

Svěřme se mystikům a šamanům

Zhruba v posledních patnácti letech lze mezi českou veřejností – ale nejen českou – pozorovat nedůvěru k chemickým sloučeninám, ať už se to týká potravin, léčiv, herbicidů, fungicidů; lze pozorovat příklon k alternativní medicíně se všemi jejími modifikacemi. Ten se projevuje v přechodu kupř. k homeopatii nebo k už velmi staré zálibě a zakořeněné důvěře v léčivou moc bylinek.

V nedávné době se tento trend výrazně a zcela negativně projevil v případě hromadné otravy asi 32 účastníků tzv. meditace, nazvané „Osvobozující autohypnóza pralesních kouzelníků“, při níž pořadatel a přednášející podával čajíček z exotických jihoamerických bylin. Pod účinkem tohoto nápoje se účastníci neuvolnili a neobnovili své psychické síly, nýbrž dostali silné křeče, měli dýchací potíže, zvýšený krevní tlak a zvýšenou teplotu. Vesměs tu byla i snížena schopnost komunikace s okolím a někdy došlo i ke ztrátě vědomí. Z pronajatého sálu jedné fakulty Karlovy univerzity musili být účastníci převáženi k ošetření do pražských nemocnic. Organizátor celého pražského podniku, označovaný jako biolog, bez bližších údajů, nabízel zájemcům za nemalý peněz i další témata – Ayahuasca a vědomí bez hranic, Šplhání po šamanském stroju poznání, Víkend hlubinné regenerace těla a vědomí metodou imaginativního biomorfingu, Danza de la mente (taneční projekt).

Slibný název o „osvobození“ byl však realizován požíváním nápoje, jenž byl nálevem nebo odvarem z jihoamerických bylinek, které obsahovaly podle časopiseckých a novinových údajů též některou odrůdu durmanu. Ta vedla k uvedeným následkům.

Durman, podobně jako ostatní příbuzné lilkovité rostliny, kupř. rulík nebo blín, se již od antických dob používá a zneužívá jako halucinogen, afrodisiakum i anestetikum. Rostlina se

aplikovala zvykáním kořenů nebo listů, ale i vtíráním do očí nebo do sliznic, i případně rektálních nebo vaginálních. Alkaloidy v droze přítomné, kupř. skopolamin nebo atropin, ale i další, vyvolávají útlum žlázné sekrece, ovlivní dýchací centrum, zrychlují srdeční činnost, rozšiřují zorničky a zvyšují tělesnou teplotu. Ve vyšší dávce vedou i ke ztrátě vědomí. Působení bývá spojeno i s halucinacemi zrakové, sluchové a čichové povahy, též pocity létání, ježdění a točení jako na kolotoči. V antice byly tyto drogy používány i zneužívány jako léky i jedy k usmrcování, u přírodních národů jsou halucinogenní látkou. Podobné bylo i zneužití u tzv. čarodějnic v Evropě a Americe, hlavně v sedmáctém století. Výpovědi čarodějnic ve známých procesech nebyly jen vynuceny útrpným právem, nýbrž částečně i odpovídají skutečným pocitům účastnic, jež rády užívaly mastí připravených z takových drog. V nejnovejší době patří ke zneužitím praxe kolumbijských zlodějí, kteří durmanový nálev vstříkují oběti do obličeje. Tato akce vede k oblužení a ztrátě vědomí. Po zotavení si oloupený nic nepamatuje. Navíc byl v nedávné minulosti zneužíván skopolamin nacistickou a zvláště sovětskou politickou policií při výsleších a zvláště procesech jejich obětí.

Takové tedy může být působení nevinné „léčivé bylinky“, jejíž účinek závisí pochopitelně na dávkování, tj. na množství podané chemikálie, látky v ní obsažené. Toto by obětem vysvětlil každý farmakolog, toxikolog, ale i chemik; lákavější je však pod mediálním vlivem, ať jde o televizi, rozhlas nebo tisk, svěřit se šamanům nebo léčitelům. Nemusí se přitom přemýšlet.

Další poučení praví, že by si orgány vysokých škol měly dobře rozmyslet, komu pronajmout své prostory. Za otravy ve Vokovicích odpovídá i příslušná fakulta.

