PS, 75 mg.ml^{-1} kyseliny retinové a 5 mg.ml^{-1} AgTFA. Připravené roztoky pak byly v tomto pořadí smíchány v objemovém poměru 1:10:1, vzniklé směsi byly poté naneseny na terčík a nechány volně vyschnout na vzduchu. Jednotlivá spektra byla výsledkem 100 laserových pulsů. Vzorky byly měřeny vícekrát, přičemž bylo dbáno, aby se v průběhu měření neměnilo nastavení přístroje a z každé plošky na terčíku bylo sejmuto jen jedno spektrum.

Výsledky a diskuse

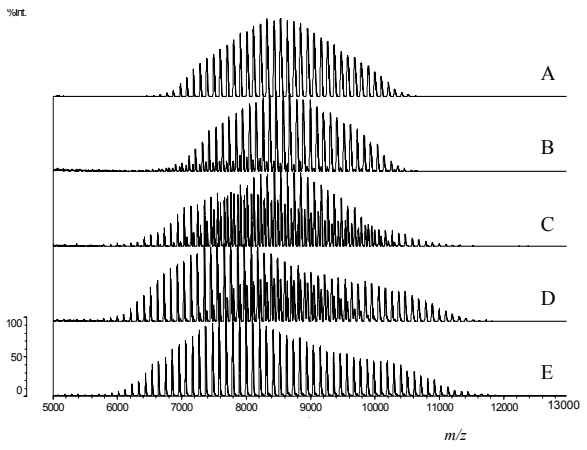
Obr. 1 ukazuje souhrnně spektra všech polystyrenových vzorků, obr. 2 pak výřez hmotnostního spektra vzorku C, kde jsou vidět primární i sekundární série píků posunuté od sebe o 44 jednotek relativní molekulové hmotnosti. Na obr. 1 jsou velmi dobře vidět rozdílné tvary distribučních křivek vzorků A (pouze PSOH) a E (pouze PSH). Ve směsných vzorcích B až D si jednotlivé série píků tento tvar zachovávají.

Hmotnostní spektrum je závislost intenzity signálu detektoru (která je přímo úměrná množství částic na něj dopadlých) na poměru hmotnosti a náboje m/z. Z takového vyjádření se může zdát, že už je relativně snadné vypočítat jak číselné, tak hmotnostní průměry relativních molekulových hmotností (M_n, M_w). Nicméně, právě z důvodů hmotnostní diskriminace, je potřeba být velmi opatrný při vyhodnocování výsledků.

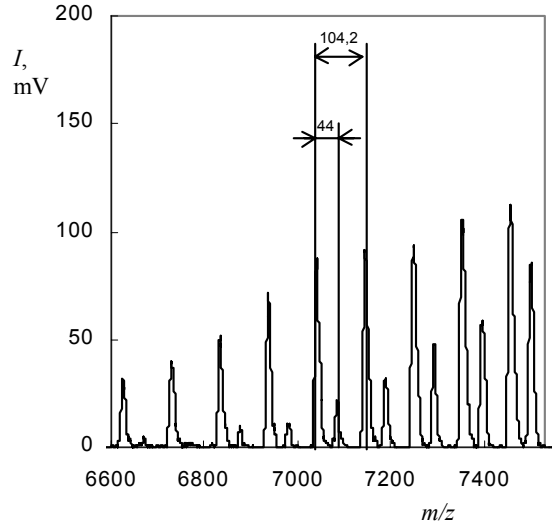
Pro správný výpočet průměrů relativních molekulových hmotností je důležitá správná kalibrace naměřených spekter. Oba polymery byly připraveny aniontovou polymerizací styrenu, přičemž jeden z konců řetězce nese *terc*-butylovou skupinu jako zabudovaný zbytek iniciátoru. PSH má tedy vzorec:

$$(CH_3)_3C\text{—}[CH_2\text{—}CH(C_6H_5)]_n\text{—}H$$

PSOH je místo -H zakončen koncovou skupinou CH_2CH_2OH, a má tedy o 44 jednotek větší relativní molekulovou hmotnost než oligomery PSH obsahující v řetězci stejný počet strukturních jednotek. Z toho lze snadno spočítat přesné relativní molekulové hmotnosti jednotlivých oligomerů PSH, PSOH a jejich kvazimolekulárních iontů. Tyto přesně vypočítané hodnoty se přiřadí k jednotlivým píkům a hmotnostní spektra se překalibrují.



Obr. 1. **Hmotnostní spektra MALDI-TOF vzorků A až E** (složení viz. tab.I); vzorky připraveny krystalizací roztoku směsi polystyrenů (5 mg.ml^{-1}), kyseliny retinové (75 mg.ml^{-1}) a trifluoroctanu stříbrného (5 mg.ml^{-1}) v tetrahydrofuranu v objemovém poměru 1:10:1



Obr. 2. **Výřez hmotnostního spektra MALDI-TOF vzorku C ukazující primární, resp. sekundární sérii píků** (polystyren končený vodíkem, resp. polystyren končený skupinou CH_2CH_2OH, přičemž sekundární série je o 44 jednotek relativní molekulové hmotnosti posunuta)

Další možností kalibrace je využití interního standardu, tzn. přidání látky se známou relativní molekulovou hmotností, která je měřitelná při podmínkách analýzy. Jinou možností je využití metody „multi-peak calibration" známé také jako metoda „self-calibration"[8], která je založena na výpočtu relativních molekulových hmotností polymerních materiálů s využitím znalostí přesných diferencí mezi jednotlivými oligomery. Výhodné je využít tyto druhé dvě metody pro zpřesnění kalibrace a po úspěšné identifikaci iniciátoru (pokud nebyl předem znám) a přiřazení konkrétních píků kalibrovat na přesně spočítané relativní molekulové hmotnosti jednotlivých iontů.

Integrováním jednotlivých píků se dostane jejich plocha A_i(PSH) nebo A_i(PSOH). Dosazením do rovnic:

$$M_n = \left(\frac{\sum \left((M_i - M_{Ag}) \cdot A_i \right)}{\sum A_i} \right)$$

$$M_w = \left(\frac{\sum \left((M_i - M_{Ag})^2 \cdot A_i \right)}{\sum \left((M_i - M_{Ag}) \cdot A_i \right)} \right)$$

se dostanou příslušné průměry relativních molekulových hmotností. M_i je relativní molekulová hmotnost jednotlivých oligomerů, A_i je jejich plocha, M_{Ag} je relativní atomová hmotnost Ag^+ iontů vázaných na jednotlivých molekulách polymeru. Tímto způsobem se spočítají M_n a M_w pro série píků jak PSH, tak PSOH. Je zřejmé, že čím budou distribuční křivky relativních molekulových hmotností širší a méně symetrické, tím bude podíl hmotnostního a číselného průměru relativních molekulových hmotností větší. Tento poměr (M_w/M_n) je označován jako koeficient polydisperzity ν a je další charakteristickou veličinou popisující polymery.

Protože MALDI-TOF MS měří principiálně počet iontů dopadajících na detektor, odpovídá podíl A(PSOH)/A(PSH), kde A(PSOH) je suma A_i(PSOH) a A(PSH) suma A_i(PSH), molárnímu poměru těchto složek. Podle rovnice:

$$\frac{m(\text{PSOH})}{m(\text{PSH})} = \left(\frac{M_n(\text{PSOH}) \cdot A(\text{PSOH})}{M_n(\text{PSH}) \cdot A(\text{PSH})} \right)$$

se vypočítá hmotnostní poměr.

Z tabulky I je patrné, že jak číselné, tak hmotnostní průměry relativních molekulových hmotností spočítané z jednotlivých spekter daných sérií vzorků si vcelku velmi dobře odpovídají. Bylo zjištěno, že ve směsích s postupně klesajícím obsahem PSH dochází společně se snížením hodnoty koeficientu polydisperzity také k určitému poklesu průměrů relativních molekulových hmotností PSH složky. Na obr. 1 je vidět, že vzorek E má širší distribuci než vzorek A (koeficient polydisperzity 1,0195 proti 1,0072)

Tabulka I
Přehled výsledků výpočtů

Vzorek	Série píků	Průměr relat.molekulových hmotností		Koeficient polydisperzity v	Hmotnostní poměr m(PSOH)/m(PSH)
		číselný M_n	hmotnostní M_w		
A	PSOH	8569,73	8632,06	1,0072	–
	PSH	–	–	–	–
B	PSOH	8567,41	8616,81	1,0058	25,80
	PSH	8126,83	8173,71	1,0058	–
C	PSOH	8549,64	8599,18	1,0058	1,40
	PSH	8227,56	8340,05	1,0138	–
D	PSOH	8525,68	8564,62	1,0046	0,26
	PSH	8279,66	8416,72	1,0166	–
E	PSOH	–	–	–	–
	PSH	8440,67	8605,50	1,0195	–

a pozvolnější pokles intenzit píků s rostoucím *m*/*z*. S klesajícím obsahem PSH ve směsích, tak jak jejich množství klesá pod detekční limit, mizí postupně ze spekter píky s nižší intenzitou. Právě to má u vzorku PSH s nesymetrickou distribuční křivkou za následek pokles průměrů relativních molekulových hmotností. U vzorku PSOH, který má distribuční křivky s daleko symetričtějším charakterem, se tento posun průměrů relativních molekulových hmotností se změnou poměru složek ve vzorcích neprojevuje.

Závěr

Tato práce sleduje jedno z možných využití techniky MALDI-TOF MS pro analýzu syntetických polymerů. Tato metoda je vhodná nejen pro studium biopolymerů, ale nachází uplatnění i v chemii syntetických polymerů, protože hmotnostní spektra ukazují převážně jednou nabité kvazi-molekulární ionty bez fragmentace, a jsou tedy velmi jednoduchá. Provedené experimenty při analýze směsí polystyrenů ukázaly, že MALDI-TOF MS dokáže účinně a přitom velmi jednoduše identifikovat jednotlivé oligomery polystyrenů s různými koncovými skupinami, určit distribuce molekulových hmotností, koeficient polydisperzity a stanovit molární resp. hmotnostní složení směsi.

LITERATURA

1. Nielen M. W. F.: Mass Spectrom. Rev. *18*, 309 (1999).
2. Murgasova R., Hercules D. M.: Int. J. Mass Spectrom. *226*, 151 (2003).
3. Bauer B. J., Wallace W. E., Fanconi B. M., Guttman C. M.: Polymer *42 (25)*, 9949 (2001).
4. Chmelík J., Konečný P., Planeta J., Zdráhal Z., Vejrosta J., Chmelík J., Jr.: HRC J. High Resolut. Chromatogr. *23*, 502 (2000).
5. Chmelík J., Planeta J., Řehulka P., Chmelík J., Jr.: J. Mass Spectrom. *36*, 760 (2001).
6. Planeta J., Řehulka P., Chmelík J.: Anal. Chem. *74*, 3911 (2002).
7. Guttman C. M., Wetzel S. J., Blair W. R., Fanconi B. M., Girard J. E., Goldschmidt R. J., Wallace W. E., VanderHart D. L.: Anal. Chem. *73*, 1252 (2001).
8. Montaudo G., Montaudo M. S.: Anal. Chem. *66*, 4366 (1994).

K. Mazanec[a,b] and J. Chmelík[a] *([a]Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, [b]Faculty of Chemistry, Technical University, Brno):*
Utilization of MALDI-TOF MS for Analysis of Polymer Mixtures

Utilization of MALDI-TOF MS in polymer analysis is described. The method is suitable both for biopolymers and synthetic polymers. Various mixtures of OH- and H-terminated polystyrenes were studied. MALDI-TOF MS is able to identify individual oligomers with different end-groups, to determine molecular weight distribution and polydispersity, and to analyze molar or weight composition of polymer mixtures.

Ústav makromolekulární chemie AV ČR v Praze

nabízí

DOKTORSKÉ STUDIUM POLYMERŮ

Studium probíhá ve spolupráci s vysokými školami v ČR. Témata studia se týkají různých oblastí moderní polymerní vědy, např. syntézy polymerů pro využití v medicíně a biologii, samoorganizace polymerů pro využití v technologických aplikacích, funkcionalizace polymerů pro reakce na stimuly prostředí, recyklace odpadních plastů, využití špičkových fyzikálních a fyzikálně-chemických metod při studiu a ovlivňování vlastností polymerů.

Anotace témat a další informace jsou vystaveny na stránce Možnosti studia na www.imc.cas.cz .V případě zájmu o některé z témat prosím kontaktujte školitele uvedeného u tématu nebo tajemníka ÚMCH pro vědeckou výchovu RNDr. Petra Štěpánka, DrSc. (tel. 296 809 111, e-mail: stepanek@imc.cas.cz).

ODSTRAŇOVÁNÍ HERBICIDU ATRAZINU Z POVRCHOVÉ VODY

HANA KRÝSOVÁ[a], JOSEF KRÝSA[b], JANA HUBÁČKOVÁ[c], JAN TŘÍSKA[d] a JAROMÍR JIRKOVSKÝ[a]

[a] Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8, [b] Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav anorganické technologie, Technická 5, 166 28 Praha 6, [c] Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Podbabská 30, 160 62 Praha 6, [d] Ústav ekologie krajiny AV ČR, Branišovská 31 , 370 05 České Budějovice
krysaj@vscht.cz

Došlo 7.7.03, přijato 5.2.04.

Klíčová slova: atrazin, koagulace, filtrace, fotokatalýza, TiO_2.

Úvod

Pesticidy představují znečištění, které se dostává do vodotečí a nádrží především splachem z polí a plodin a transportem větrem při leteckém postřiku. Pesticidy mohou porušit biologickou rovnováhu v tocích tím, že toxicky působí na biocenózu, nepříznivě ovlivňují samočistící schopnost vody, její pach a chuť a při proniknutí do pitné vody ohrožují zdraví obyvatelstva. Atrazin patří do skupiny 1,3,5-triazinů. Strukturní vzorec atrazinu je znázorněn na obr. 5. Přítomnost herbicidu atrazinu byla např. zjištěna v malé říčce ve státě Iowa, USA[1]. Koncentrace atrazinu se pohybovala v rozmezí 0,2–0,7 $\mu g.l^{-1}$ s výrazným sezónním nárůstem (2–9 $\mu g.l^{-1}$). Protože na úseku dlouhém 12 km klesla jeho koncentrace přibližně o 20 %, podléhá malá část atrazinu samovolné degradaci, ale převážná část je stabilní.

V současné době je v ČR dodávána více než polovině obyvatel zásobovaných z veřejných vodovodů voda upravená právě z povrchových zdrojů. Mnohé z nich mohou v různých koncentracích obsahovat i atrazin[2]. Jeho přítomnost byla prokázána ve Vltavě v Praze-Podolí[2], kde se koncentrace atrazinu pohybovala v rozmezí 0,075–0,300 $\mu g.l^{-1}$, přičemž hygienický limit pro atrazin v pitné vodě je podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 378/2000 Sb. 0,100 $\mu g.l^{-1}$. Rozpustnost atrazinu ve vodě je nízká ($1{,}61.10^{-4}$ M) a nezávisí na pH (cit.[3]).

V literatuře je popsána řada způsobů odstraňování atrazinu. Jednou z metod je adsorpce na granulovaném aktivním uhlí (GAU). Výhodou metody je její jednoduchost a snadná aplikace v úpravnách pitné vody. Nevýhodou je to, že atrazin pouze přejde do jiné fáze a k jeho destrukci nedojde. V poslední době bylo sledováno odstraňování atrazinu adsorpcí na GAU a vliv doby běžného provozu (5–20 měsíců) na účinnost odstranění atrazinu[4]. Naměřené adsorpční izotermy ukazují, že sorbovaný organický materiál prudce snižuje adsorpční kapacitu GAU pro atrazin, zatímco kinetika adsorpce se výrazně nemění.

Mezi další metody patří tzv. pokročilé oxidační procesy, jejichž podstatou je přídavek nebo tvorba vysoce reaktivních částic, které jsou schopny oxidovat i velmi stabilní molekuly. V literatuře je popsána degradace atrazinu ultrazvukem[5], oxidace Fentonovým činidlem[6,7] (Fe^{2+} + H_2O_2, H_2O_2 a O_3), homogenní fotokatalýzou[8] (H_2O_2, UV záření) a fotoheterogenní katalýzou[9–11] (polovodičový katalyzátor TiO_2 + UV záření).

K odstraňování dochází také při koagulaci během úpravy povrchových vod na vodu pitnou. Účelem vodárenské koagulace je vytvořit v surové vodě takové podmínky, aby se agregátně stabilní nečistoty, původně přítomné ve vodě, shlukly do větších celků, které pak lze z vody odstranit sedimentací a filtrací nebo flotací a filtrací. Koagulací se z vody odstraňují většinou jemně suspendované a koloidní složky. Při volbě vhodného koagulantu se vychází hlavně ze složení surové vody. Pro úpravu vod s malou mineralizací (z nádrží situovaných v horních úsecích toků) jsou vhodné hlinité soli. Pro úpravu vod více antropogenně zasažených, se používají soli železité. Kladně nabité částice koagulují s částicemi nečistot koloidní povahy, které nesou záporný náboj a vytvářejí tak separovatelné vločkovité suspenze.

Cílem této práce bylo ověření schopnosti klasického procesu úpravy vod koagulací odstraňovat herbicid atrazin a dále ověření možnosti jeho následného odstranění ze surové vody fotokatalytickou degradací nebo adsorpcí na GAU.

Experimentální část

Úprava surové vody

Pro modelové zkoušky dvoustupňové úpravy vltavské vody byly použity tři koagulanty. Síran železitý ve formě vodného roztoku (PIX-113), krystalický síran hlinitý $Al_2(SO_4)_3$. 18 H_2O a vodný roztok polyaluminiumchloridu (PAC) ($Al_n(OH)_mCl_{3n-m}$, 17 % Al_2O_3, hustota 1,36 $g.cm^{-3}$, dodavatel Prochemie, výrobce Kemwater).

Do stanoveného objemu surové vltavské vody (profil VÚV TGM Praha – Podbaba) bylo přidáno určité množství zásobního roztoku atrazinu. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním naváženého množství atrazinu (Riedel de Haen) v destilované vodě pro každý experiment s koagulantem zvlášť. Kvůli malé rozpustnosti atrazinu ve vodě bylo nutné několikadenní míchání a následné odstranění nerozpuštěného podílu filtrací. Koncentrace atrazinu v zásobním roztoku pro různé koagulanty proto kolísala (≈15–25 $mg.dm^{-3}$), a tím se lišila jeho výsledná koncentrace v surové vodě (3,2–4,1 $mg.dm^{-3}$). Zásobní roztok měl pH 6, což znamená, že rychlost hydrolýzy atrazinu v zásobním roztoku byla zanedbatelná.

Koncentrace atrazinu v obohacené surové vodě byla vyšší než by odpovídalo výskytu tohoto herbicidu v reálné

povrchové vodě. Bylo předpokládáno, že během dvoustupňové úpravy dojde k poklesu o 1 řád a dále během fotodegradace nebo filtrace přes GAU o další 2 řády. Aby bylo možno sledovat koncentraci atrazinu v průběhu celého experimentu metodou HPLC (mez detekce ≈ 10^{-7}–10^{-8} M), byla koncentrace atrazinu zvolena ≈ 2.10^{-5} M (4 mg.dm^{-3}).

K takto připravené vodě bylo přidáno optimální množství koagulantu (stanoveno laboratorní koagulační zkouškou) a dále byla na šestimístném laboratorním míchacím zařízení dvoustupňově upravena, tj. zkoagulována a sedimentována. Do každé ze šesti dvoulitrových kádinek bylo vzorkováno 1,5 l vody. Vzorky byly nejprve míchány s vysokou rychlostí otáček (100–200 za min) a dále míchány po dobu 20 min rychlostí 25 otáček za 1 min. Po 30 min sedimentace byly vzorky filtrovány přes plovákové filtrační elementy[12], naplněné pískem o zrnění 0,7–0,8 mm a výšce vrstvy 7 cm, při filtrační rychlosti 5 m.h^{-1}. Aby se ustavila rovnováha při komplexační reakci mezi atrazinem a přirozeným pozadím organických látek (NOM), bylo mezi přidáním atrazinu a koagulantu vyčkáno cca 2–4 h.

Uvedený postup byl opakován až do vyčerpání zásoby surové vody obohacené atrazinem tak, aby bylo získáno 12 l vody dostačující pro třetí stupeň úpravy vody přes granulované aktivní uhlí (GAU) a pro fotokatalytickou úpravu na TiO_2 ozařovaném UV zářením.

A d s o r p c e n a G A U

Třetí stupeň úpravy byl modelován filtrací přes granulované aktivní uhlí. Pro pokusy s koagulantem Fe^{3+} bylo použito granulované aktivní uhlí Chemviron carbon Typ TL 830, Ref.: Fe 20/28 B a pro pokusy s koagulantem Al^{3+} ještě pro srovnání aktivní uhlí Desorex, určené pro plovákové filtry.

Zrněné aktivní uhlí bylo proplachováno destilovanou vodou, aby se zavodnilo a zároveň se snížilo pH. V práci[13] doporučují před použitím GAU v procesu úpravy vody jeho zavodnění a výměnu vody o objemu min. 10, lépe 20–30 násobek jeho objemu podle druhu uhlí. U Desorexu se po čtyřdenním vyluhování nepodařilo podstatně snížit pH (pouze o desetiny). Při zavodňování po dobu 49 dní již pH výluhu pokleslo (viz tab. VI).

Vzorek po dvoustupňové úpravě byl naplněn do 2 l kádinky a bylo vloženo plovákové zařízení s filtračním elementem naplněným GAU. Filtrace probíhala při rychlosti 5 m.h^{-1}.

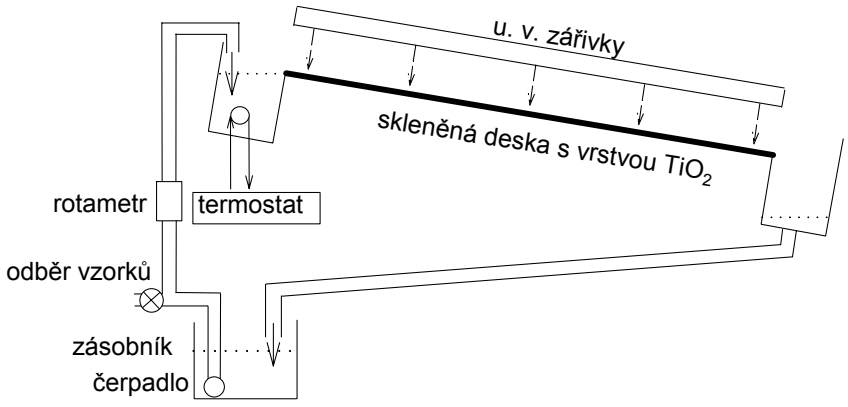
F o t o k a t a l y t i c k á d e g r a d a c e

Hlavní částí deskového vsádkového solárního reaktoru (obr. 1) je obdélníková deska se dvěmi zásobníky na obou koncích, která je nakloněna pod úhlem 10°. Je konstruována tak, aby na ní bylo možno položit skleněnou desku o rozměrech 60 × 30 × 0,4 cm. Rovnoběžně nad skleněnou deskou byla upevněna ocelová deska s třemi UV zářivkami (Osram Eversun L40W/79K, délka 60 cm) s maximální zářivostí při 355 nm. Zářivky byly umístěny rovnoběžně se směrem toku kapaliny s odstupy 12,5 cm a v kolmé vzdálenosti 12 cm.

Na skleněnou desku byla předem nanesena vrstva polovodivého oxidu titaničitého (P25, Degussa, složení 80 % anatas a 20 % rutil). Skleněná deska byla nejdříve odmaštěna a máčena v 20% HNO_3. Vodná suspense TiO_2 (10 g.dm^{-3}, pH 3) byla nalita na desku a nechána sedimentovat 3–4 h. Po této době byla deska vyjmuta a položena vertikálně tak, aby steklo přebytečné množství suspense TiO_2. Vrstva TiO_2 byla potom sušena při pokojové teplotě. Nakonec byla vrstva vypékána 3 hodiny při 300 ± 10 °C.

A n a l y t i c k é m e t o d y

Koncentrace zásobního roztoku atrazinu v destilované vodě byla stanovena UV-VIS spektrofotometrem 2001 fy Cecil (maximum absorbance při 224 nm). Ve filtrátu po koagulaci byla stanovována hodnota pH, celkové alkality ($KNK_{4,5}$), chemické spotřeby kyslíku ($CHSK_{Mn}$), absorbance při 254 nm (A_{254}) a koncentrace



Obr. 1. **Schéma deskového vsádkového solárního fotoreaktoru s laminárním tokem roztoku**; *D* je vzdálenost mezi zářivkami a TiO_2 vrstvou (12 cm), *w* je šířka desky s TiO_2 vrstvou (30 cm), *L* je délka desky s TiO_2 vrstvou (*L* = 60 cm) a α je náklon desky (10 °)

zbytkového koagulantu. K stanovení fyzikálně-chemických hodnot byly použity metody uvedené v literatuře[14]. Hodnota pH byla měřena na pH-metru značky pH 03 Labio, A_{254} v 1 cm kyvetě na UV/VIS spektrometru Unicam 8700 Series. Koncentrace zbytkového koagulantu byla stanovována spektrofotomericky na témže přístroji při vlnové délce 500 nm (Fe^{3+}) a 535 nm (Al^{3+}). Stanovení koncentrace atrazinu v surové vodě a dále po aplikaci jednotlivých technologických postupů bylo provedeno metodou HPLC s UV detektorem. Důvodem je snížení koncentrace atrazinu po jednotlivých úpravách. Během fotodegradace navíc vznikají meziprodukty, které absorbují při stejné vlnové délce jako atrazin. K identifikaci nejvýznamějších primárních meziproduktů bylo použito metody GC-MS.

Určení optimální dávky koagulantu pro koagulaci

Byl proveden zkrácený rozbor surové vody a stanoveny hodnoty pH, $KNK_{4,5}$, $CHSK_{Mn}$, A_{254} a zákalu. Odhad základní koncentrace koagulantu se obvykle provádí podle obsahu hydrogenuhličitanových iontů v surové vodě podle vzorce[15]:

$$D = 100m \qquad (1)$$

kde D je koncentrace koagulačního činidla v $mg.l^{-1}$ a m hodnota $KNK_{4,5}$ v $mmol.l^{-1}$ (u běžných přírodních vod jde o koncentraci iontů HCO_3^-) nebo podle míry organického znečištění

$$D = 8\,CHSK_{Mn} \qquad (2)$$

kde $CHSK_{Mn}$ je hodnota chemické spotřeby kyslíku ($mg.l^{-1}$) podle Kubelovy metody.

Výsledky a diskuse

Úprava surové vody

Na základě zkráceného rozboru surové vody (1. ř. v tab. I až III) byly podle rovnice (*1*) odhadnuty základní koncentrace koagulantů. 135 $mg.l^{-1}$ $Fe_2(SO_4)_3$. 9 H_2O a 120 $mg.l^{-1}$ $Al_2(SO_4)_3$. 18 H_2O, což odpovídá koncentraci 26,9 $mg.l^{-1}$ Fe^{3+} a 9,6 $mg.l^{-1}$ Al^{3+}. Podle rovnice (*2*) mají základní dávky koagulantů hodnoty 8,0 $mg.l^{-1}$ Fe^{3+} a 3,5 $mg.l^{-1}$ Al^{3+}. Dále byla provedena zkouška s cílem určení optimální dávky koagulantu pro koagulaci.

Výsledky jsou pro jednotlivé koagulanty uvedeny v tab. I–III. Jako optimální byla stanovena dávka 25 mg $Fe^{3+}.l^{-1}$ (síran železitý), 7,29 mg $Al^{3+}.l^{-1}$ (síran hlinitý) a 5,7 mg $Al^{3+}.l^{-1}$ (polyaluminiumchlorid). Ze srovnání experimentálních hodnot a odhadnutých optimálních hodnot získaných na základě rovnic (*1*) a (*2*) je vidět, že experimentální výsledky jsou v dobré shodě s odhadem podle rovnice (*1*).

V tabulkách IV–VI jsou uvedeny parametry surové vody po dvoustupňové úpravě a následné filtraci přes GAU. Je patrné, že přidáním atrazinu se parametry surové vody nezmění, jen CHSK se mírně zvýší. Po koagulaci klesne KNK i CHSK přibližně o 50 %, koncentrace atrazinu klesne pro koagulant $Fe_2(SO_4)_3$ o 13 %, u koagulantu $Al_2(SO_4)_3$. 18 H_2O o 11 % a pro $Al_n(OH)_mCl_{3n-m}$ klesne koncentrace atrazinu jen nepatrně (o 2 %).

Tabulka I
Stanovení optimální koncentrace dávky koagulantu $Fe_2(SO_4)_3$. 9 H_2O (PIX 113)

Koncentrace Fe^{3+} [$mg.dm^{-3}$]	pH	$KNK_{4,5}$ [$mmol.dm^{-3}$]	Fe [$mg.dm^{-3}$]	$CHSK_{Mn}$ [$mg.dm^{-3}$]	$A_{254\ nm}$
0,0	7,70	1,35	–	5,0	0,130
5,0	7,30	1,10	1,80	5,3	0,282
10,0	6,85	0,80	2,60	3,6	0,278
15,0	6,55	0,50	0,55	2,3	0,094
20,0	6,30	0,35	0,30	1,9	0,064
25,0	5,40	0,15	0,05	1,6	0,031
30,0	4,40	0,00	0,30	1,8	0,035

Tabulka II
Stanovení optimální dávky koagulantu $Al_2(SO_4)_3$ .18 H_2O

Koncentrace Al^{3+} [$mg.dm^{-3}$]	pH	$KNK_{4,5}$ [$mmol.dm^{-3}$]	Al [$mg.dm^{-3}$]	$CHSK_{Mn}$ [$mg.dm^{-3}$]	$A_{254\ nm}$
0,00	7,75	1,26	–	5,4	0,146
5,67	6,75	1,00	0,135	3,2	0,044
6,48	6,60	0,75	0,143	2,2	0,069
7,29	6,50	0,70	0,178	2,2	0,066
8,10	6,50	0,60	0,245	2,1	0,047
8,91	6,45	0,50	0,266	2,1	0,048
9,72	6,40	0,45	0,630	2,1	0,049

Tabulka III
Stanovení optimální dávky koagulantu $Al_n(OH)_mCl_{3n-m}$ (Kemwater)

Koncentrace Al^{3+} [$mg.dm^{-3}$]	pH	Al [$mg.dm^{-3}$]	$CHSK_{Mn}$ [$mg.dm^{-3}$]
0,0	7,40	–	6,3
5,7	6,85	0,04	2,4
6,5	6,80	0,01	2,2
7,3	6,70	0,00	2,2

Filtrace přes GAU probíhá daleko efektivněji při použití koagulantů obsahujících Al^{3+}, kde koncentrace atrazinu klesla na 8 % počáteční hodnoty, zatímco pro $Fe_2(SO_4)_3$ koncentrace atrazinu po filtraci přes GAU klesla na 35 % původní hodnoty.

Fotokatalytická degradace

Fotokatalytické odstranění toxických látek[16] spočívá v absorpci fotonu o určité energii na povrchu polovodičo-

Tabulka IV
Parametry upravované vody, koagulant $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 9\,H_2O$, (PIX 113)

Koncentrace Fe^{3+}: 25 mg.dm^{-3}	Voda	Voda + atrazin	Po dvoustupňové úpravě	Po dvoustupňové úpravě a filtraci přes GAU (Chemwiron)[a]
pH	7,70	7,60	4,70	6,65
KNK $_{4,5}$, mmol.dm^{-3}	1,35	1,30	0,15	0,35
$CHSK_{Mn}$, mg O_2 dm^{-3}	5,0	5,1	1,8	1,5
A (254 nm)	0,130	0,156	0,102	0,053
c_{Fe}^{3+}, mg.dm^{-3}	0	0	0,25	0,075
c_{at}, mg.dm^{-3}	≤ 0,06	4,13	3,60	1,43

[a] Proplach GAU 4 dny (pH ve výluhu Chemviron carbon – 8,6, Desorex –10,3)

Tabulka V
Parametry upravované vody, koagulant $Al_2(SO_4)_3 .18\,H_2O$

Koncentrace Al^{3+}: 7,29 mg.dm^{-3}	Voda	Voda + atrazin	Po dvoustupňové úpravě	Po dvoustupňové úpravě a filtraci přes GAU (Desorex)[a]	Po dvoustupňové úpravě a filtraci přes GAU (Chemwiron)[a]
pH	7,45	7,50	5,95 (6,2)	9,35	9,10
KNK $_{4,5}$, mmol.dm^{-3}	1,15	1,10	0,25	0,70	0,70
$CHSK_{Mn}$, mg O_2 dm^{-3}	5,6	7,2; 7,1	3,3	2,3	1,3
A (254 nm)	0,176	0,197	0,085	0,030	0,012
c_{at}, mg.dm^{-3}	≤ 0,06	3,21	2,87	0,58	0,26

[a] Proplach GAU 4 dny (pH ve výluhu Chemviron carbon – 8,6, Desorex – 10,3)

Tabulka VI
Parametry upravované vody, koagulant $Al_n(OH)_mCl_{3n-m}$ (KEMWATER)

Koncentrace Al^{3+}: 5,7 mg.dm^{-3}	Voda	Voda + atrazin	Po dvoustupňové úpravě	Po dvoustupňové úpravě a filtraci přes GAU (Desorex)[a]	Po dvoustupňové úpravě a filtraci přes GAU (Chemwiron)[a]
pH	7,40	7,30	6,80	7,70	7,65
KNK $_{4,5}$, mmol.dm^{-3}	1,30	1,10	0,75	1,10	1,40
$CHSK_{Mn}$, mg O_2 dm^{-3}	5,6	5,6	2,2	1,6	0,9
A (254 nm)	0,153	0,176	0,081	0,026	0,070
c_{at}, mg.dm^{-3}	≤ 0,06	3,23	3,16	0,52	0,24

[a] Proplach GAU 49 dní (pH ve výluhu (Chemviron carbon – 8,0, Desorex – 9,3)

vého fotokatalyzátoru (např. TiO_2), který je v kontaktu s plynným nebo kapalným reakčním médiem.

Pokud je energie fotonu *E* vyšší než energetická šířka mezery mezi valenčním a vodivostním pásem (pro TiO_2 anatas musí být vlnová délka dopadajícího záření nižší než 388 nm), elektron je excitován ve valenčním pásu (VB) a přeskočí do energeticky výše položeného vodivostního pásu (CB). Tím vznikne ve valenčním pásu díra, která představuje volně pohyblivý náboj

$$SC + h\nu \rightarrow e^-_{CB} + h^+_{VB} \qquad (3)$$

Díry, které vzniknou ozářením polovodivého oxidu, mají extrémně vysoký oxidační potenciál (pro TiO_2 – 3,2 eV). Tyto díry mohou reagovat na povrchu polovodiče s vodou za vzniku OH radikálů.

$$h^{+}_{VB} + H_2O = OH^{\bullet} + H^{+} \qquad (4)$$

Tyto radikály mají velice silné oxidační vlastnosti a jsou schopné oxidovat i velmi stabilní organické látky. Hodnoty oxidačního potenciálu jsou od 1 do 3,5 V (proti standardní vodíkové elektrodě).

Jako akceptor elektronů ve vodivostním pásu slouží rozpuštěný vzdušný kyslík.

$$O_2 + e^{-}_{CB} \rightarrow O_2^{-\bullet} \qquad (5)$$

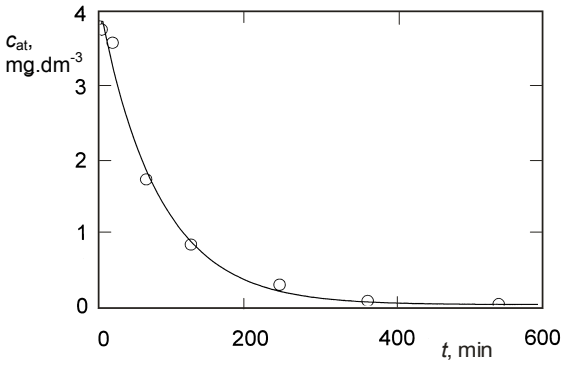
Na obr. 2 je znázorněna závislost koncentrace atrazinu na době fotodegradace pro koagulant $Fe_2(SO_4)_3$. Je vidět, že koncentrace klesá exponenciálně s dobou degradace. Je možno předpokládat, že při konstantní intenzitě světla bude koncentrace OH radikálů na povrchu katalyzátoru konstantní. Fotokatalytický rozklad atrazinu potom probíhá jako reakce pseudoprvního řádu a rychlost úbytku atrazinu lze vyjádřit rovnicí

$$\frac{dc_{at}}{dt} = k\, c_{OH^{\bullet}}\, c_{at} = k_{exp}\, c_{at} \qquad (6)$$

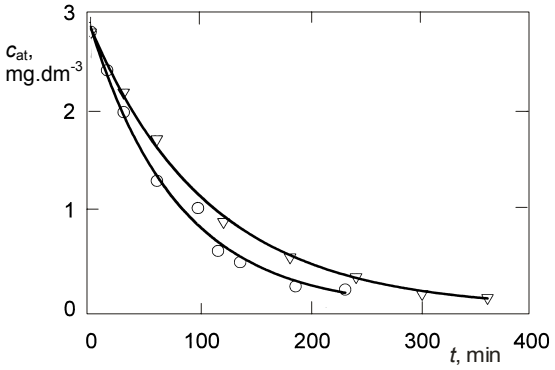
kde t je čas (s), $c_{OH^{\bullet}}$ je koncentrace OH radikálů (mol.dm^{-3}), c_{at} je koncentrace atrazinu (mol.dm^{-3}) a k_{exp} je experimentální rychlostní konstanta (s^{-1}).

Vliv intenzity UV záření na rychlost fotodegradace atrazinu je pro koagulant $Al_2(SO_4)_3$ znázorněn na obr. 3. Experimentální rychlostní konstanty jsou uvedeny v tab. VII. Rychlost fotodegradace je pro všechny tři použité koagulanty blízká a hodnoty k_{exp} se pohybují v rozmezí 0,19–0,21 .10^{-3} s^{-1}. Zvýšení intenzity světla o ≈ 100 % vede ke zvýšení rychlostní konstanty pouze o 35 %. To ukazuje na to, že rychlost fotodegradace nevzrůstá úměrně se vzrůstem intenzity světla. Důvodem je skutečnost, že s rostoucí intenzitou světla se zvyšuje podíl fotogenerovaných děr a elektronů, které rekombinují v objemu fotokatalyzátoru, a tím se snižuje kvantový výtěžek. Tento jev byl již pozorován jinými autory[17,18], kteří uvádějí, že rychlost degradace je přímo úměrná druhé odmocnině intenzity světla.

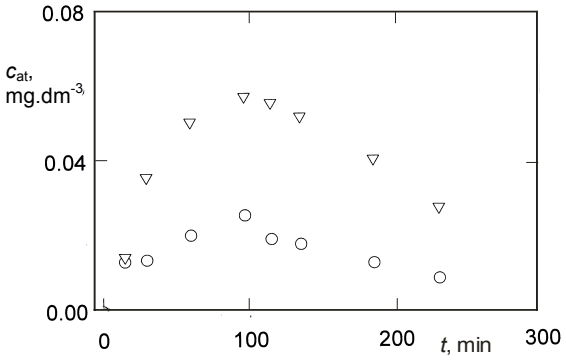
Metodou GC-MS byly identifikovány některé primární meziprodukty degradace atrazinu (4-chlor-6-(ethylamino)-1,3,5-triazin-2-amin, CEAT) a (4-chlor-6-(isopropylamino)-1,3,5-triazin-2-amin, CIAT) a sledován průběh jejich koncentrací během fotodegradace atrazinu (viz obr. 4). Na obr. 5 jsou potom naznačeny počáteční stupně fotokatalytické degradace atrazinu. Je patrné, že koncentrace primárních meziproduktů vykazují maxima po 100 min ozařování, kdy koncentrace atrazinu klesne na ≈ 25 % počáteční hodnoty. S dobou fotodegradace se dále koncentrace CEAT a CIAT snižuje, což ukazuje na to, že meziprodukty dále podléhají fotokatalytické oxidaci a soutěží s atrazinem o OH radikál.