Jiří Volke

ELEKTROCHEMICKÉ ELIMINAČNÍ METODY

LIBUŠE TRNKOVÁ

Katedra teoretické a fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno, e-mail: libuse@chemi.muni.cz

Došlo dne 8.XII.2000

Klíčová slova: polarografie, voltametrie, eliminační polarografie, eliminační voltametrie, difúzní, kinetický a kapacitní proud, kinetika elektrodového procesu, elektroanalýza

Obsah

1. Úvod
2. Eliminační metody a jejich podstata
3. Eliminační polarografie (Elimination Polarography – EP)
 - 3.1. Teorie EP
 - 3.2. Experimentální realizace EP
 - 3.3. Eliminace kapacitního proudu
 - 3.4. Implementace EP na Eko-Tribo polarografu
 - 3.5. Studium elektrodového procesu pomocí EP
4. Eliminační voltametrie (Elimination Voltammetry with Linear Scan – EVLS)
 - 4.1. Teorie EVLS
 - 4.2. Experimentální verifikace EVLS
 - 4.3. Analytická aplikace EVLS
 - 4.4. Studium elektrodového procesu pomocí EVLS
 - 4.5. EVLS adsorbovaného depolarizátoru
5. Význam eliminačních metod
 - 5.1. Výhody a nevýhody EP a EVLS
 - 5.2. Možnosti aplikací eliminačních metod
6. Závěr

1. Úvod

V rámci široké škály dynamických elektrochemických metod můžeme v zásadě rozlišit dvě třídy metod, a to dle toho, zda je kontrolujícím parametrem potenciál nebo proud. Jednotlivé metody jsou v každé třídě popisovány terminologií skládající se z nezávisle proměnné (excitační signál) sledované závisle proměnnou (měřený signál)^{1,2}. Netradiční, relativně nové elektrochemické metody – eliminační polarografie (Elimination Polarography, EP) a eliminační voltametrie (Elimination Voltammetry with Linear Scan, EVLS) – vycházejí z metod, kde kontrolujícím parametrem je potenciál. Mohou být úspěšně aplikovány jak v oblasti chemické analýzy anorganických i organických depolarizátorů, tak v oblasti studia elektrochemických procesů. O eliminačních metodách, jakož i o jejich teoretických základech vyšlo několik sdělení, převážně však v zahraničních časopisech. Tento příspěvek si

klade za cíl prezentovat obě eliminační metody v českém periodiku, vzájemně je porovnat, poukázat na jejich výhody či nevýhody a na možnosti jejich aplikace.

2. Eliminační metody a jejich podstata

Eliminační metody, teoreticky navržené O. Dračkou^{3–5}, jsou založeny na originálním principu eliminace proudů různého charakteru. Potenciálem kontrolované elektrochemické metody poskytují celkový proud, který lze považovat za sumu jednotlivých dílčích proudů. Požadavek některé proudy vyrušit a jiné zachovat vyvolal jiný přístup k řešení problému, než je pouze eliminace kapacitního proudu, jakou známe např. u pulsních metod. Výsledkem nového přístupu byla skutečnost, že prezentované eliminační metody umožňují eliminovat nejen proudy kapacitní, ale jakékoliv vybrané proudy, a jsou dokonce schopné eliminovat několik vybraných proudů současně.

Podstata obou metod tedy spočívá v tom, že výsledný proud, složený z proudů parciálních, lze za použití specifického postupu, příslušného každé metodě, převést na proudovou eliminační funkci, která požadované dílčí proudy eliminuje, jiné zachovává. Eliminační procedurou společnou oběma metodám je transformace celkového proudu do vhodné lineární kombinace, využívající buď rozdílných závislostí proudů na čase (eliminační polarografie), nebo rozdílných závislostí proudů na rychlosti polarizace (eliminační voltametrie). Eliminace vybraného nebo vybraných proudů umožňuje z polarografických a voltametrických záznamů získat o elektrodovém procesu další zajímavé a užitečné informace. Eliminace, ve kterých se eliminuje kapacitní proud, dovolují snížení detekčního limitu, a tím přispívají k elektroanalytickému stanovení některých studovaných látek.

První monografická zmínka o eliminační polarografii (EP), jako o metodě schopné separovat kapacitní a faradayickou komponentu proudu, je v knize Z. Galuse⁶. Druhá elektrochemická eliminační metoda, EVLS, se zrodila později⁵.