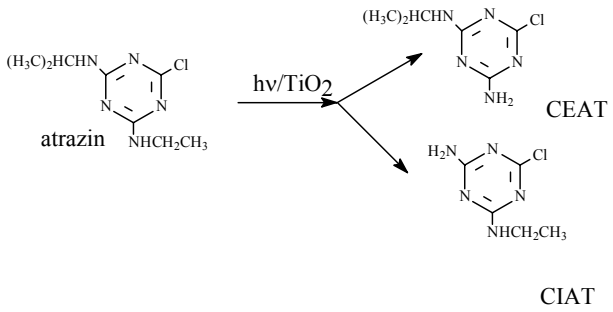
Obr. 2. **Závislost koncentrace atrazinu na době fotodegradace**; koagulant $Fe_2(SO_4)_3$, 7 zářivek, 5 l roztoku atrazinu, průtok 280 l.h^{-1}



Obr. 3. **Závislost koncentrace atrazinu na době fotodegradace, vliv intenzity UV záření**; koagulant $Al_2(SO_4)_3$, 5 l roztoku atrazinu, průtok 280 l.h^{-1}. ∇ 3 zářivky, ○ 7 zářivek



Obr. 4. **Závislost koncentrace meziproduktů fotodegradace atrazinu (4-chlor-6-(ethylamino)-1,3,5-triazin-2-amin, CEAT a 4-chlor-6-(isopropylamino)-1,3,5-triazin-2-amin, CIAT) na době fotodegradace**; koagulant $Al_2(SO_4)_3$, 7 zářivek, 5 l roztoku atrazinu, průtok 280 l.h^{-1}, ∇ CEAT, ○ CIAT



Obr. 5. **Počáteční stupně fotokatalytické degradace atrazinu;** CEAT: 4-chlor-6-(ethylamino)-1,3,5-triazin-2-amin, CIAT: 4-chlor-6-(isopropylamino)-1,3,5-triazin-2-amin

Závěr

Byla ověřena možnost odstraňování herbicidů, konkrétně triazinového herbicidu atrazinu klasickým dvoustupňovým procesem úpravy vody (koagulace, filtrace). K surové vodě (vltavská voda, profil VÚV TGM Praha-Podbaba) byl přidán atrazin (koncentrace ≈ 4 mg.l^{-1}). Byly testovány 3 typy koagulantů: síran železitý, síran hlinitý a polyaluminiumchlorid.

Bylo zjištěno, že dvoustupňová úprava surové vody nestačí k odstranění atrazinu přítomného v množství 3–4 mg.l^{-1}. Filtrace přes GAU je možno použít k částečnému odstranění atrazinu (na hodnotu 0,2–0,5 mg.l^{-1}), problémem však zůstává likvidace použitého GAU.

Fotokatalytickou degradací byla snížena koncentrace atrazinu o 2 řády (na hodnotu 0,05 mg.l^{-1}) za 450 min, což představuje spotřebu energie ≈ 200 Wh.l^{-1}. Ukazuje se, že fotokatalytickou degradaci je možno použít k odstranění atrazinu v surové vodě. Nevýhodou jsou však vysoké náklady na úpravu vody a dále dlouhá doba zdržení v reaktoru.

Tato studie byla vypracována za finanční podpory Ministerstva průmyslu a obchodu České republiky (projekt č. FD-K3/086) a finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekt č. 1M4531477201).

LITERATURA

1. Kolpln D. W., Kalkhoff S. J.: Environ. Sci. Technol. *27*, 134 (1993).
2. Kužílek V.: Vodní hospodářství *8*, 247 (1997).
3. Ward T. M., Weber J. B.: J. Agric. Food Chem. *16*, 959 (1968).
4. Knappe D. R. U., Snoeyink V. L., Roche P., Prados M. J., Bourbigot M. M.: J. Am. Water Works Assoc. *91*, 97 (1999).
5. Petrier Ch., David B., Laguian S.: Chemosphere *32*, 1709 (1996).
6. Arnold S. M., Hickey W. J., Harris R. F.: Environ. Sci. Technol. *29*, 2083 (1995).
7. Nélieu S., Kerhoas L., Einhorn J.: Environ. Sci. Technol. *34*, 430 (2000).
8. Chan G. Y. S., Hudson M. J., Isaacs N. S.: J. Phys. Org. Chem. *5*, 600 (1992).
9. Maurino V., Minero C., Pelizzeti E., Serpone N.: *Fine Particles Science and Technology*, E. Pelizzeti (ed.), str. 707. Kluwer Academic Publishers (1996).
10. Minero C., Pelizzeti E., Malato S., Blanco J.: Sol. Energy *56*, 411 (1996).
11. Texier I., Ouazzani J., Delaire J., Giannoti Ch.: Tetrahedron *55*, 3401 (1999).
12. Žáček L., Šorm J., Maštalíř L., Vaněček.: *Modifikovaný způsob provádění laboratorních koagulačních zkoušek*. VTEI č. 12, 470 (1981).
13. Hobby R., Dischhauser J., Gimbel R.: *Proc. IV-th Conf. Water Supply and Water Quality, Krakow, 10–13 září 2000*, str. 749. Krakow 2000.
14. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. Str. 389. SNTL, ALFA, Praha 1986.
15. Žáček, L.: *Chemické a technologické procesy úpravy vody*, NOEL 2000 s.r.o. (1999).
16. Krýsa J., Vodehnal L. , Jirkovský J.: J. Appl. Electrochem. *29*, 429 (1999).
17. Trillas M., Peral J., Domenech X.: Appl. Catal., B *3*, 45 (1993).
18. Kormann C., Bahnemann D. W., Hoffmann M. R.: Environ. Sci. Technol. *25*, 494 (1991).

H. Krýsová[a], J. Krýsa[b], J. Hubáčková[c], J. Tříska[d], and J. Jirkovský[a] *(J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, [b] Department of Inorganic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, [c] T. G. Masaryk Water Research Institute, Prague, [d] Institute of Landscape Ecology, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budějovice):* **Removal of Pesticide Atrazine from Raw Water**

Removal of atrazine, a triazine herbicide, from its model solutions in raw river water (3–4 mg.l^{-1}) was investigated. First, coagulation and filtration were applied. As a third step, adsorption on granulated active carbon or photocatalytic degradation on TiO_2 were used. While the classic two-step treatment practically did not change the starting atrazine concentration, the filtration through active carbon caused its decrease to 0.5–0.2 mg.l^{-1} and the photocatalysis to 0.05 mg.l^{-1}. However, a prolonged treatment process and increased operation costs are major drawbacks of the last mentioned method.

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

DOPORUČENÍ IUPAC

Nomenclature of Organic Chemistry

For nomenclature purposes, a structure containing at least one carbon atom is considered to be an organic compound. The formation of a systematic name for an organic compound requires selection and then naming of a parent structure. This basic name may then be modified by prefixes, infixes, and, in the case of a parent hydride, suffixes, which convey precisely the structural changes required to generate the compound in question from the parent structure. In contrast to such systematic names, there are traditional names which are widely used in industry and academic circles. Examples are acetic acid, benzene and pyridine. Therefore, when they meet the requirements of utility and when they fit into the general pattern of systematic nomenclature, these traditional names are retained. A major new principle is elaborated in these Recommendations. The concept of 'preferred IUPAC names' is developed and systematically applied. Up to now, the nomenclature developed and recommended by IUPAC has emphasized the generation of unambiguous names in accord with the historical development of the subject. In 1993, due to the explosion in the circulation of information and the globalization of human activities, it was deemed necessary to have a common language that will prove important in legal situations, with manifestations in patents, export-import regulations, environmental and health and safety information, etc. However, rather than recommend only a single 'unique name' for each structure, we have developed rules for assigning 'preferred IUPAC names', while continuing to allow alternatives in order to preserve the diversity and adaptability of the nomenclature to daily activities in chemistry and in science in general. Thus, the existence of preferred IUPAC names does not prevent the use of other names to take into account a specific context or to emphasize structural features common to a series of compounds. Preferred IUPAC names belong to '**preferred IUPAC nomenclature**' Any name other than a preferred IUPAC name, as long as it is unambiguous and follows the principles of the IUPAC recommendations herein, is acceptable as a 'general' IUPAC name, in the context of 'general' IUPAC nomenclature. The concept of preferred IUPAC names is developed as a contribution to the continuing evolution of the IUPAC nomenclature of organic compounds. This book (Recommendations 2004) covers and extends the principles, rules and conventions described in two former publications: Nomenclature of Organic Chemistry, 1979 Edition and A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds, Recommendations 1993. In a few instances, the 1979 rules and the 1993 recommendations have been modified to achieve consistency within the entire system. In case of divergence among the various recommendations, Recommendations 2004 prevail.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru organické chemie, který byl připraven divizí IUPAC pro chemické názvosloví a reprezentaci struktur. Návrh je nyní určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o text návrhu se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2,
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410, e-mail kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese
http://www.iupac.org/reports/provisional/index.html
Připomínky k návrhu je třeba zaslat do 31. března 2005 na adresu:

nebo

Prof. Henri A. Favre
2031 Rue Leclaire
Montréal, QC H1V 3A1
Canada
E-mail: halfa@contact.net

Dr. Warren H. Powell
1436 Havencrest Court
Columbus, OH 43220-3841
USA
E-mail: wpowell2@juno.com

Terminology of Polymers Containing Ionizable or Ionic Groups and of Polymers Containing Ions

The document defines the most commonly used terms relating to polymers containing ionizable or ionic groups and to polymers containing ions. Inorganic materials such as phosphates, silicates, etc., that also may be considered ionic polymers are excluded from the present document. Only those terms that could be defined without ambiguity are considered. Terms subsidiary to the main terms, are printed in bold type in notes to the main terms.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru polymerních materiálů, který byl připraven komisí IUPAC pro makromolekulární nomenklaturu a podvýborem IUPAC pro makromolekulární terminologii. Návrh je určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o texty návrhů se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2,
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410, e-mail kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese
http://www.iupac.org/reports/provisional/index.html
Připomínky k návrhům je třeba zaslat do 31. května 2005 na adresu:

Prof. Przemyslaw Kubisa
Centre of Molecular and Macromolecular Studies
Polish Academy of Sciences
Sienkiewicza 112
PL-90 363 Lódz, Poland
E-mail: pkubisa@bilbo.cbmm.lodz.pl

CENA MERCK

NOVÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ KOBALT BIS(DIKARBOLLIDOVÉHO) ANIONTU JAKO LIPOFILNÍHO PŘÍDAVKU V MEMBRÁNÁCH IONTOVĚ-SELEKTIVNÍCH ELEKTROD

JIŘÍ TUTSCH[a], MARTIN KRONĎÁK[a], RADKO VOLF[a], BOHUMÍR GRÜNER[b] a VLADIMÍR KRÁL[a]

[a]*Ústav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Praha 6, 166 28,* [b]*Ústav anorganické chemie, Akademie věd ČR, Řež, 250 68*
Martin.Krondak@vscht.cz

Došlo 17.3.04, přijato 5.1.05.

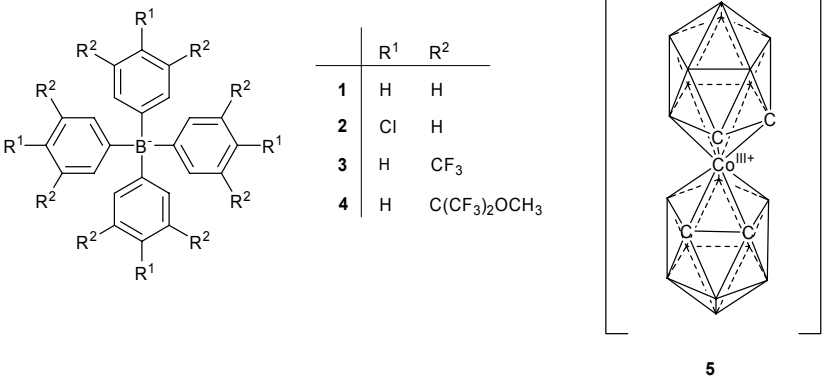
Klíčová slova: kobalt bis(dikarbollid), lipofilní přídavek, iontově-selektivní elektroda

Úvod

Iontově-selektivní elektrody (ISE) jsou díky jednoduchosti aplikace i instrumentace jedním z nejčastěji používaných analytických nástrojů současnosti. Uplatňují se především v klinické a environmentální analýze. Při obrovském množství vzorků (miliony ročně) se i malé zlepšení jejich parametrů významně projeví. V současnosti se výzkum na poli ISE soustřeďuje na zlepšování selektivity elektrod na primární ion, na snižování detekčních limitů a rozšiřování pracovního rozsahu elektrod i na zlepšování jejich dlouhodobé stability.

Klíčovou složkou každé iontově-selektivní elektrody s kapalnou membránou je ionofor schopný selektivně komplexovat kation či anion. Jeho selektivita a komplexační vlastnosti jsou hlavním faktorem ovlivňujícím rozpoznávací vlastnosti elektrody, nicméně nikoli faktorem jediným. Hledání nových ionoforů je doménou supramolekulární chemie a je věcí profesionální cti supramolekulárních chemiků přicházet s ionofory, které jsou selektivnější a lepší než jejich předchůdci. Kromě ionoforu se selektivní membrána skládá z polymerního nosiče, nejčastěji PVC, a plastifikátoru, což je nepolární organické rozpouštědlo tvořící prostředí, ve kterém probíhá vlastní interakce iontu analytu s molekulou ionoforu. Poměr těchto dvou látek ovlivňuje mechanické vlastnosti membrány, volba plastifikátoru pak ovlivňuje selektivitu, resp. interference ionoforem nepreferovaných iontů.

Poslední složkou ve výčtu, nikoli však co do významu, je tzv. lipofilní aditivum, které se přímo podílí na tvorbě odezvy elektrody[1–5] založené na nabitých i neutrálních ionoforech[6–10]. Není-li lipofilní aditivum v membráně přítomno, přebírají jeho úlohu nečistoty z jednotlivých složek membrány. Protože jejich množství je neurčité a zdaleka ne optimální, je i funkčnost takovéto membrány omezená. Hlavním cílem lipofilního aditiva je při použití neutrálních receptorů vyrovnat náboj komplexu ligandu se sledovaným analytem a umožnit tak jeho průnik do membrány nebo dvojvrstvy. Náboj lipofilního přídavku je samozřejmě dán analytem, který je stanovován. Pro monitorování kationtů se jako lipofilní aditivum, resp. koreceptor, v současnosti běžně používají alkalické soli derivátů tetrafenylborátů (obr. 1). Nejjednodušší příslušník tetrafenylborátové rodiny je tetrafenylborát sodný (TPB, 1), který však není dostatečně lipofilní a podléhá rozkladu vlivem UV záření a silných kyselin a bází[10]. Nedostatečná lipofilnost se projevuje jeho pozvolným vymýváním z membrány, která se projeví snížením její životnosti[11]. Z tohoto důvodu je lepší volbou chloroderivát TPB (2), či dnes, ve smyslu lipofilnosti, nejlepší tetrakis[3,5-bis(trifluormethyl)fenyl]



	R^1	R^2
1	H	H
2	Cl	H
3	H	CF_3
4	H	$C(CF_3)_2OCH_3$

5

Obr. 1. **Lipofilní aditiva na bázi tetrafenylborátu (1-4) a kobalt bis(dikarbollidu) (5)**

Jiří Tutsch získal 1. cenu v soutěži o cenu firmy Merck 2004 za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie.

borát (3) a tetrakis[3,5-bis(1,1,1,3,3,3-hexafluor-2-methoxypropan-2-yl)fenyl]borát (4) (cit.[11]). Kromě těchto strukturně analogických látek je možné nedostatečně lipofilní aditivum zapolymerovat do skeletu PVC (cit.[11]). Příkladem je zapolymerování látky obsahující sulfoskupinu[12,13], která má však, na rozdíl od TPB, náboj koncentrovaný na malém objemu a spolu s opačným nábojem analytu tak vznikají nežádoucí coulombické interakce projevující se snížením selektivity membrány[13].

Vzhledem k nedostatkům takřka výlučně používaných tetrafenylborátů se začaly hledat nové látky splňující požadavky kladené na lipofilní aditivum pro stanovení kationtů, tedy: (*i*) vysoká lipofilnost, která zabrání vymývání aditiva z membrány, (*ii*) delokalizovaný náboj a (*iii*) dostatečná chemická stabilita. Kandidátem splňujícím tato kritéria jsou např. kobalt bis(dikarbollidy)[14].

Kobalt bis(dikarbollid) $[(1,2\text{-}C_2B_9H_{11})_2\text{-}3\text{-}Co]^-$ (5)[15,16] má strukturu dvou dvanáctivrcholových klastrů složených z atomů bóru a uhlíku a spojených centrálním atomem kobaltu. Jde o slabě koordinující jednovazný anion s nábojem delokalizovaným na velkém povrchu klastru. Poprvé byl připraven v roce 1965 (cit.[17]) a díky svým vlastnostem, především vysoké chemické a termické stabilitě, dobré rozpustnosti ve středně polárních rozpouštědlech a snadné přípravě, patří k nejvíce studovaným metalokarboranům[16]. Dosud nejvýznamnější oblastí použití tohoto iontu je extrakce radionuklidů Cs^+ a Sr^{2+} z vysoce aktivních jaderných odpadů[18]. Za zmínku stojí i jeho možné uplatnění ve vodivých organických polymerech[19–23]. Oproti TPB vykazuje větší odolnost vůči kyselé i alkalické hydrolýze a je relativně odolný i vůči elektrochemické oxidaci. Další jeho nezanedbatelnou výhodou je nepřítomnost aromatického kruhu, čímž je eliminována možnost nežádoucích π-π interakcí s aromatickými analyty. Výhodou takových aditiv je možnost jejich modifikace substitucí vodíků na karbollidové kleci např. halogenací[24–27], což ještě zvýší lipofilitu.

Experimentální část

PVC membrány byly připraveny dříve popsaným postupem[28] přidáním příslušného receptoru (1,0 mg) do směsi PVC (33,0 mg) a plastifikátoru (66,0 mg). Jako plastifikátor byl použit (2-nitrofenyl)oktylether (oNPOE, Fluka, selectophore grade). Jako ionofory byly použity dicyklohexano-18-crown-6-ether (DCH18C6; Aldrich) a dibenzo-18-crown-6-ether (DB18C6; Aldrich). Kontrolní experiment byl realizován měřením s membránami bez receptoru či bez lipofilního aditiva (tetrafenylborát – Fluka, selectophore grade; kobalt bis(dikarbollid) – Katchem, Praha). Lipofilní přídavek byl v membráně zastoupen 50 mol.% vůči ionoforu. Výsledná směs byla rozpuštěna v tetrahydrofuranu (THF; Fluka; ca. 1ml na 100 mg směsi), vlita do kovové formičky a nechána 24 hodin, aby se odpařil THF. Z výsledné membrány bylo vyříznuto kolečko o průměru 12 mm a tloušťce ca 0,15 mm, které bylo následně přilepeno na PVC kroužek o vnitřním průměru 8 mm. Takto připravená membrána byla vložena do průtočné cely automatického testovacího zařízení ISE vyvinutého na pracovišti autorů[29]. Cela byla umístěna do termostatu s teplotou 25,00 ± 0,01 °C. Uspořádání měřící cely bylo: Ag / AgCl / 0,1 M-KCl / testovaný roztok / PVC membrána / 0,1 M-KCl / AgCl / Ag. Roztoky Li^+, Na^+, K^+, NH_4^+, Rb^+ a Cs^+ o koncentracích 1.10^{-1} až 1.10^{-8} mol.l^{-1} byly připraveny rozpuštěním příslušných dusičnanů v redestilované vodě.

Výsledky a diskuse

Vzhledem k tomu, že cílem práce bylo zkoumat vliv kobalt bis(dikarbollidového) aniontu, byly jako ionofor použity látky s dobře známou selektivitou a vlastnostmi. První dvě byly dibenzo-18-crown-6-ether a dicyklohexano-18-crown-6-ether, které mají průměr kavity optimální pro komplexaci draselného kationtu (133 pm), a jsou proto pro draselný ion selektivní.

Získaná data lze posuzovat z různých úhlů pohledu. Při srovnání podle ionoforů membrány s dibenzo-18-crown-6-etherem vykazují obecně lepší odezvu v širším rozsahu koncentrací než membrány s ionoforem na bázi dicyklohexano-18-crown-6-etheru. Příslušné pracovní rozsahy a směrnice jsou uvedeny v tabulce I. Podle očekávání elektrody založené na tomto typu ionoforů vykazují preferenci vůči draselnému iontu. Odezva na malý ion lithia byla velmi nízká. Neschopnost lithia vyplnit kavitu crownu a nedefinovaná extrakce aniontu, který je lipofilnější než Li^+, vede k nepředpověditelné odezvě elektrody. Další člen řady alkalických kovů je sodík, který je již vážnějším interferentem v reálných vzorcích. Pracovní rozsah je užší než u draslíku a směrnice je rovněž nižší. Kation, který nejlépe vyplňuje kavitu ionoforu – draslík, vykazuje nejlepší odezvu. Nejvýznamnějším interferentem pro draselné ionty je NH_4^+, nicméně vzdálenost odezvy na draselné ionty od odezvy na amonné ionty je větší pro membrány, ve kterých je jako lipofilní aditivum kobalt bis (dikarbollid), než pro elektrody s TPB. Odezvy na největší alkalické kovy – rubidium a cesium – jsou nižší pro K^+, ale vyšší pro amonné ionty.

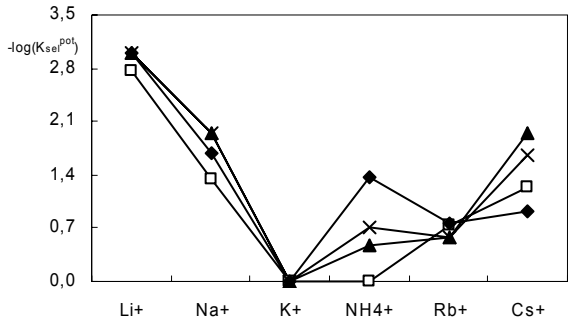
Druhá série měření byla provedena s dicyklohexano-18-crown-6-etherem jako ionoforem. Ačkoli tyto elektrody mají o něco horší parametry, než elektrody s dibenzo-18-crown-6-etherem, trendy jsou shodné. Elektrody vykazují nízkou odezvu na lithné kationty, vyšší na sodné ionty a nejvyšší na draselné a rubidné ionty. Preference draslíku není velkým překvapením vzhledem k velikosti kavity crown-etheru, nicméně stejná odezva na rubidné ionty může být vysvětlena synergickým efektem vyšší lipofilnosti a nepříliš odlišné velikosti kationtu.

Pokud jde o lipofilních aditiva, TPB vykazují předpokládaný průběh selektivit (obr. 2) se zřejmou preferencí K^+. Zavedení kobalt bis(dikarbollidu) do membrány s dibenzo-18-crown-6-etherem snižuje její odezvu na amonné ionty a zvyšuje selektivitní koeficient. Odezvy membrán s dicyklohexano-18-crown-etherem, ačkoli jsou o něco horší než pro dibenzo-18-crown-6-ether, zachovávají stejný průběh selektivit.

Tabulka I
Citlivosti a pracovní rozsahy elektrod obsahujících lipofilní aditiva na bázi tetrafenylborátu (1) a kobalt bis(dikarbollidu) (5) vůči kationtům alkalických kovů

Ionofor, lipofilní aditivum	Li^+		Na^+		K^+		Rb^+		Cs^+		NH_4^+	
	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]	směrnice [mV][a]	prac. rozsah [mol.l^{-1}]
1	2	– [b]	3	– [b]	15	10^{-4}-10^{-1}	18	10^{-5}-10^{-1}	25	10^{-4}-10^{-1}	16	10^{-5}-10^{-1}
5	6	10^{-3}-10^{-1}	12	10^{-4}-10^{-1}	24	10^{-4}-10^{-1}	12	10^{-4}-10^{-1}	33	10^{-4}-10^{-1}	8	10^{-3}-10^{-1}
DB18C6	3	– [b]	7	10^{-2}-10^{-1}	10	10^{-4}-10^{-1}	12	10^{-3}-10^{-1}	8	10^{-4}-10^{-1}	8	10^{-3}-10^{-1}
DCH18C6	14	10^{-5}-10^{-1}	17	10^{-5}-10^{-1}	28	10^{-5}-10^{-1}	29	10^{-5}-10^{-1}	19	10^{-5}-10^{-1}	28	10^{-5}-10^{-1}
DB18C6 + 1	11	10^{-3}-10^{-1}	27	10^{-5}-10^{-1}	49	10^{-5}-10^{-1}	37	10^{-5}-10^{-1}	29	10^{-5}-10^{-1}	37	10^{-5}-10^{-1}
DCH18C6 + 1	22	10^{-2}-10^{-1}	24	10^{-4}-10^{-1}	46	10^{-5}-10^{-1}	37	10^{-5}-10^{-1}	31	10^{-4}-10^{-1}	35	10^{-5}-10^{-1}
DB18C6 + 5	14	10^{-2}-10^{-1}	36	10^{-4}-10^{-1}	55	10^{-5}-10^{-1}	41	10^{-5}-10^{-1}	38	10^{-5}-10^{-1}	30	10^{-5}-10^{-1}
DCH18C6 + 5	27	10^{-2}-10^{-1}	27	10^{-4}-10^{-1}	51	10^{-5}-10^{-1}	41	10^{-5}-10^{-1}	32	10^{-5}-10^{-1}	43	10^{-5}-10^{-1}

[a] Směrnice je v mV na řád koncentrace, [b] nedostatečně lineární odezva



Obr. 2. **Průběh selektivitních koeficientů (metodou separátních roztoků) pro použité lipofilní přídavky a ionofory**; □ dibenzocrown s TPB, ♦ dibenzocrown s kobalt bis(dikarbollidem), × dicyklohexanocrown s TPB, ▲ dicyklohexanocrown s kobalt bis(dikarbollidem)

Závěr

Experimenty popsané v této práci demonstrují možnost použití kobalt bis(dikarbollidového) aniontu jako lipofilního aditiva pro membránové kapalné elektrody. Výsledky ukazují, že karbollid funguje v ISE stejně či lépe než rutinně používaný TPB a zlepšuje funkci membrány. Navíc vlastnosti karbollidu důležité pro ISE, jako je např. lipofilnost, mohou být dále modifikovány substitucí na karbollidové kleci. Z těchto důvodů jsou kobalt bis (dikarbollidy) atraktivní látkou pro vývoj elektrochemických senzorů.

Tato práce byla realizována za finanční podpory MŠMT (MSM 223400008).

LITERATURA

1. Bühlmann P., Umezawa Y., Rondinini S., Vertova A., Pigliucci A., Bertesago L.: Anal. Chem. *72*, 1843 (2000).
2. Mirsky V. M.: Sensors *1*, 13 (2001).
3. Schaller U., Bakker E., Pretsch E.: Anal. Chem. *67*, 3123 (1995).
4. Tohda K., Umezawa Y., Yoshihiagawa S., Hashimoto S., Kawasaki M.: Anal. Chem. *34*, 570 (1995).
5. Yajima S., Tohda K., Bühlmann P., Umezawa Y.: Anal. Chem. *59*, 1919 (1997).
6. Amemiya S., Bühlmann P., Pretsch E., Rusterholz B., Umezawa Y.: Anal. Chem. 1618 (2000).
7. Mi Y., Bakker E.: J. Electrochem. Soc. *144*, L27 (1997).
8. Petrukhin O. M., Frankiisky Ye. V., Kharitonov A. B., Urusov Yu. I., Baulin V. Ye.: Anal. Chim. Acta *385*, 125 (1999).

9. Pungor E.: Sensors *1*, 1 (2001).
10. Bakker E., Bühlmann P., Pretsch E.: Chem. Rev. *97*, 3087 (1997).
11. Bakker E., Pretsch E.: Anal. Chim. Acta *309*, 7 (1995).
12. Kimura K., Sunagawa T., Yajima S., Miyake S., Yokoyama M.: Anal. Chem. *70*, 4309 (1998).
13. Rosatzin T., Bakker E., Suzuki K., Simon W.: Anal. Chim. Acta *280*, 197 (1993).
14. Krondak M., Volf R., Král V.: Collect. Czech. Chem. Commun. *66*, 1659 (2001).
15. Hawthorne M. F., Young D. C., Andrews T. D., Howe D. V., Pilling R. L., Pitts A. D., Reintjes M., Warren L. F. jr., Wegner P. A.: J. Am. Chem. Soc. *90*, 879 (1968).
16. Sivaev I. B., Bregadze V. I.: Collect. Czech. Chem. Commun. *64*, 783 (1999).
17. Hawthorne M. F., Andrews T. D.: J. Chem. Soc., Chem. Commun. *1965*, 443 (1965).
18. Rais J., Gruner B.: *Solvent Extraction, Ion Exchange*, (Marcus J., Ed.). Marcel Dekker, New York 2004.
19. Llop J., Masalles C., Viňas C., Teixidor F., Sillanpaa R., Kivekas R., Dalton R.: Transaction *4*, 556 (2003).
20. Masalles C., Borros S., Viňas C., Teixidor F.: Adv. Mater. *12*, 1199 (2000).
21. Masalles C., Teixidor F., Borros S., Viňas C.: J. Organomet. Chem. *657*, 239 (2002).
22. Masalles C., Borros S, Viňas C., Teixidor F.: Anal. Bioanal. Chem. *372*, 513 (2004).
23. Teixidor F., Viňas C., Demonceau A., Nunez R.: Pure Appl. Chem. *75*, 1305 (2003).
24. Hurlburt P. K., Miller R. L., Abney K. D., Foreman T. M., Butcher R. J., Kinkead S. A.: Inorg. Chem. *34*, 5215 (1995).
25. Matel L., Macasek F., Rajec P., Hermanek S., Plesek J.: Polyhedron *1*, 511 (1982).
26. King B. T., Michl J.: J. Am. Chem. Soc. *122*, 10255 (2000).
27. Santos E. C., Pinkerton A. B., Kinkead S. A., Hurlburt P. K., Jasper S. A., Sellers C. W., Huffman J. C., Todd L. J.: Polyhedron *19*, 1777 (2000).
28. Krondak M., Shishkanova T. V., Holakovsky R., Volf R., Stibor I., Král V.: Anal. Chim. Acta *448*, 19 (2001).
29. Březnová H., Volf R., Král V., Sessler J. L., Try A. C., Shishkanova T. V.: Anal. Bioanal. Chem. *375*, 1193 (2003).

J. Tutsch[a], M. Krondak[a], R. Volf[a], B. Grüner[b], and V. Král[a] *([a] Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, [b]Institute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague):* **New Possibilities of Application of Cobalt Bis (dicarbollide) Anion as a Lipophilic Additive in Ion-Selective Electrode Membranes**

Selectivity and sensitivity of PVC membrane electrodes are dramatically influenced not only by a specific receptor but also, especially for neutral ionophores, by additional lipophilic coreceptor. We describe novel systems based on classic cation receptors and a highly lipophilic cobalt bis(1,2-dicarbollide), a bulky, weakly coordinating anion with delocalized charge. The function of the novel coreceptor is demonstrated by the use of dibenzo-18-crown-6 or dicyclohexano-18-crown-6 as ionophore in combination with a classic lipophilic additive and a cobalt bis(dicarbollide). The obtained data show its higher efficiency, which makes this coreceptor suitable for cation detection and development of novel sensors.

Dovolujeme si upozornit na článek

Zbyněk Plzák
ČESKÉ PŘEKLADY METROLOGICKÝCH TERMÍNŮ

který vyšel v tomto časopise v čísle 1/2005 na str. 65–66

a zároveň se omlouváme autorovi, že tento článek nebyl zařazen do obsahu tohoto čísla.

JAK SE NEOKRÁST O ÚSPĚŠNOU CHIRÁLNÍ SEPARACI KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZOU

JAN PETR[a], VÍTĚZSLAV MAIER[a], JANA HORÁKOVÁ[a], EVA TESAŘOVÁ[b] a JURAJ ŠEVČÍK[a]

[a]Katedra analytické chemie, Univerzita Palackého, Třída Svobody 8, 771 46 Olomouc, [b]Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha
petrjan@centrum.cz; maierv@email.cz; jana.horakova@post.cz; tesarove@natur.cuni.cz; sevcik@prfnw.upol.cz

Došlo 25.6.04, přepracováno 7.12.04, přijato 2.1.05.

Klíčová slova: chirální separace, kapilární elektroforéza, tamsulosin, diskontinuální systémy, rozlišení, sulfatovaný β-cyklodextrin, pseudoefedrin.

Úvod

Chirální separace kapilární elektroforézou

Kapilární zónová elektroforéza (CZE) je moderní analytická separační metoda vyznačující se vysokou účinností. Aplikace kapilární elektroforézy sahají do oblasti separací biomakromolekul jako proteinů, sacharidů, oligonukleotidů, restrikčních fragmentů DNA, resp. analýzy obsahu buněk[1]. Díky své jednoduchosti, variabilitě a účinnosti dosahuje kapilární elektroforéza výrazných úspěchů i v oblasti separace chirálních látek[2,3].

Analýza optických isomerů látky A kapilární elektroforézou je založena na tvorbě diastereoisomerních komplexů analytu s chirálním selektorem (CS):

(*R*)-A + (*S*)-A + 2 (*S*)-CS → (*R*)-A-(*S*)-CS + (*S*)-A-(*S*)-CS

Existují dva přístupy k analýze chirálních látek označované jako metody přímé a nepřímé. Nepřímé metody analýzy chirálních látek se vyznačují tvorbou diastereoisomerních komplexů jejich derivatizací před vlastní separací v achirálním prostředí. Tyto metody mají oproti metodám přímým výhodu v dosahování nízkých detekčních limitů, naproti tomu mají řadu nevýhod, jako problematickou validaci derivatizace, možnost tvorby vedlejších produktů, resp. racemizace aj., které způsobují jejich omezené použití[3,4].

Přímé metody jsou založené na dynamické tvorbě přechodných komplexů v průběhu vlastního separačního procesu. K tvorbě diastereoisomerních komplexů přispívají intermolekulární interakce selektoru a analytu, jako jsou coulombické repulse a atrakce, tvorba vodíkových vazeb, hydrofobní interakce, interakce π–π, interakce dipól-dipól apod. Vlastní rozlišení enantiomerů je založeno na představě „tříbodové“ interakce analytů a chirálního selektoru[4,5].

Jako chirální selektory se nejčastěji používají cyklodextriny a jejich ionizovatelné deriváty[6], crown ethery[7], proteiny[8] a makrocyklická antibiotika[9]. Mezi další používané selektory patří lineární oligosacharidy a polysacharidy, chirální micely, kalixareny aj.[3,5]. Cyklodextriny se nejčastěji používají především z důvodů jejich snadné rozpustnosti ve vodných prostředích a jejich nízké absorpce v UV oblasti. Důležitou roli hraje i možnost použít derivatizované cyklodextriny, které podléhají ionizaci a tak mohou lépe interagovat s analyty[6]. Naopak použití makromolekulárních selektorů s sebou přináší problémy s adsorpcí selektoru na stěny kapiláry a problémy s interferencí s analytem díky jejich absorpci záření v UV oblasti[10]. První problém lze řešit dynamickou modifikací povrchu kapiláry, resp. pokrytím povrchu kapiláry derivatizací. Druhý problém je řešen použím nepřímé UV detekce analytů nebo použitím techniky částečného plnění kapiláry (partial filling)[3,10].

Techniky částečného plnění kapiláry

Principem technik částečného plnění (partial filling technique – PFT) je naplnění částí kapiláry elektrolyty s různým složením. Při separacích chirálních látek je část kapiláry k detekční cele naplněna základním elektrolytem obsahujícím chirální selektor, zbylý prostor kapiláry je vyplněn základním elektrolytem bez chirálního selektoru. Kapilára je rovněž ponořena do roztoku základního elektrolytu bez chirálního selektoru. Podle podmínek probíhá separace třemi způsoby: (*i*) zóna selektoru migruje od detektoru, (*ii*) zóna selektoru se během analýzy nepohybuje, (*iii*) zóna selektoru migruje stejným směrem jako analyty. Tyto systémy umožňují přímou detekci analytů bez interferencí s chirálním selektorem[11].

Technika částečného plnění se nevyužívá pouze u chirálních separací, ale také např. při spojení kapilární elektroforézy s hmotnostní spektrometrií, kde eliminuje možná znečištění iontového zdroje[10] nebo při afinitní kapilární elektroforéze, kde umožňuje např. studovat nekovalentní interakce mezi receptory a ligandy[12]. Částečného plnění kapiláry v CZE se také využívá při zakoncentrovávání analytů[13,14].

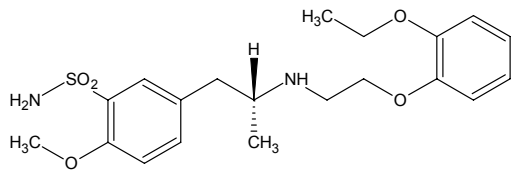
Jan Petr získal 3. místo v soutěži o cenu firmy Merck 2004 za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie.

T a m s u l o s i n , e f e d r i n

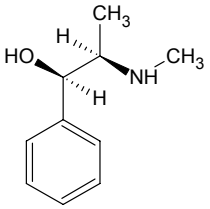
Tamsulosin, 5-(2-{[2-(o-ethoxyfenoxy)ethyl]amino} propyl)-2-methoxybenzen-1-sulfonamid je ve formě R isomeru (viz obr. 1) účinnou látkou při léčbě benigní hyperplasie prostaty. Tamsulosin působí jako selektivní antagonista α_{1A}-adrenoreceptorů, čímž reguluje kontrakci hladkého svalstva prostaty[15]. V literatuře byla popsána metoda separace enantiomerů tamsulosinu metodou HPLC[16]. Chirální separaci metodou kapilární elektroforézy se věnuje nedávná práce z našeho pracoviště[17].

Efedrin, 1-fenyl-2-(methylamino)propan-1-ol (viz obr. 1) má dvě centra chirality, enantiomery se shodnou absolutní konfigurací na obou centrech (*S,S* nebo *R,R*) někdy nazýváme (±)-pseudoefedrin a enantiomery s rozdílnou absolutní konfigurací (*S,R* nebo *R,S*) nazýváme (±)-efedrin. Efedrin patří např. spolu s amfetaminem, adrenalinem aj. do skupiny sympatomimetik, tj. látek ovlivňujících centrální nervovou soustavu. Jeho farmakologický význam spočívá ve vasokonstrikčních, dekongesčních a bronchodilatačních účincích[18,19]. Ševčík a spol. popsal separaci enantiomerů efedrinu kapilární elektroforézou s použitím β-CD (cit.[20]).

a



b



Obr. 1. **Vzorec (a) (*R*)-tamsulosinu a vzorec (b) (-)-pseudoefedrinu**

Tato práce popisuje studium využití techniky částečného plnění kapiláry k separaci enantiomerů tamsulosinu a efedrinu s použitím sulfatovaného β-cyklodextrinu.

Experimentální část

C h e m i k á l i e

Standardy (*R*)- a (*S*)-tamsulosinu byly získány od firmy Farmak, a.s. (Olomouc, Česká republika). Komponenty základních elektrolytů (kyselina fosforečná, hydroxid sodný a tris(hydroxymethyl)aminomethan (tris)), stejně jako chirální selektor sulfatovaný-β-cyklodextrin (s-β-CD) byly získány od firmy Sigma (St. Louis, USA). Jako markery elektroosmotického toku (EOF) byly použity mesityloxid, ethanol a isopropylalkohol od firmy Sigma (St. Louis, USA). Všechny použité látky byly čistoty p.a. Pro přípravu všech roztoků byla použita deionizovaná voda 18 MΩ.cm^{-1} (Elga, Bucks, Anglie).

A p a r a t u r a a e x p e r i m e n t á l n í p o d m í n k y

Měření bylo prováděno na přístroji HP^{3D} CE (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) s detektorem s diodovým polem snímajícím při 210 nm. Pro měření byla použita nepokrytá křemenná kapilára (CACO-Sila Tubing and Optical Fibers, Slovenská republika) s vnitřním průměrem 50 μm o celkové délce 33 cm (efektivní délka 24,5 cm). Kapilára byla termostatována na 25 °C. Aplikované separační napětí bylo 20 kV.

Měření bylo rovněž prováděno na přístroji zkonstruovaném v naší laboratoři s použitím UV detektoru Jasco snímajícím při 210 nm. Pro měření byla použita nepokrytá křemenná kapilára (CACO-Sila Tubing and Optical Fibers, Slovenská republika) s vnitřním průměrem 50 μm o celkové délce 39 cm (efektivní délka 26 cm). Byl použit stabilizovaný zdroj vysokého napětí Spellman CZE1000R (Spellman, New York, USA), bylo aplikováno napětí 15 kV. Analýzy byly prováděny při laboratorní teplotě (25 °C ± 1 °C).

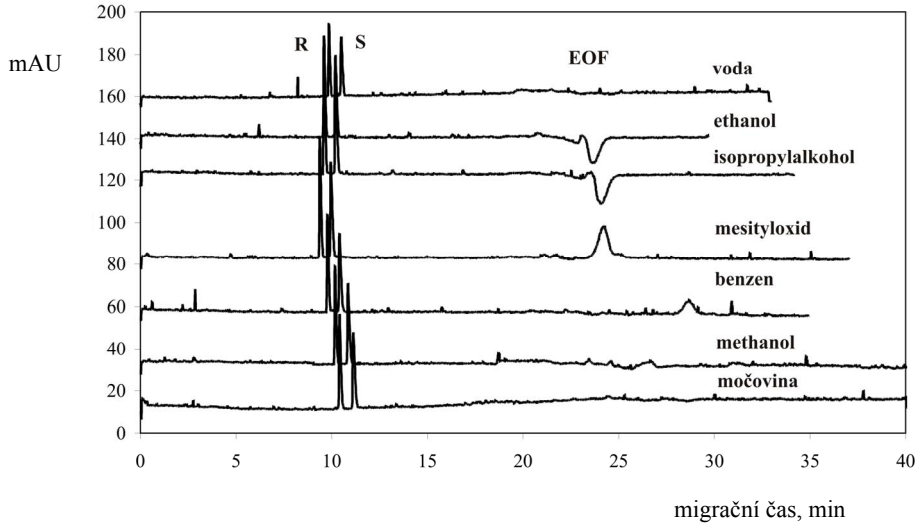
Základní elektrolyty o koncentraci 100 mmol.l^{-1} byly připraveny rozpuštěním kyseliny fosforečné v deionizované vodě, pH bylo upraveno hydroxidem sodným, resp. tris na hodnotu 2,5. Základní roztoky s přídavky s-β-CD byly připraveny rozpuštěním daného množství s-β-CD v příslušném základním elektrolytu. Standardní roztoky o koncentraci 1.10^{-4} mol.l^{-1} (*R*)- a (*S*)-tamsulosinu byly připraveny rozpuštěním (*R*)- a (*S*)-tamsulosinu v příslušném základním elektrolytu. Elektroosmotický tok (EOF) byl měřen s použitím mesityloxidu a isopropylalkoholu. Markery EOF byly přidány ke standardnímu roztoku (*R*)- a (*S*)-tamsulosinu.

Každý den byla kapilára kondiciována promytím 0,1 mol.l^{-1} NaOH (5 min), vodou (5 min), 0,1 mol.l^{-1} HCl (5 min), vodou (5 min) a základním elektrolytem (15 min). Mezi každým měřením byla kapilára promývána základním elektrolytem 5 min.

Výsledky a diskuse

Kvůli experimentálním obtížím při měření elektroosmotického toku mesityloxidem jsme hledali jiné markery EOF pro tato měření. Ke studiu jsme použili vodu, methanol, ethanol, isopropylalkohol, mesityloxid, močovinu a benzen. Benzen byl použit jako srovnávací marker, protože interaguje se s-β-CD (cit.[21]). Porovnání markerů je uvedeno na obr. 2, resp. v tabulce I. Vypočtené mobility markerů EOF mimo benzenu jsou podle t-testu na hladině významnosti 0,05 shodné. Bylo pozorováno, že použití isopropylalkoholu pro měření EOF v těchto systémech je nejvýhodnější.

Využití techniky částečného plnění kapiláry k separaci enantiomerů tamsulosinu bylo možné z důvodu



Obr. 2. **Elektroforeogramy s použitím různých markerů elektroosmotického toku**; Základní elektrolyt 0,1 M fosfát/Na, pH 2,5, s 3 g.l^{-1} s-β-CD; kapilára 50 μm i.d., 39 cm / 26 cm, napětí 15 kV

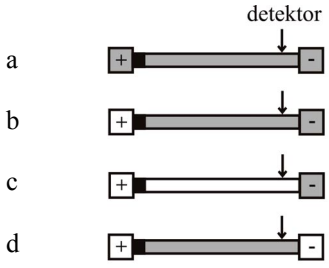
Tabulka I
Porovnání měření elektroosmotického toku (EOF) s různými markery (n = 5)

Marker EOF	Mobilita EOF [10^{-9} m^2.Vs^{-1}]	Směrodatná odchylka [10^{-9} m^2.Vs^{-1}]
Voda	neměřitelná	–
Methanol	neměřitelná	–
Ethanol	4,72	0,08
Isopropylalkohol	4,67	0,10
Mesityloxid	4,64	0,09
Močovina	neměřitelná	–
Benzen	3,90	0,11

použití sulfatovaného β-cyklodextrinu jako chirálního selektoru. Sulfatovaný β-cyklodextrin nese v prostředí fosfátového pufru (pH 2,5) opačný náboj než analyt tamsulosin. Oproti klasickému uspořádání kapilární elektroforézy, kdy je chirální selektor umístěn v celém systému: nádobka ze strany dávkování („inlet“)-kapilára - nádobka ze strany detektoru („outlet“) (systém (a)), lze získat další tři možné separační systémy (viz obr. 3), kdy je chirální selektor umístěn v kapiláře a „outletu“ (systém (b)), chirální selektor umístěn pouze v „outletu“ (systém (c)) a chirální selektor umístěn pouze v kapiláře (systém (d)). Příklad separace enantiomerů tamsulosinu v těchto systémech je na obr. 4.

Provedli jsme srovnání rozlišení enantiomerů v jednotlivých systémech, viz tabulka II. Z dat je patrné, že hodnota rozlišení silně závisí na použitém systému. Tyto systémy se liší především dobou interakce chirálního selektoru s analytem. Na rozhraní různě vodivých zón základního elektrolytu se selektorem a základního elektrolytu bez selektoru může také docházet k fokusačním jevům[13,14]. Ve shodě s tímto tvrzením dosáhneme nejvyššího rozlišení při použití systému, kdy je chirální selektor umístěn v kapiláře a „outletu“ (uspořádání (b)). V tomto systému je doba interakce selektoru s analytem nejdelší a zároveň může docházet k fokusačním jevům. Naproti tomu použití systémů (b) a (c) výrazně šetří chirální selektor. Spotřeba selektoru v systému (d) je minimální a zároveň je dosažené rozlišení pro praxi dostačující, což umožňuje pracovat i s drahými popř. málo stabilními selektory.

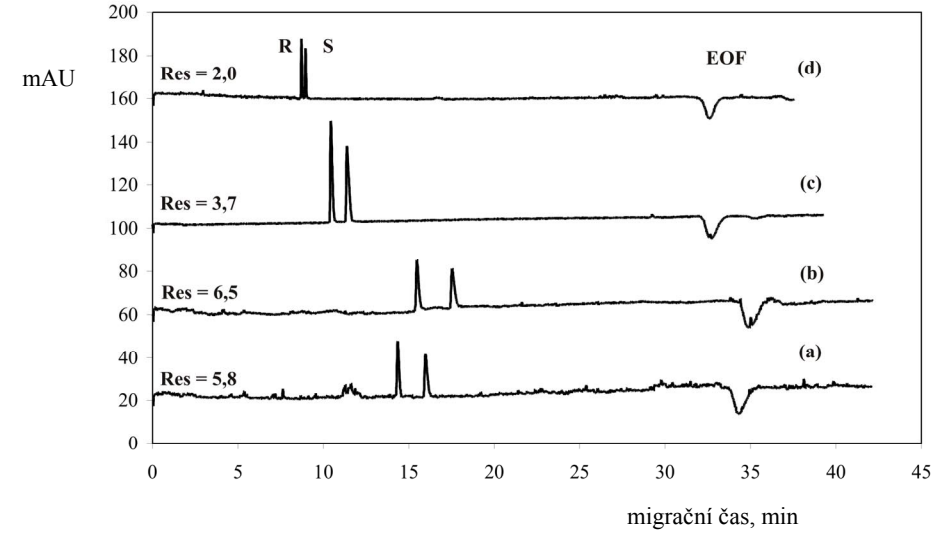
Popsaný způsob jsme dále testovali na separaci enantiomerů pseudoefedrinu. Modifikovali jsme postup popsa-



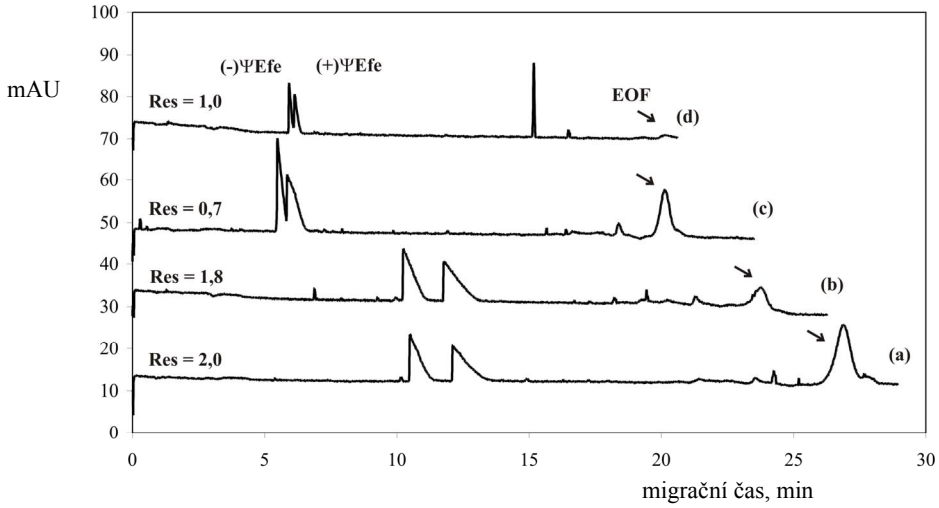
Obr. 3. **Experimentální uspořádání**; (a) chirální selektor je umístěn v celém systému („inlet“-kapilára-„outlet“), (b) chirální selektor je umístěn v kapiláře a „outletu“, (c) chirální selektor je pouze v „outletu“, resp. (d) chirální selektor je pouze v kapiláře; □ základní elektrolyt, ▣ základní elektrolyt s přídavkem s-β-CD, ■ zóna vzorku

Tabulka II
Porovnání hodnot rozlišení enantiomerů tamsulosinu v jednotlivých separačních systémech (viz obr. 3)

Koncentrace s-β-CD	Rozlišení v systému (a)		Rozlišení v systému (b)		Rozlišení v systému (c)		Rozlišení v systému (d)	
[g.l^{-1}]	fosfát/Na	fosfát/tris	fosfát/Na	fosfát/tris	fosfát/Na	fosfát/tris	fosfát/Na	fosfát/tris
1	0,88	2,15	0,94	1,81	0,58	0,96	0,53	0,93
3	2,60	5,80	3,10	6,46	1,50	3,68	1,00	2,02
5	4,60	9,16	5,20	10,55	2,50	8,46	0,90	1,82



Obr. 4. **Příklad separace enantiomerů tamsulosinu v diskontinuálních systémech**; Systémy: (a) chirální selektor je umístěn v celém systému („inlet"-kapilára-„outlet"), (b) chirální selektor je umístěn v kapiláře a „outletu", (c) chirální selektor je pouze v „outletu", resp. (d) chirální selektor je pouze v kapiláře; Základní elektrolyt 0,1 M fosfát/tris, pH 2,5, s 3 g.l^{-1} s-β-CD, kapilára 50 μm i.d., 39 cm / 26 cm, napětí 15 kV



Obr. 5. **Příklad separace enantiomerů pseudoefedrinu v diskontinuálních systémech**; Systémy: (a) chirální selektor je umístěn v celém systému („inlet"-kapilára-„outlet"), (b) chirální selektor je umístěn v kapiláře a „outletu", (c) chirální selektor je pouze v „outletu", resp. (d) chirální selektor je pouze v kapiláře; Základní elektrolyt: 0,1 M fosfát/Na, pH 2,5, s 3 g.l^{-1} s-β-CD, kapilára 50 μm i.d., 39 cm / 26 cm, napětí 15 kV

ný Ševčíkem a spol.[20] použitím fosfátového pufru (pH 2,5) a s-β-CD jako chirálního selektoru a porovnali jsme rozlišení enantiomerů pseudoefedrinu v diskontinuálních systémech. Příklad separace je na obr 5. Hodnoty rozlišení opět silně závisí na použitém systému. Nejlepšího rozlišení jsme shodně dosáhli v systému (a) s chirálním selektorem v celém systému a v systému (b) se selektorem v kapiláře a „outletu".

Je zřejmé, že použití diskontinuálních systémů tedy výrazně ovlivňuje chirální separaci a rozlišení enatiomerů. Nejvyššího rozlišení při separaci enatiomerů tamsulosinu jsme dosáhli v uspořádání, kde byl chirální selektor umístěn v kapiláře a „outletu". Nejvyššího rozlišení při separaci enatiomerů pseudoefedrinu jsme dosáhli v uspořádání, kde byl chirální selektor umístěn v kapiláře a „outletu", resp. v celém systému („inlet"-kapilára-„outlet").

Závěr

V naší práci jsme ukázali, že při separaci v daném prostředí opačně nabitého analytu (tamsulosin, efedrin) než je chirální selektor (s-β-CD) je možno použít různá separační uspořádání lišící se dobou interakce selektoru s analytem.

Jak se neokrást o úspěšnou chirální separaci kapilární elektroforézou? Byl ukázán často opomíjený fakt, že pro chirální separace není nejvýhodnější používat systém s chirálním selektorem v „inletu", kapiláře a „outletu". Lze tvrdit, že při použití diskontinuálních systémů a snaze dosáhnout nejvyššího rozlišení je výhodné provádět chirální separaci v uspořádání s umístěním chirálního selektoru v kapiláře a „outletu". Nezanedbatelnou roli zde hraje i ekonomická stránka separace, neboť toto uspořádání výrazně šetří chirální selektor. Nesmíme ovšem opomenout fakt, že se rozlišení zlepší pouze v případě, že chirální selektor nese náboj a může tedy migrovat v kapiláře svou vlastní rychlostí.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky (číslo grantu 203/03/0161) za finanční podporu práce.

LITERATURA

1. Landers J. P. (Eds.): *Handbook of Capillary Electrophoresis*. CRC Press, Boca Raton 1994.
2. Baker D. R.: *Capillary Electrophoresis*. John Wiley & Sons, New York 1995.
3. Rizzi A.: Electrophoresis *22*, 3079 (2001).
4. Vespalec R., Boček P.: Chem. Rev. *100*, 3715 (2000).
5. Ševčík J., Tesařová E., Stránský Z.: Chem. Listy *95*, 139 (2001).
6. Fanali S.: J. Chromatogr., A *875*, 89 (2000).
7. Kuhn R.: Electrophoresis *20*, 2605 (1999).
8. Haginaka J.: J. Chromatogr., A *875*, 235 (2000).
9. Ward T. J., Farris A. B.: J. Chromatogr., A *906*, 73 (2001).
10. Amini A.: Electrophoresis *22*, 3107 (2001).
11. Amini A., Paulsen-Sörman U., Westerlund D.: Chromatographia *50*, 497 (1999).
12. Villareal V., Kaddis J., Azad M., Zurita C., Silva I., Hernandez L., Rudolph M., Moran J., Gomez F. A.: Anal. Bioanal. Chem. *376*, 822 (2003).
13. Urbánek M., Křivánková L., Boček P.: Electrophoresis *24*, 466 (2003).
14. Beckers J. L., Boček P.: Electrophoresis *21*, 2747 (2000).
15. Šafařík L., Povýšil C., v knize: *Urologie* (Dvořáček J., ed.), díl III., kap. 46. ISV nakladatelství, Praha 1998.
16. Zhang Z.F., Yang G.L., Liang G.J., Liu H.Y., Chen Y.: J. Pharm. Biomed. Anal. *34*, 689 (2004).
17. Maier V., Tesařová E., Coufal P., Gavenda A., Barták P., Bednář P., Ševčík J.: *27th Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, Nice, 15 – 19 June 2003*, Book of Abstracts (Sioffi A. M., ed.), str. 95. Nice 2003.
18. Suchopár J. (Eds.): *Remedia Compendium*. Panax, Praha 1999.
19. Jirovský D., Lemr K., Ševčík J., Smysl B., Stránský Z.: Forensic. Sci. Int. *96*, 61 (1998).
20. Ševčík J., Lemr K., Smysl B., Jirovský D., Hradil P.: J. Liq. Chromatogr. *21*, 2473 (1998).
21. Chankvetadze B.: *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. John Wiley, Chichester 1997.

J. Petr[a], V. Maier[a], J. Horáková[a], E. Tesařová[b], and J. Ševčík[a] *([a]Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Science, Palacký University, Olomouc, Czech Republic, [b]Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Natural Science, Charles University, Prague, Czech Republic):* **How To Achieve Successful Chiral Separation by Capillary Electrophoresis**

This work is devoted to enhancing the potential of capillary electrophoresis as a separation technique. Improvement of chiral resolution of organic bases in an acid electrolyte using sulfated β-cyclodextrin as an anionic chiral selector is demonstrated on an example of chiral separation of tamsulosin and ephedrine. Better resolution of enantiomers of the bases can be achieved by changing the concentration of a chiral selector in compartments of the separation system (inlet – capillary – outlet). Migration of the chiral selector in the direction opposite to that of the cationic analytes was utilized and thus the resolution could be improved. The best resolution was obtained if the chiral selector was in the working electrolyte in the capillary and outlet vial while the inlet vial contained only the background electrolyte. In contrast, if the chiral selector is either only in the capillary or in the whole electrophoresis system, a lower resolution was obtained though both the systems are most frequently employed in practice.

ANALÝZA PŘÍRODNÍCH SMĚSÍ TRIACYLGLYCEROLŮ TECHNIKOU HPLC/MS

MIROSLAV LÍSA* a MICHAL HOLČAPEK

Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Nám. Čs. Legií 565, 532 10 Pardubice
miroslav.lisa@upce.cz

Došlo 28.6.04, přepracováno 03.01.05, přijato 13.01.05.

Klíčová slova: triacylglyceroly, HPLC-MS

Úvod

Triacylglyceroly (TG) patří do skupiny přírodních lipidů, které jsou v přírodě zastoupeny převážně v rostlinách nebo v tukových tkáních živočichů, kde tvoří až 90 % jejich tukových zásob. Jsou velice důležitou součástí potravy nejen pro svou vysokou energetickou hodnotu, ale i pro obsah esenciálních mastných kyselin (MK) a vitaminů rozpustných v tucích. V těle slouží jako vydatný zdroj přímé nebo potenciální energie uložený do zásob v tukové tkáni. Jsou také významné jako tepelné izolátory některých orgánů a elektrostatické izolátory nervových vláken[1,2].

TG tvoří v přírodě složité směsi a z tohoto důvodu je nutné před vlastní identifikací předřadit separační stupeň. Jedna z nejpoužívanějších technik pro separaci a identifikaci TG ve složitých přírodních směsích je spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie v systémech s obrácenými fázemi[3–5] (RP-HPLC) a hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací za atmosférického tlaku[6–11] (RP-HPLC/APCI-MS), která byla také použita v této práci. Retence TG v RP-HPLC se zvyšuje s přírůstkem tzv. ekvivalentního počtu uhlíkových atomů (Equivalent Carbon Number, ECN) definovaného jako počet uhlíků (Carbon Number, CN) ve všech acylových řetězcích mínus dvojnásobek počtu dvojných vazeb (Double Bonds, DB), tj. ECN = CN – 2DB (cit.[3–5,9]). Pro značení TG se standardně používá počátečních písmen MK seřazených podle jejich pozice *sn*-1, 2 nebo 3 (stereochemické číslování) v glycerolovém skeletu (zkratky identifikovaných MK viz tabulka I).

Experimentální část

Použitá rozpouštědla (acetonitril (ACN), propan-2-ol, hexan) byla čistoty pro gradientovou HPLC eluci (vše Merck, Darmstadt, Německo). Vzorky olejů (olej z lískových ořechů, vlašských ořechů, kešu ořechů, mandlí, máku tmavého, peciček žlutého melounu, šípků, fíků, datlí, černého rybízu) byly připraveny v laboratoři následujícím postupem. Přibližně 10 g semen nebo ořechů bylo nejdříve rozdrceno v třecí misce na malé částečky, které byly smíchány s 15 ml hexanu. Po 15 min byla tato směs přefiltrována nejdříve s použitím běžného filtračního papíru a následně přes filtr s rozměry pórů 0,45 μm. Z filtrátu byl hexan odpařen při laboratorní teplotě přes noc, čímž byl získán čistý olej.

Experimenty byly prováděny na kapalinovém chromatografu v sestavě pumpa Waters 616, UV detektor s diodovým polem Waters 996, automatický dávkovač vzorků Waters 717+ (vše Waters, Milford, USA) spojeném s hmotnostním spektrometrem s iontovou pastí Esquire 3000 (Bruker Daltonics, Brémy, Německo) s možností ionizace elektrosprejem nebo APCI s rozsahem měřených hmot do *m/z* 6000. Byly použity kolony Nova-Pak C18,

Tabulka I
Mastné kyseliny, jejich zkratky, počet uhlíků (CN) a dvojných vazeb (DB), ekvivalentní počet uhlíkových atomů (ECN)

Mastná kyselina	Zkratka	CN:DB	ECN
Kaprylová	Cy	C8:0	8
Kaprinová	C	C10:0	10
Laurová	La	C12:0	12
Myristová	M	C14:0	14
Pentadekanová	Pe	C15:0	15
Palmitolejová	Po	C16:1	14
Palmitová	P	C16:0	16
Heptadekanová	Mo	C17:1	15
Margarová	Ma	C17:0	17
Stearodonová	St	C18:4	10
Linolenová	Ln	C18:3 (9,12,15)	12
γ-Linolenová	γLn	C18:3 (6,9,12)	12
Linolová	L	C18:2	14
Olejová	O	C18:1	16
Stearová	S	C18:0	18
Ikosadienová	E	C20:2	16
Gadoleová	G	C20:1	18
Arašidová	A	C20:0	20
Henikosanová	H	C21:0	21
Behenová	B	C22:0	22
Trikosanová	T	C23:0	23
Lignocerová	Li	C24:0	24

*M. Lísa získal zvláštní cenu poroty v soutěži O cenu firmy Merck 2004 o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie.

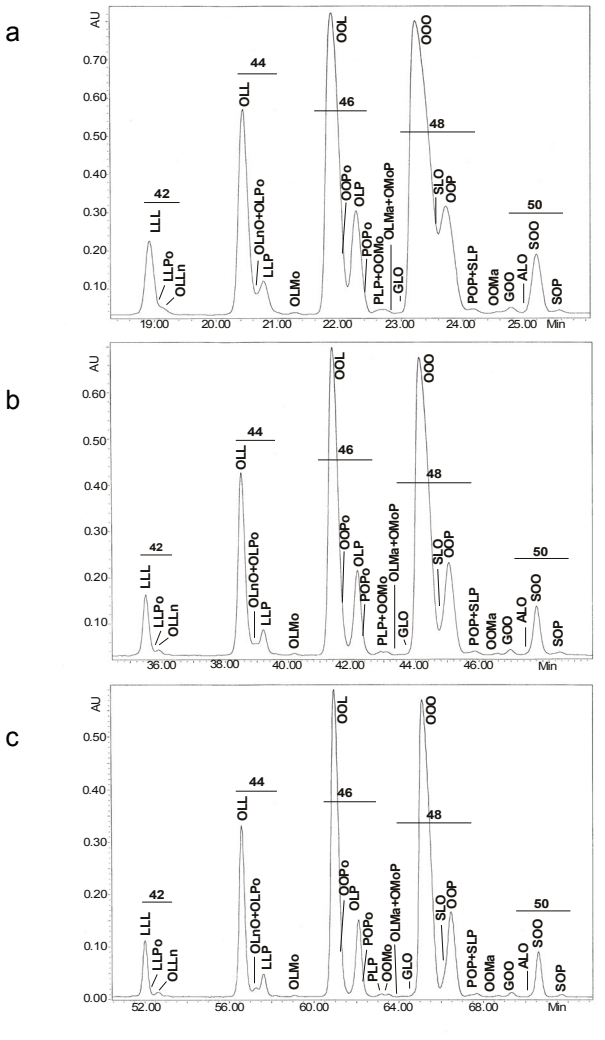
150 a 300 × 3,9 mm, velikost částic 7 μm (Waters, USA). Optimalizace HPLC separací byla provedena s 3% roztokem (*m/v*, ve směsi acetonitril : propan-2-ol : hexan (1:1:1)) vzorku oleje z lískových ořechů při nástřiku 10 μl se spektrofotometrickou detekcí při vlnové délce 205 nm.

Pro studium vlivu délky kolony na separaci bylo použito 15 cm, 30 cm a spojení 15 a 30 cm kolony při průtoku mobilní fáze 1 ml.min^{-1}. Podmínky gradientové eluce v závislosti na délce kolony byly následující:

a) spojení 15 a 30 cm kolony: 0 min – 100 % ACN, 106 min – 31 % ACN a 69 % propan-2-olu, 109 min – 100 % ACN, 110 min konec analýzy;
b) 30 cm kolona: 0 min – 100 % ACN, 71 min – 31 % ACN a 69 % propan-2-olu, 74 min – 100 % ACN, 75 min konec analýzy;
c) 15 cm kolona: 0 min – 100 % ACN, 35 min – 31 % ACN a 69 % propan-2-olu, 38 min – 100 % ACN, 39 min konec analýzy.

Studium vlivu teploty na separaci bylo provedeno na spojených kolonách v délce 30 cm a 15 cm při teplotách 20, 25, 30, 40 a 50 °C. Byla použita gradientová eluce (1 ml.min^{-1}, 0 min – 100 % ACN, 106 min – 31 % ACN a 69 % propan-2-olu, 109 min – 100 % ACN, 110 min konec analýzy).

Byly analyzovány 3 % roztoky (*m/v*, ve směsi acetonitril : propan-2-ol : hexan (1:1:1)) rostlinných olejů při teplotě 25 °C a průtoku mobilní fáze 1 ml.min^{-1} s nástřikem 10 μl vzorku. Mezi jednotlivými nástřiky byla dávkovací jehla oplachována mobilní fází. Pro analýzu byl použit gradient mobilní fáze 0 min – 100 % ACN, 106 min – 31 % ACN a 69 % propan-2-olu, 109 min – 100 % ACN, 110 min konec analýzy. Eluát na výstupu ze spektrofotometrického detektoru byl veden do hmotnostního spektrometru, kde byla pro analýzu TG použita ionizace APCI při záznamu kladných iontů v rozsahu *m/z* = 50–1200**,** teplota APCI sondy 400 °C a teplota iontového zdroje 350 °C. Průtok sušícího plynu byl 3 l.min^{-1} a tlak zmlžujícího plynu 483 kPa.



Obr. 1. **Vliv délky kolony na separační účinnost** (lískový olej, UV detekce při 205 nm); a – separace na 15 cm koloně, b – na 30 cm, c – spojení 15 a 30 cm kolony

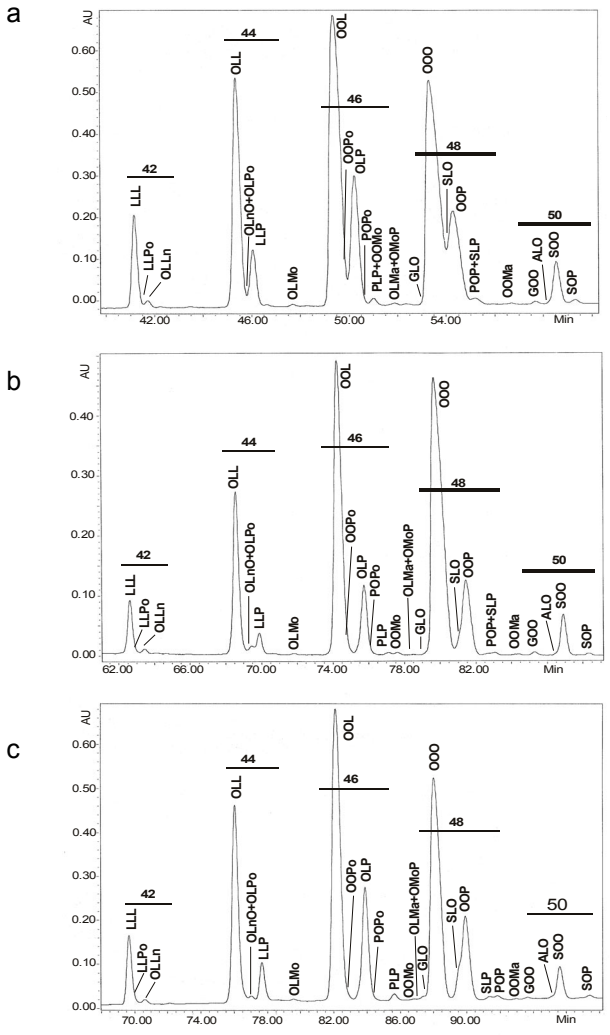
Výsledky a diskuse

Optimalizace metodiky HPLC

V této práci byla pro separaci komplexních směsí TG použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie v systémech s obrácenými fázemi s gradientovou elucí a složením mobilní fáze acetonitril-propan-2-ol.

Nejprve byl studován vliv délky chromatografické kolony na separační účinnost (na 15 cm koloně, 30 cm koloně a sériovém zapojení 15 a 30 cm kolony), který je patrný na obr. 1. S rostoucí délkou chromatografické kolony roste počet vzájemných interakcí mezi analyzovanými látkami a sorbentem na koloně, což vede ke zlepšení separace. Při použití 30 cm kolony a spojení 15 a 30 cm kolony v porovnání se separací na 15 cm koloně se výrazně zvyšuje rozlišení TG v rámci skupiny se stejným ECN (viz skupina OLL, OLnO a LLP). Zlepšení separační účinnosti bylo také potvrzeno výpočtem rozlišení a počtu teoretických pater, kdy obě hodnoty s prodlužováním kolony rostly. Na základě těchto poznatků bylo vybráno spojení 15 a 30 cm kolony.

Dále byl studován vliv teploty na kvalitu separace (obr. 2) (při 20, 25, 30, 40 a 50 °C). Snižováním teploty se zvyšuje separační účinnost, což může být způsobeno rozdílným prostorovým uspořádáním TG při různých teplotách. Při vyšších teplotách může docházet k rotaci některých vazeb, což by se projevilo ohýbáním acylového řetězce[1], a tím zmenšením interakcí mezi látkou a sorbentem. Zlepšení separace bylo potvrzeno stejným způsobem jako při studiu vlivu délky chromatografické kolony výpočtem rozlišení a teoretického počtu pater. Pro další separace byla vybrána teplota 25 °C jako kompromis mezi separační účinností, dobou analýzy a tlakem mobilní fáze na koloně.



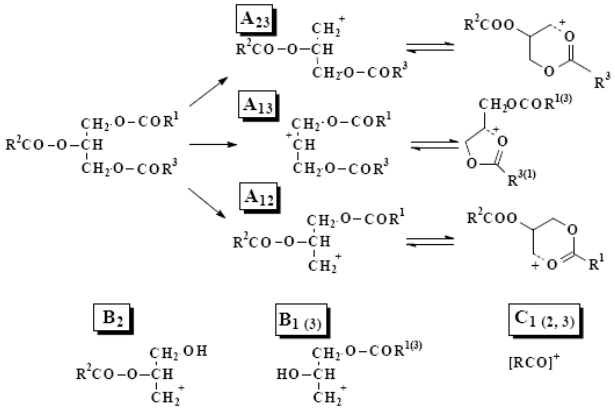
Obr. 2. **Vliv teploty na separační účinnost** (lískový olej, UV detekce při 205 nm); a – separace při 50 °C, b – při 30 °C, c – při 20 °C

A n a l ý z a r o s t l i n n ý c h o l e j ů

K identifikaci TG obsažených v 10 rostlinných olejích byla použita hmotnostní spektrometrie s ionizací APCI po separaci složek optimalizovanou metodikou HPLC. APCI hmotnostní spektra obsahují strukturně důležité fragmentové ionty (obr. 3), z nichž nejvýznamnější jsou $[M+H-RCOOH]^+$ (ionty A) vzniklé ztrátou acylu z polohy *sn*-1, 2 nebo 3. Na základě těchto iontů byla provedena identifikace TG. Ionty $[M+H]^+$ identifikovaných TG, jejich retenční časy t_R a relativní retenční časy *r* jsou uvedeny v tabulce II. Jako standardy pro výpočet relativního retenčního času byly použity TG běžně obsažené v rostlinných olejích, tj. LLLn pro ECN = 36 až 41, LLL pro ECN = 42 a 43, OLL pro ECN = 44 a 45, OOL pro ECN = 46 a 47, OOL pro ECN = 48 a 49, SOO pro ECN = 50 a 51 a AOO pro ECN = 52. S použitím fragmentových iontů A byla určena převládající MK v poloze *sn*-2, protože její ztráta z polohy *sn*-2 je energeticky náročnější než z polohy *sn*-1 a 3 (cit.[6–8]). To lze vysvětlit vznikem méně stabilního pětičlenného cyklu při ztrátě acylu z polohy *sn*-2 oproti vzniku cyklu šestičlenného ztrátou acylu z poloh *sn*-1 nebo 3 (obr. 3).

Separace TG v RP-HPLC je řízena ekvivalentním počtem uhlíkových atomů. V rámci jedné skupiny ECN je separace TG ovlivněna charakterem přítomných MK, jejichž vliv na retenci může být demonstrován na skupinách TG se stejným ECN. Například ve skupině TG s ECN = 48 (OOO, OOP, OPP, PPP) (retenční čas roste v řadě: 84,0 < 85,4 < 87,0 < 88,7 min), čili přítomnost dvojné vazby způsobuje snižování retence daného TG v rámci jedné skupiny ECN. Tento závěr lze potvrdit retencí dvojic LLL a LLPo (retenční čas: 65,3 < 65,7 min) v rámci skupiny ECN = 42, OLL a OLPo (retenční čas: 71,8 < 72,2 min) ve skupině ECN = 44, OOL a OOPo (retenční čas: 77,9 < 78,3 min) ve skupině ECN = 46, u kterých se též snižuje retence se zvyšujícím se počtem dvojných vazeb. Srovnáním retencí skupin TG se stejným ECN a odlišnými MK lze odhadovat z pořadí separace neznámých TG jejich složení, což lze použít k ověření jejich identifikace a vyloučení případných chyb.

Připravené oleje obsahují velký počet TG složených z běžně se vyskytujících nenasycených MK (Po, Ln, L, O) a jejich kombinace s běžnými nasycenými MK (P, S). Jako minoritní byly dále v olejích identifikovány i TG obsahující jednu kyselinu s lichým počtem uhlíků (Mo, Ma). V některých olejích byly zastoupeny kyseliny s delším alifatickým řetězcem (G, B, A, Li). V olejích připravených ze semínek plodů jsou navíc v malém množství zastoupeny kombinace běžných MK a kyselin, které se v rostlinných olejích vyskytují vzácně (C, Cy, Pe, St, E, H, T). Výjimkou je olej ze semínek černého rybízu, který obsahuje velký počet kombinací běžných MK s kyselinou γ-linolenovou (γLn), která převládala v tomto oleji. Od kyseliny linolenové se odlišuje pouze polohou dvojných vazeb v acylovém řetězci (γLn v poloze 6, 9, 12 a Ln v poloze 9, 12, 15) a byla identifikována na základě re



Obr. 3. **Schéma fragmentových iontů pozorovaných v APCI hmotnostních spektrech**

Tabulka II
Triacylglyceroly (TG) nalezené v rostlinných olejích, jejich zkratky, ekvivalentní počet uhlíkových atomů (ECN), molekulové ionty ($[M+H]^+$), retenční časy (t_R) a relativní retenční časy $r = (t_R - t_M)/(t_S - t_M)$ (t_M = 3,2 min, t_S – retenční čas standardu). Zkratky mastných kyselin v jednotlivých TG byly seřazeny sestupně podle jejich hmotností

TG	ECN	$[M+H]^+$	t_R	r	TG	ECN	$[M+H]^+$	t_R	r
LnLnLn	36	873	48,3	0,800	OOPo		857	78,3	1,005
LLnSt		873	49,4	0,819	GOLn		909	78,8	1,012
StStP		847	52,6	0,876	SLL		883	79,0	1,015
LLnLn	38	875	54,0	0,901	OLP		857	79,3	1,019
LLaLa		719	54,8	0,915	GOLa		831	79,4	1,020
OMCy		693	55,9	0,934	ALLn		909	79,6	1,023
OLnSt		875	56,2	0,940	OOM		831	79,7	1,024
MLaLa		667	56,6	0,947	OPPo		831	79,8	1,025
StLnP		849	57,4	0,961	SOLn		883	80,0	1,028
LnLnMo	39	863	57,7	0,966	BLnLn		935	80,1	1,029
LnLnPe		837	58,7	0,984	LPP		831	80,9	1,040
LLLn	40	**877**	**59,6**	**1,000**	SLM		831	80,9	1,040
LLLa		799	60,3	1,012	PPPo		805	81,3	1,046
OLnLn		877	60,6	1,018	OPM		805	81,3	1,046
OOCy		747	61,4	1,032	SOLa		805	81,3	1,046
LMLa		747	61,5	1,034	SLnP		857	81,4	1,047
OLaLa		721	61,8	1,039	OMoMo		857	81,4	1,047
OLSt		877	61,9	1,041	OOMo	47	871	81,5	1,048
LnLnP		851	62,1	1,044	OLMa		871	82,3	1,059
OPCy		721	63,0	1,060	HLLn		921	82,3	1,059
LStP		851	63,1	1,062	OMoP		845	82,7	1,064
MMLa		695	63,8	1,074	TLnLn		949	82,9	1,067
SLnSt		877	64,7	1,090	GOL	48	911	83,1	0,989
LLnMo	41	865	63,3	1,066	**OOO**		**885**	**84,0**	**1,000**
LLL	42	**879**	**65,3**	**1,000**	ALL		911	84,8	1,010
LLPo		853	65,7	1,006	GOM		859	85,0	1,012
OLLn		879	66,4	1,018	BLLn		937	85,1	1,014
LLM		827	66,7	1,023	SOL		885	85,1	1,014
OLLa		801	67,0	1,027	OOP		859	85,4	1,017
OOC		775	67,6	1,037	SLP		859	86,6	1,032
LLnP		853	67,8	1,040	BLLa		859	86,6	1,032
LMM		775	68,2	1,047	SSLn		885	86,9	1,036
LPLa		775	68,3	1,048	AOLa		833	87,0	1,037
SLnLn		879	68,5	1,052	OPP		833	87,0	1,037
OMLa		749	68,5	1,052	SOM		833	87,0	1,037
SLSt		879	69,6	1,069	PPP		807	88,7	1,058
OStP		853	69,8	1,072	HLL	49	925	87,4	1,042
SOCy		749	69,9	1,074	TLLn		951	87,8	1,047
PMLa		723	70,7	1,087	OOMa		873	88,4	1,054
LLMo	43	867	69,0	1,060	OMaP		847	89,7	1,071
LLPe		841	70,3	1,081	GOO	50	913	89,0	0,979
LLnMa		867	70,7	1,087	GSL		939	89,9	0,990
ELL	44	907	70,8	0,985	BLL		913	90,0	0,991
OLL		**881**	**71,8**	**1,000**	LiLLn		965	90,2	0,993
GLLn		907	72,1	1,004	AOL		913	90,4	0,995
OLPo		855	72,2	1,006	GOP		887	90,4	0,995
OOLn		881	72,6	1,012	**SOO**		**887**	**90,8**	**1,000**
LLP		855	73,1	1,019	ALP		887	91,8	1,011
OLM		829	73,7	1,028	SSL		887	91,9	1,013

Pokračování tabulky II

TG	ECN	$[M+H]^+$	t_R	r	TG	ECN	$[M+H]^+$	t_R	r
SLLn		881	73,8	1,029	SOP		861	92,3	1,017
OLnP		855	74,0	1,032	AOM		861	92,3	1,017
OOLa		803	74,1	1,034	BOLa		861	92,3	1,017
ALnLn		907	74,3	1,036	SPP		835	94,4	1,041
LPM		803	75,1	1,048	TLL	51	953	92,4	1,018
SLLa		803	75,2	1,050	TOLa		875	94,7	1,045
OMM		777	75,5	1,054	SOMa		875	95,0	1,048
OPLa		777	75,6	1,055	LiLL	52	967	94,9	0,988
LnPP		829	75,7	1,057	BOL		941	95,5	0,995
SOSt		881	75,9	1,060	**AOO**		**915**	**96,0**	**1,000**
OLMo	45	869	75,6	1,055	LiLM		915	96,7	1,008
LLMa		869	76,3	1,066	BLP		915	96,8	1,009
LMoP		843	76,4	1,067	ASL		915	96,9	1,010
OLnMa		869	77,0	1,076	LiOLa		889	97,1	1,012
GLL	46	909	77,2	0,991	AOP		889	97,5	1,016
OOL		**883**	**77,9**	**1,000**	SSO		889	97,6	1,017

tenčních časů. Vlivem odlišné polohy dvojných vazeb se retenční čas TG obsahujícího tuto kyselinu posouvá přibližně o 0,7 min k vyšším hodnotám.

Závěr

Byla optimalizována metodika HPLC s obrácenými fázemi a mobilní fází acetonitril-propan-2-ol pro analýzu složitých směsí TG s použitím spojení dvou chromatografických kolon Nova-Pak C18 v sérii při teplotě 25 °C. Tato metoda poskytuje dobré rozlišení TG s různými skupinami ECN, ale i pro TG v rámci jedné skupiny. Byla použita pro analýzu 10 rostlinných olejů (olej z lískových ořechů, vlašských ořechů, kešu ořechů, mandlí, máku tmavého, peciček žlutého melounu, šípků, fíků, datlí, černého rybízu). Celkem bylo v rostlinných olejích identifikováno 130 TG složených z 22 mastných kyselin obsahujících 8 až 24 uhlíků a 0 až 4 dvojné vazby. U identifikovaných TG byla na základě poměrů intenzit určena převládající kyselina v poloze *sn*-2. Přednostně jsou v této poloze zastoupeny nenasycené MK (převážně kyselina linolová).

LITERATURA

1. Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W.: *Harperova biochemie*. H + H, Jinočany 2001.
2. Vodrážka Z.: *Biochemie*. Academia, Praha 1999.
3. Stolyhwo A., Colin H., Guiochon G.: Anal. Chem. *57*, 1342 (1985).
4. Palmer A. J., Palmer F. J.: J. Chromatogr. *465*, 369 (1989).
5. Héron S.: *Dissertation*. Université Paris 6, Paris 1992.
6. Mottram H. R., Woodbury S. E., Evershed R. P.: Rapid Commun. Mass Spectrom. *11*, 1240 (1997).
7. Mottram H. R., Evershed R. P.: Tetrahedron Lett. *37*, 8593 (1996).
8. Mottram H. R., Crossman Z. M., Evershed R. P.: Analyst *126*, 1018 (2001).
9. Holčapek M., Jandera P., Zderadička P., Hrubá L.: J. Chromatogr., A *1010*, 195 (2003).
10. Holčapek M., Jandera P., Fischer J., Prokeš B.: J. Chromatogr., A *858*, 13 (1999).
11. Holčapek M., Jandera P., Fischer J.: Crit. Rev. Anal. Chem. *31*, 53 (2001).

M. Lísa and M. Holčapek (*Department of Analytical Chemistry, University of Pardubice, Pardubice):* **Analysis of Natural Mixtures of Triacylglycerols Using HPLC/MS Technique**

An HPLC/MS method was developed for analysis of triacylglycerols (TGs) in plant oils from hazelnut, walnut, cashew nut, and almond as well as from poppy, yellow melon, rose hip, fig, date and black currant seeds. The objective of the present work is unambiguous identification of the maximum number of TGs, based on the optimisation of temperature, column length and gradient steepness. Non-aqueous reversed-phase HPLC with an optimized acetonitrile – propan-2-ol gradient, 30 + 15 cm Nova-Pak C_{18} columns and temperature 25 °C were used in the TG identification based on their positive-ion APCI mass spectra. Total 130 TGs derived from 22 fatty acids C8–C24 with 0–4 double bonds were identified.

SIMULTÁNNÍ SPECIAČNÍ SPEKTROFOTOMETRICKÁ ANALÝZA IONTŮ Fe^{2+} A Fe^{3+}

MICHAELA HOLBOVÁ* a PŘEMYSL LUBAL

Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
lubal@chemi.muni.cz

Došlo 13.9.04, přepracováno 2.1.05, přijato 13.1.05.

Klíčová slova: Speciační analýza, spektrofotometrické stanovení, směsné činidlo, umělé neuronové sítě

Věnováno prof. RNDr. Lumíru Sommerovi, DrSc, k jeho 75. narozeninám.

Úvod

Speciační analýza je analytická činnost identifikace/měření množství jedné nebo více chemických species ve vzorku[1–3], kdežto speciace (prvků) je stanovení distribuce prvku ve formě chemické species v daném systému[1–3]. Chemická species je specifická forma prvku definovaná svým izotopovým složením, elektronovým nebo oxidačním stavem, resp. molekulární strukturou či strukturou komplexu[1–3]. V současnosti je znalost koncentrací jednotlivých forem chemických prvků a látek přítomných v chemickém systému za daných experimentálních podmínek vyžadována praxí, např. pro studie biogeochemických cyklů chemických sloučenin či stanovení toxicity a ekotoxicity vybraných prvků v životním prostředí (těžké kovy, aktinidy, aj.).

Speciační analýza může být realizována dvěma přístupy[1–4]:

– Aplikace pokročilých separačních technik s následným využitím některé ze spektrálních metod umožňujících jednoznačnou identifikaci chemické species – tzv. „hyphenated“ (kombinované) techniky, které mají uplatnění většinou v analýze inertních komplexů např. (bio)makromolekulárních sloučenin a jejich komplexů nebo toxických organokovových sloučenin[1–3]. Tento přístup vyžaduje finančně náročné přístroje.
– Analýza systému analytickými technikami (např. spektrofotometrie nebo elektroanalytické techniky) umožňujícími stanovení celkové koncentrace analytu, resp. celkové koncentrace inertních a labilních komplexů[4]. Stanovené analytické koncentrace všech látek přítomných v chemickém systému slouží jako vstupní data pro výpočet koncentrací jednotlivých forem analytu (chemických species) příslušným programem při znalosti jejich stechiometrie a rovnovážných konstant korigovaných na experimentální podmínky (teplota, iontová síla, aj.)[2]. Tento přístup se hlavně používá pro speciační analýzu ve vzorcích životního prostředí např. vod[4,5].

Železo se ve vodách vyskytuje v oxidačním stupni II nebo III. V bezkyslíkatém (anoxickém) prostředí podzemních vod a v povrchových vodách u dna se vyskytuje železo v oxidačním stupni II, kdežto železo v oxidačním stupni III je nejstabilnější formou výskytu ve vodách obsahujících rozpuštěný kyslík[5]. Rychlost oxidace a podíl oxidované formy železa závisí na chemickém složení vod[5] (zejména na obsahu kationtů – Cu^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, aniontů – síranů, chloridů, hydrogenuhličitanů, organických sloučenin – huminových látek a tříslovin). V minerálních vodách[5] se celkový obsah železa pohybuje v koncentracích desítek $mg.l^{-1}$, proto jsou před stáčením zbavovány železa. Ve vodárenských tocích nesmí obsah železa překročit hodnotu 0,5 $mg.l^{-1}$, v ostatních tocích 2,0 $mg.l^{-1}$ a v závlahových vodách 10,0 $mg.l^{-1}$, ačkoliv v některých průmyslových vodách[5] bývá zjištěna i koncentrace řádově v $g.l^{-1}$, proto je nutné mít jednoduchou metodu pro terénní stanovení chemických species železa.

Umělé neuronové sítě (**A**rtificial **N**eural **N**etwork, ANN) se objevily před více než padesáti lety[6], avšak zájem o jejich aplikaci rychle poklesl, jelikož tehdejší neuronové sítě a způsob jejich použití nevykazovaly uspokojivé výsledky při řešení reálných problémů[6]. Zájem vědců o tuto oblast vzrostl až po několika desetiletích po publikování Hopfieldových prací[6], který zavedl nový model neuronové sítě s použitím tzv. logistické funkce jako aktivační funkce pro popis nelinearity mezi součtem vstupů přijatých neuronem a výstupem převáděným do dalších vrstev. Hopfield také zavedl výkonný algoritmus zpětného šíření chyb[6], což vedlo spolu s rozvojem výpočetní techniky k obrovskému nárůstu zájmu o ANN v různých vědních oborech (chemie, biologie, farmacie), kde aplikace ANN umožňuje předpovídat vlastnosti bez znalosti funkčních vztahů (modelů) založených na chemické, termodynamické nebo matematické podstatě vyhodnocovaných dat nebo probíhajících dějů[7–10] (tzv. soft modelování). ANN spolu s ostatními matematickými a chemometrickými metodami představují jednu z variant vyhodnocení výsledků analytických měření. V současné době se ANN používají v některých oblastech analytické chemie, např. pro kalibrace iontově selektivních elektrod[11,12], vyhodnocování rovnovážných[12] nebo rychlostních[13,14] konstant z experi-

* Tato práce byla přednesena v soutěži o cenu firmy Merck 2004 o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie.

mentálních dat[12] a pro optimalizace analytických metod[15,16]. Úkolem předkládané práce bylo ověřit praktickou použitelnost ANN spolu s metodou plánování pokusů[17] pro simultánní spektrofotometrické stanovení dvojmocného a trojmocného železa v reálných vzorcích vod.

Experimentální část

Chemikálie a přístroje

Pro přípravu všech roztoků byla použita voda redestilovaná v křemenné aparatuře (Heraeus, Německo), chemikálie (síran amonno-železnatý, dusičnan železitý, dusičnan měďnatý, dusičnan kobaltnatý, dusičnan nikelnatý, dusičnan zinečnatý, dusičnan manganatý, kyselina 5-sulfosalicylová, 1,10-fenanthrolin, kyselina gallová, všechny čistoty p.a.) byly dodány firmou Lachema (Brno, Česká republika). Hydrogenftalát draselný (p.a., Merk, Německo) byl použit pro přípravu roztoku pufru (pH 4,00), kdežto kyselina octová a octan sodný (p.a., Lachema, Brno, Česká republika) pro roztok pufru (pH 5,00). Měření byla provedena při laboratorní teplotě na dvoupaprskovém spektrofotometru UV2 (Pye Unicam, Velká Británie) s rozsahem vlnových délek 190–900 nm. pH roztoků bylo kontrolováno kombinovanou skleněnou elektrodou (Monokrystaly, Turnov, Česká republika) na pH metru OP-208 (Radelkis, Maďarsko) s přesností 0,01 pH.

Tabulka I
3^2 experimentální plán koncentrací iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} použitý pro spektrofotometrické stanovení s použitím kyseliny gallové nebo směsného činidla (1,10-fenathrolin a kyselina 5-sulfosalicylová)

Množina dat	Kyselina gallová		Směsné činidlo	
	c (Fe^{2+}) [mg.l^{-1}]	c (Fe^{3+}) [mg.l^{-1}]	c (Fe^{2+}) [mg.l^{-1}]	c (Fe^{3+}) [mg.l^{-1}]
Trénovací 1	0,5	1,0	5,0	5,0
Trénovací 2	0,5	2,5	5,0	16,5
Trénovací 3	0,5	4,0	30,0	5,0
Trénovací 4	2,0	4,0	30,0	30,0
Trénovací 5	4,0	4,0	5,0	30,0
Trénovací 6	4,0	2,5	16,5	16,5
Trénovací 7	4,0	1,0	16,5	30,0
Trénovací 8	2,0	1,0	16,5	5,0
Trénovací 9	2,0	2,5	30,0	16,5
Verifikační 1	1,0	3,0	6,0	6,0
Verifikační 2	3,0	1,5	28,5	28,5
Verifikační 3	1,5	1,0	14,5	21,5
Verifikační 4	1,5	1,5	10,0	10,0
Testovací 1	3,5	3,5	10,0	23,5
Testovací 2	2,5	2,0	27,5	15,0
Testovací 3	2,5	1,0	16,5	10,0
Testovací 4	1,0	1,0	6,0	28,5

Příprava vzorků

Pro přípravu všech vzorků o různých koncentracích byly použity zásobní roztoky síranu amonno-železnatého (c = 500 mg.l^{-1}) a dusičnanu železitého (c = 500 mg.l^{-1}). Simultánní stanovení iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} reakcí s kyselinou gallovou bylo prováděno podle postupu popsaného v literatuře[18], kdežto pro stanovení se směsným činidlem (1,10-fenanthrolin a kyselina 5-sulfosalicylová)[12] byl popsaný postup[19] modifikován. Kyselina salicylová byla kvůli možným problémům s její rozpustností v reálných vzorcích přírodních vod nahrazena kyselinou 5-sulfosalicylovou.

Pro stanovení pomocí kyseliny gallové byl použit zásobní roztok o koncentraci c = 0,01 mol.l^{-1}. Vzorky byly připraveny pipetováním 5,00 ml roztoku octanového pufru (pH 5,00), 2,00 ml zásobního roztoku kyseliny gallové a příslušných množství roztoků iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} tak, aby se koncentrace obou iontů pohybovaly v rozmezí 0,5–4,0 mg.l^{-1} (koncentrace byly měněny podle experimentálního plánu 3^2 (viz tabulka I, cit.[17])), a poté doplněny redestilovanou vodou na celkový objem 10,00 ml. Spektrum roztoků bylo měřeno 15 min po smíchání vzorků, aby reakce proběhla kvantitativně. Zásobní roztok směsného činidla byl připraven z navážky 0,998 g 1,10-fenanthrolinu a 0,575 g kyseliny 5-sulfosalicylové rozpuštěním ve 100,00 ml redestilované vody; koncentrace 1,10-fenanthrolinu byla 0,0554 mol.l^{-1} a koncentrace kyseliny 5-sulfosalicylové 0,0264 mol.l^{-1}. Vzorky byly připraveny pipetováním 3,00 ml roztoku směsného činidla, 0,50 ml roztoku hydrogenftalátového pufru (pH 4,00) a příslušných množství roztoků iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} tak, aby se koncentrace obou iontů pohybovaly v rozmezí 5,0–30,0 mg.l^{-1} (koncentrace byly měněny podle plánu pokusů 3^2 (viz tabulka I, cit.[17])), a poté doplněny redestilovanou vodou na celkový objem 5,00 ml. Spektrum roztoků bylo měřeno 5 min po smíchání vzorků. Kromě tohoto základního měření byla také zkoumána možnost speciační analýzy iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} v minerálních vodách a vliv nadbytku Co^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+} a Cu^{2+} na výsledky jejich stanovení pro možné stanovení v metalurgických vzorcích, kdy po jejich úpravě na mokré cestě nemusí být oxidace železa dokonalá.

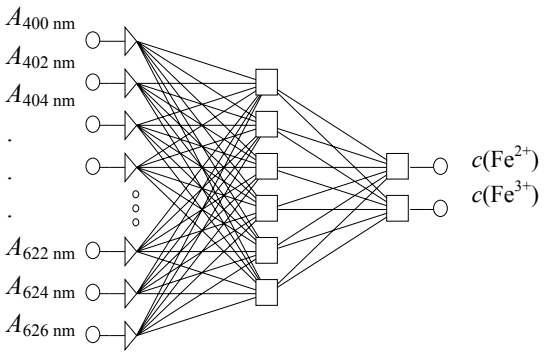
Vyhodnocení výsledků

Naměřená spektrální data byla exportována do programu Excel™, po jejich následném zpracování byla vyhodnocena programy AnnWizzard[10] a Trajan™ (StatSoft, Velká Británie) s použitím ANN. Jako vstupní hodnoty sítě byly použity hodnoty absorbancí v rozsahu vlnových délek 420–626 nm po 2 nm (celkem 114 vstupních neuronů) pro směsné činidlo nebo 420–890 nm po 5 nm (celkem 95 vstupních neuronů) pro kyselinu gallovou. Výstupní hodnoty (2 neurony) byly v obou případech koncentrace jednotlivých forem železa ($c_{Fe(II)}$ a $c_{Fe(III)}$). Optimální architektura ANN (počet skrytých neuronů) byla hledána programem Trajan™ při použití 9 roztoků (trénovací soubor)

Tabulka II
Výsledky simultánní analýzy iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} v neznámém vzorku reakcí s kyselinou gallovou. Výsledky byly vypočteny s použitím ANN (95:5:2, program AnnWizzard, ANNW – logistická funkce a Trajan™ – lineární funkce)

$c(Fe^{2+})$ [mg.l^{-1}]			Rel. chyba [%]		$c(Fe^{3+})$ [mg.l^{-1}]			Rel. chyba [%]	
hodnoty dané	hodnoty vypočtené		Trajan	AnnW	hodnoty dané	hodnoty vypočtené		Trajan	AnnW
	Trajan	AnnW				Trajan	AnnW		
1,0	1,0	1,0	0,12	0,01	3,0	3,0	3,0	0,07	0,07
3,0	3,0	3,0	0,66	0,03	1,5	1,5	1,5	0,20	0,01
1,5	1,5	1,5	0,63	0,03	1,0	1,0	1,0	0,84	0,01
1,5	1,5	1,5	0,06	0,06	1,5	1,5	1,5	0,46	0,40
3,5	3,5	3,5	0,67	0,11	0,5	0,5	0,5	0,20	0,20
3,0	3,0	3,0	0,66	0,70	3,0	3,0	3,0	0,66	0,40

a 4 roztoků (ověřovací-verifikační soubor) (viz tabulka I) a následujících parametrů: aktivační funkce lineární, počet učících epoch 50 000 (stejné pro obě stanovení), rychlost učení 0,8; „momentum“ 0,5 (stanovení směsným činidlem); rychlost učení 0,6; „momentum“ 0,3 (stanovení kyselinou gallovou). Optimální architektura ANN byla nalezena pro 6 skrytých neuronů (viz obr. 1) pro směsné činidlo nebo 5 skrytých neuronů pro kyselinu gallovou a byla pak použita pro předpověď koncentrací iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} v neznámém vzorku z naměřených hodnot absorbancí. Pro ověření výpočtů byl použit také software AnnWizzard[10] se stejnými parametry pro optimalizaci ANN, kdy místo aktivační lineární funkce byla použita funkce logistická.



Obr.1. **Příklad optimální architektury (114:6:2) umělé neuronové sítě (ANN) použité v práci**

Výsledky a diskuse

Kyselina gallová je citlivé organické činidlo pro stanovení iontů Fe^{3+}, které je rušeno přítomností iontů Fe^{2+}. Tuto interferenci je možné zahrnout do procesu kalibrace a stanovit ionty Fe^{2+} a Fe^{3+} vedle sebe. Jak bylo ukázáno v literatuře, reakce má kinetický charakter[18] a produkt reakce Fe^{2+} s kyselinou gallovou vznikne až po 15 min. Je nutné proto dodržet tento časový interval a také jiné experimentální podmínky (pH, nadbytek kyseliny gallové), abychom eliminovali vedlejší chemické reakce, které mohou rušit vlastní stanovení. Naměřená absorbanční data byla použita pro hledání optimální architektury ANN, která pak byla použita pro předpověď koncentrace iontů železnatých a železitých ve vzorku (viz tabulka II). Jak je patrné z výsledků, použití obou druhů software s oběma aktivačními funkcemi přineslo takřka shodné výsledky nezávislé na metodě výpočtu. Jelikož program Trajan™ je pro potenciální uživatele komerčně dostupný, používali jsme ho pro další výpočty. Navíc aplikace lineární aktivační funkce odpovídá více fyzikálnímu významu Bougerova-

Tabulka III
Výsledky simultánní analýzy iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} v neznámém vzorku reakcí se směsným činidlem. Výsledky byly vypočteny s použitím ANN (114:6:2, program Trajan™ – lineární funkce)

$c(Fe^{2+})$ [mg.l^{-1}]		Rel. chyba [%]	$c(Fe^{3+})$ [mg.l^{-1}]		Rel. chyba [%]
dáno	vypočteno		dáno	vypočteno	
28,5	28,5	0,07	29,0	29,1	0,37
10,0	10,0	0,00	6,0	6,0	0,17
23,5	23,5	0,03	23,5	23,5	0,04
28,5	28,5	0,04	6,0	6,0	0,13
5,5	5,5	0,18	29,0	29,2	0,69

Tabulka IV
Výsledky spektrofotometrického stanovení obsahu iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} v minerálních vodách reakcí se směsným činidlem. Výsledky byly vypočteny s použitím ANN (101:5:2, 380–580 nm, program Trajan™ – lineární funkce)

$c(Fe^{2+})$ [mg.l^{-1}]		Rel. chyba [%]	$c(Fe^{3+})$ [mg.l^{-1}]		Rel. chyba [%]
hodnoty teoretické	hodnoty vypočtené		hodnoty teoretické	hodnoty vypočtené	
		Korunní[a]			
23,5	23,6	0,28	10,0	10,2	1,54
28,5	28,6	0,21	6,0	6,1	1,64
6,0	6,0	0,61	29,0	29,3	1,04
6,0	5,9	–1,43	6,0	6,0	0,42
		Rudolfův pramen[b]			
23,5	23,4	–0,55	10,0	9,9	–1,33
28,5	28,6	0,23	6,0	6,0	0,22
6,0	6,0	0,70	29,0	29,3	0,89
6,0	6,1	1,48	6,0	6,1	1,48
		Vincentka[c]			
23,5	23,6	0,42	10,0	10,2	1,53
28,5	28,2	–1,06	6,0	6,1	1,15
6,0	5,9	–1,15	29,0	29,1	0,32
6,0	6,1	1,32	6,0	6,0	0,45
		Poděbradka[d]			
23,5	23,6	0,38	10,0	10,1	0,51
28,5	28,6	0,19	6,0	6,0	0,06
6,0	5,9	–1,69	29,0	28,7	–1,05
6,0	6,0	0,50	6,0	6,0	0,20
		Ondrášovka[e]			
23,5	23,2	–1,29	10,0	9,9	–1,46
28,5	28,8	1,04	6,0	6,0	0,58
6,0	6,0	0,17	29,0	29,1	0,32
6,0	6,0	0,66	6,0	6,0	0,10

Složení minerálních vod (v mg.l^{-1}):

[a] Na^+ 97,56; K^+ 24,30; Mg^{2+} 29,72; Ca^{2+} 78,55; Mn^{2+} 0,61; Fe^{2+} 0,02; F^- 0,87; Cl^- 14,05; SO_4^{2-} 66,54; HCO_3^- 583,4; H_2SiO_3 55,60

[b] Na^+ 84,17; K^+ 11,13; Mg^{2+} 136,2; Ca^{2+} 276,7; Sr^{2+} 0,497; Fe^{2+} 12,32; Mn^{2+} 0,548; F^- 0,103; Cl^- 45,32;I^- 0,006; SO_4^{2-} 122,7; HCO_3^- 1581; H_2SiO_3 117,8 (celková mineralizace 2392)

[c] Li^+ 9,81; Na^+ 2440,00; K^+ 133,50; Mg^{2+} 15,28; Ca^{2+} 239,20; Sr^{2+} 4,23; Ba^{2+} 8,68; Rb^+ 0,59; Cs^+ 0,16;Fe^{2+} 3,81; Mn^{2+} 0,55; NH_4^+ 10,57; F^- 2,54; Cl^- 1617,00; Br^- 7,03; I^- 6,77; SO_4^{2-} 8,43; HCO_3^- 4825,00; HBO_2 318,50; H_2SiO_3 15,56; volný CO_2 3030,00 (celková mineralizace 963,4)

[d] Na^+ 483,9; K^+ 61,6; Mg^{2+} 69,6; Ca^{2+} 167,9; F^- 1,5; Cl^- 439,6; I^- 0,08; SO_4^{2-} 82,4; HCO_3^- 1431,0 (celková mineralizace 2741)

[e] Na^+ 29,60; K^+ 1,582; Mg^{2+} 19,56; Ca^{2+} 184,0; F^- 1,17; Cl^- 5,46; SO_4^{2-} 15,38; HCO_3^- 706,2; NO_3^- 0,41; volný CO_2 3973 (celková mineralizace 963,4)

Lambertova-Beerova zákona.

Použití směsného činidla (1,10-fenanthrolin + 5-sulfosalicylová kyselina) pro analýzu je výhodné[20], jelikož využívá selektivity obou činidel pro stanovení iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} (cit.[19]). Experimentální podmínky (nadbytek chelatačních činidel, pH 4,00) jsou nastaveny tak, abychom využili co nejvyšší citlivosti stanovení a eliminovali možnost vedlejších chemických reakcí (např. hydrolýzy iontů Fe^{3+}). Stanovení však může být rušeno ostatními ionty a nemusí tak být zajištěna linearita měřeného analytického signálu jako funkce koncentrace v rámci Bougerova-Lambertova-Beerova zákona. Tento problém lze odstranit

použitím metody ANN.

Spektrofotometrická data naměřená podle experimentálního plánu (tabulka I) byla použita k optimalizaci architektury ANN (obr. 1). Optimalizovaná natrénovaná ANN pak byla použita pro předpověď výsledků simultánního stanovení koncentrace obou forem železa. Výsledky jsou uvedeny v tabulce III. Relativní chyba stanovení je ve všech případech menší než 0,70 %.

Dále bylo testováno, zda přítomnost ostatních iontů přechodných kovů (Co^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}) v přebytku ruší stanovení Fe^{2+} a Fe^{3+} navrženým postupem. Optimalizací architektury ANN (101:6:2) a následnou předpovědí koncentrací iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} ve vzorcích bylo zjištěno, že koncentrace 100 $mg.ml^{-1}$ (Co^{2+} a Ni^{2+}), 70 $mg.ml^{-1}$ (Zn^{2+}), 20 $mg.ml^{-1}$ (Mn^{2+}) a 60 $mg.ml^{-1}$ (Cu^{2+}) stanovení neruší a tyto hodnoty koncentrací iontů doprovodných prvků lze považovat za limitní pro stanovení obou chemických species železa v roztoku. Relativní chyba stanovení Fe^{2+} a Fe^{3+} v přítomnosti výše uvedených iontů přechodných kovů vzrostla, ale nepřesáhla 2 %, což je přijatelné pro většinu běžných analytických postupů. To je zlepšení vzhledem k původní práci[19], kde bylo konstatováno, že ionty Co^{2+} a V^{4+} ruší stanovení v přítomnosti 1,10-fenanthrolinu pravděpodobně v důsledku vzájemných redoxních reakcí.

Dále bylo zkoušeno, zda je navržená metoda vhodná pro stanovení forem železa v minerálních vodách[5]. Jako vzorky bylo vybráno 5 druhů minerálních vod lišících se výrazně svým chemickým složením (tabulka IV), které byly obohaceny známým přídavkem Fe^{2+} a Fe^{3+}. Ačkoliv je z minerálních vod před stáčením odstraněno železo, výsledky jejich chemických analýz deklarují přítomnost iontů Fe^{2+} (např. Rudolfův pramen 12,32 $mg.l^{-1}$, Vincentka 3,81 $mg.l^{-1}$). Výsledky stanovení i s obsahem ostatních interferujících iontů jsou uvedeny v tab. IV. Stanovení byla provedena opakovaně (4×) a relativní směrodatná odchylka stanovení nepřekročila 4 % pro oba ionty. Byly provedeny testy na systematickou chybu (Grubsův test, Studentův *t*-test) a testování hypotéz potvrdilo, že navržená analytická metoda není zatížena systematickou chybou. Stanovení není možné provést pouze v minerálních vodách s extrémně vysokým obsahem hořečnatých iontů (Šaratica 2943,8 $mg.l^{-1}$, Zaječická hořká 5105,1 $mg.l^{-1}$), kdy se po přídavku činidla tvoří sraženiny.

Závěr

V předložené práci byly navrženy dvě spektrofotometrické metody pro simultánní stanovení iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} s následným vyhodnocením experimentálních dat s použitím ANN. Metody jsou vhodné pro stanovení chemických species železa v různých vzorcích (slitiny, podzemní vody a jiné vzorky životního prostředí) v přítomnosti iontů jiných přechodných kovů (Co^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}). Rychlé a jednoduché spektrofotometrické stanovení poskytuje přesné výsledky (relativní směrodatná odchylka do 4 %), které nejsou zatíženy systematickou chybou. Metoda může být použita např. pro terénní stanovení obou forem železa ve vzorcích vod.

Tato práce byla podporována granty GA ČR (grant 203/02/1103) a FRVŠ 522/2003/F6a.

LITERATURA

1. Templeton D. M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L.-G., Muntau H., van Leeuwen H. P., Lobinski R.: Pure Appl. Chem. *72*, 1453 (2000).
2. Ure A. M., Davidson C. M. (Eds.): *Chemical Speciation in the Environment*. Blackwell Science, Oxford 2002.
3. Cornelis R. (Ed.): *Handbook of Elemental Speciation:Techniques and Methodology*. Wiley, Chichester 2003.
4. Buffle J.: *Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach.* Ellis Horwood, Chichester 1990.
5. Pitter P.: *Hydrochemie*, str. 102. Vydavatelství VŠCHT, Praha 1999.
6. Kvasnička V., Beňušová L., Pospíchal J., Farka I., Tiňo P., Král A.: *Úvod do teórie neuronových sietí.* IRIS, Bratislava 1997.
7. Zupan J., Gasteiger J.: Anal. Chim. Acta *248*, 1 (1991).
8. Gasteiger J., Zupan J.: Angew. Chem., Int. Engl. Ed. *32*, 503 (1993).
9. Zupan J., Gasteiger J.: *Neural Networks in Chemistry and Drug Design*. Wiley-VCH, New York 1999.
10. Zezula L.: *Diplomová práce*. Masarykova univerzita, Brno 1999.
11. Bos M., Bos A., van der Linden W. E.: Analyst *118*, 323 (1993).
12. Havel J., Lubal P., Farková M.: Polyhedron *21*, 1375 (2002).
13. Ventura S., Silva M., Perez-Bendito D., Hervas C.: Anal. Chem. *67*, 1521 (1995).
14. Ventura S., Silva M., Perez-Bendito D., Hervas C.: Anal. Chem. *67*, 4458 (1995).
15. Havel J., Peňa-Mendéz E. M., Rojas-Hernandéz A., Doucet J.-P, Panaye A.: J. Chromatogr. *793*, 117 (1998).
16. Dohnal V.: Chem. Listy *92*, 669 (1998).
17. Massart D.L. (Ed.): *Chemometrics: A Textbook*. Elsevier, Amsterdam 1988.
18. Zolgharnein J., Abdollahi H., Jalfarifar D., Azimi G. H.: Talanta *57*, 1067 (2002).
19. Safavi A., Abdollahi H.: Microchem. J. *63*, 211 (1999).
20. Perůtka J., Havel J., Jančář L.: Collect. Czech. Chem. Commun. *59*, 1951 (1994).

M. Holbová and P. Lubal *(Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno):* **Simultaneous Spectrophotometric Analysis of Fe^{2+} and Fe^{3+} Ions**

Two new procedures for simultaneous spectrophotometric analysis of ferrous and ferric ions utilizing their different reactivities to a selective reagent (gallic acid) and/or reagent mixture (5-sulfo-salicylic acid and 1,10-phenanthroline) were developed. The measured experimental data are treated by Artificial Neural Network. The concentration ranges used were 0.5–4.0 $mg.l^{-1}$ (Fe^{2+}) and 1.0–4.0 $mg.l^{-1}$ (Fe^{3+}) for the determination with gallic acid and 5.0–30.0 $mg.l^{-1}$ (both ions) for the determination with the reagent mixture. It was demonstrated for the latter method that transition metal cations (Co^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}) do not interfere and the method can be used for iron speciation analysis of Czech mineral waters. The proposed methods give precise (RSD < 4 %) and accurate results.

ZPRÁVY

Soutěž o cenu firmy Merck 2005

Ve dnech 14. a 15. února 2005 proběhl na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně již 8. ročník soutěže o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie o cenu firmy Merck organizované ve spolupráci s odbornou skupinou analytické chemie České společnosti chemické. Rekordní počet účastníků (19 studentů z pěti vysokých škol: Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně, Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, Vysoké školy chemicko-technologické v Praze a Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci) svědčí o rostoucím zájmu o tuto soutěž. Odborná porota měla nelehký úkol vybrat z těchto velmi kvalitních prací ty nejlepší. První místo získala Markéta Ryvolová z katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně za práci „Derivatizace peptidů a proteinů fluorescenčními barvivy“. Druhé místo obsadila Petra Vyskočilová z katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého za práci „Studium buněčných modelů pomocí analytických metod a diagnostika metabolických defektů“ a na třetím místě se umístil Václav Ranc, rovněž z katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého, s prací „Analýza chirálních látek metodou FIA-EIS-MS/MS“. Vzhledem k vysoké úrovni soutěžních prací se porota rozhodla udělit zvláštních cenu poroty Michaele Galiové, Veronice Možné a Alici Staňkové z katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně za soubor prací z oblasti spektroskopie s laserem indukovaným mikroplasmatem.

Soutěžící na prvním až třetím místě získali rovněž celoroční předplatné časopisu Chemické listy a všem účastníkům soutěže bylo díky vysoké kvalitě jejich prací nabídnuto jejich publikování v tomto časopise. Prezentované příspěvky, výsledky a fotodokumentace ze soutěže jsou umístěny na adrese http://www.chemi.muni.cz/~analytika/cm0.htm. Za dokonalou organizaci soutěže i vytvoření příjemné atmosféry si zaslouží poděkováni celý tým organizátorů v čele s prof.. RNDr. Viktorem Kanickým, CSc.

zleva: Markéta Ryvolová, Mgr. Zdeněk Haváč – zástupce fy Merck, spol. s r.o., Petra Vyskočilová a Václav Ranc

V roce 2006 se bude v pořadí již devátá soutěž o cenu firmy Merck konat na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci. Uzávěrka přihlášek do soutěže bude 30.11.2005, abstrakta prací bude třeba zaslat elektronickou poštou organizátorům soutěže do 20. prosince 2005. Další informace lze získat na adrese Barek@natur.cuni.cz.

Jiří Barek

57. sjezd
chemických společností

4. – 8. září 2005

Vysoké Tatry

Dovolujeme si Vás pozvat, jménem organizačního výboru, Asociace českých chemických společností, Asociacie slovenských chemických a farmaceutických spoľočností, garantů a sponzorů, na společný 57. sjezd chemiků. Sjezd se bude konat v hotelovém komplexu Hutník v Tatranských Matliaroch. V případě velkého zájmu je možné rozšířit ubytovací kapacitu o sousední hotely. Tatranské Matliare mají výhodnou výchozí polohu pro výlety do všech hlavních tatranských lokalit.
Předpokládané vložné na konferenci je

175 Euro,

zahrnuje konferenční poplatek, sborník, ubytování, plnou penzi, občerstvení během sekcí, společenské večery a možnost využití sportovního vybavení hotelu (plavecký bazén, bowling). Hotelový komplex s možností centrálního ubytování a stravování všech účastníků zajistí lepší podmínky pro odbornou i společenskou komunikaci účastníků sjezdu. Odborná úroveň bude podpořena přítomností řady pozvaných přednášejících, zahajovací přednášku přislíbil prof. Zewail (Kalifornský technologický institut, nositel Nobelovy ceny za chemii pro rok 1999).

Předběžné přihlášky zasílejte na adresu Slovenské chemické spoľočnosti písemně nebo E-mailem co nejdříve. Další nformace najdete na webových stránkách sjezdu: http://schs.chtf.stuba.sk . Stránka je dostupná i z domovské stránky ČSCH (www.csch.cz).

Kontaktní adresa
E-mail: upolzhlo@savba.sk, schs@chtf.stuba.sk

Slovenská chemická spoločnosť
FCHPT STU
Radlinského 9/1111
812 37 Bratislava
Slovensko

Výstaviště Praha 7 - Holešovice

19. - 21. 10. 2005

PRAGO ANALYTIKA

VÝSTAVA DODAVATELSKÉHO ZAJIŠTĚNÍ LABORATOŘÍ SLOUŽÍCÍCH KE ZKOUŠENÍ, KONTROLE JAKOSTI, VÝZKUMU A VÝVOJE VE VŠECH SEKTORECH PRŮMYSLU, POTRAVINÁŘSTVÍ A OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

- **ANALÝZA:** Analytická zařízení
  Chromatografie
  Spektroskopie
  Detektory
  Mikroskopie
- **MĚŘENÍ A KONTROLA JAKOSTI, ZKOUŠKY**
- **VYBAVENÍ LABORATOŘÍ:** Základní vybavení laboratoří
  Laboratorní datové systémy
  Analýza zpracování obrazu
  Laboratorní technologie a přístroje
- **ČINIDLA, PROVOZNÍ MATERIÁLY, POMŮCKY A SUROVINY**
- **VÝZKUMNÉ A PRŮMYSLOVÉ POLOPROVOZY**
- **INŽENÝRSKÉ SLUŽBY**
- **PORADENSTVÍ**
- **DOPROVODNÝ PROGRAM**

Garant odborného doprovodného programu:
ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ

INCHEBA €XPO PRAHA

INCHEBA PRAHA spol. s r. o.
areál Výstaviště Praha, 170 90 Praha 7
tel.: 220 103 476, fax: 233 378 225
e-mail: r.krombholzova@incheba.cz, www.incheba.cz

OBSAH

ÚVODNÍK 153

REFERÁTY

Pokroky asymetrické katalýzy v oblasti enantioselektivních hydrogenací 157
L. Bartek, P. Klusoň a L. Červený

Prebiotický účinek galaktooligosacharidů a využití laktosy pro jejich produkci 168
J. Rudolfová a L. Čurda

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

Využití MALDI-TOF MS při analýze směsí polymerů 175
K. Mazanec a J. Chmelík

Odstraňování herbicidu atrazinu z povrchové vody 179
H. Krýsová, J. Krýsa, J. Hubáčková, J. Tříska a J. Jirkovský

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE 185

CENA MERCK

Nové možnosti využití kobalt bis(dikarbollidového) aniontu jako lipofilního přídavku v membránách iontově-selektivních elektrod 186
J. Tutsch, M. Krondak, R. Volf, B. Grüner a V. Král

Jak se neokrást o úspěšnou chirální separaci kapilární elektroforézou 190
J. Petr, V. Maier, J. Horáková, E. Tesařová a J. Ševčík

Analýza přírodních směsí triacylglycerolů technikou HPLC/MS 195
M. Lísa a M. Holčapek

Simultánní Speciační spektrofotometrická analýza iontů Fe^{2+} a Fe^{3+} 200
M. Holbová a P. Lubal

ZPRÁVY 205

CONTENTS

EDITORIAL 153

REVIEW ARTICLES

Recent Progress in Asymmetric Hydrogenation Catalysis 157
L. Bartek, P. Klusoň, and L. Červený

Galactooligosaccharides as Prebiotics and Their Production from Lactose 168
J. Rudolfová and L. Čurda

LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS

Utilization of MALDI-TOF MS for Analysis of Polymer Mixtures 175
K. Mazanec and J. Chmelík

Removal of Pesticide Atrazine from Raw Water 179
H. Krýsová, J. Krýsa, J. Hubáčková, J. Tříska, and J. Jirkovský

NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY 185

MERCK PRIZE

New Possibilities of Application of Cobalt Bis(dicarbollide) Anion as a Lipophilic Additive in Ion-Selective Electrode Membranes 186
J. Tutsch, M. Krondak, R. Volf, B. Grüner, and V. Král

How To Achieve Successful Chiral Separation by Capillary Electrophoresis 190
J. Petr, V. Maier, J. Horáková, E. Tesařová, and J. Ševčík

Analysis of Natural Mixtures of Triacylglycerols Using HPLC/MS Technique 195
M. Lísa and M. Holčapek

Simultaneous Spectrophotometric Analysis of Fe^{2+} and Fe^{3+} Ions 200
M. Holbová and P. Lubal

NEWS 205

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 99 (2005), čís./no. 3 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 129, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 115 • 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 v Praze, 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 • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohlav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: M. Bláhová, I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámostný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvička (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, 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 ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTSIN 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 PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; t el/fax +420 222 220 184, e-mail: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: http: //chemicke-listy.vscht.cz • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy •

Copyright © 2005 Chemické listy/Česká společnost chemická •

Cena výtisku 147 Kč, roční plné předplatné 2005 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2005 (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 • Dáno do tisku 21.2.2005.