3. Eliminační polarografie (EP)

3.1. Teorie EP

Eliminační polarografie³ využívá pro svou eliminaci dvou skutečností. Jednou je fakt, že celkový polarografický proud je dán součtem dílčích (parciálních) proudů i_p :

$$i = \sum_p i_p \quad (1)$$

Druhou skutečností je rozdílná časová závislost dílčích proudů, kterou lze pro řadu proudů obecně vyjádřit jako:

$$i_p = A_p t^x = \text{konst. } t^x \quad (2)$$

kde A_p je parametr nezávislý na čase a x je konstanta různá pro rozdílné i_p . Pokud se celkový naměřený polarografický proud i skládá ze tří komponent, kapacitního proudu i_c (charging current), difuzního proudu i_d (diffusion current) a kinetického proudu i_k (kinetic current), pak:

$$i = i_c + i_d + i_k \quad (3)$$

Konkrétnější podobu nabývá tento výraz s vyjádřením rozdílné časové závislosti proudů⁷ pomocí exponentu x : např. pro kapacitní proud $-1/3$, difuzní proud $1/6$ a kinetický proud $2/3$.

$$i = A_c t^{-1/3} + A_d t^{1/6} + A_k t^{2/3} \quad (4)$$

Koeficient A_c je úměrný integrální kapacitě elektrody, A_d koncentraci depolarizátoru, zatímco koeficient A_k je závislý na povaze kinetického procesu a na koncentraci depolarizátoru. Žádané eliminace vybrané nebo vybraných komponent polarografického proudu dosáhneme eliminační funkcí $f(i)$, která obsahuje kromě časových derivací a integrálů i celkový okamžitý proud:

$$f(i) = a_i + \sum_m a_m t^m \frac{d^m i}{dt^m} + \sum_n a_n \frac{1}{t^n} \int \dots \int i(dt)^n \quad (5)$$

a pro kterou současně platí:

$$f(i_p) = \beta_{EP} i_p \quad (6)$$

kde β_{EP} je polarografický eliminační koeficient. Volbou koeficientů a_p , a_m a a_n pro danou hodnotu x může být dosaženo $\beta_{EP} = 0$, což pak znamená eliminaci daného proudu.

Dosadíme-li vztahy pro i_c , i_d a i_k do výše uvedených proudových funkcí, je některý z proudů eliminován, jiný zachován, některý může být zkreslen. Pro praktické účely je vhodnější vyčíslit hodnoty eliminační funkce v určitém, stále konstantním čase t , kdy je možné mocniny t v rovnici (5) zahrnout do konstant a eliminační rovnici zjednodušeně napsat ve tvaru:

$$f(i) = ai \pm b \int_0^t i dt \pm c \frac{di}{dt} \pm d \int_0^t \int_0^t i dt^2 \pm \dots \quad (7)$$

kde a , b , c , d jsou experimentálně získané eliminační koeficienty, i je celkový okamžitý proud, t je čas od vzniku kapky rtuti do okamžiku měření.

Současným (simultánním) provedením derivací a integrálů se naskytá možnost získat záznam několika polarogramů s různými složkami polarografického proudu. Příklady různých eliminačních kombinací jsou uvedeny v práci³, aplikované eliminační funkce složené z jednoduchých časových integrálů, dvojnásobných integrálů a derivací jsou popsány v publikacích⁸⁻¹². Simultánní eliminace kapacitního a kinetického proudu umožňuje citlivé stanovení různých látek i v takové oblasti potenciálu, kde dochází k překrytí signálu velkým signálem jiného depolarizátoru, například základního elektrolytu. Eliminační procedura není omezena jen na reverzibilní proudy, lze jí s úspěchem využívat i pro proudy ireverzibilní⁴.

Pokud je závislost proudu na čase vyjádřena jinou časovou funkcí (např. pro difuzní proud⁷ jiný exponent x než $1/6$), pak se tato odlišnost v eliminaci projeví jinou hodnotou empirických koeficientů (a , b , c , d ...).

3.2. Experimentální realizace EP

Teoretické polarografické eliminační funkce různých typů jsou podrobně uvedeny v práci^{3,4}. Pro experimentální verifikaci EP byla zvolena eliminační funkce složená z celkového okamžitého proudu, jeho jednoduchého časového integrálu a první časové derivace:

$$f(i) = ai + b \int_0^t i dt + c \frac{di}{dt} \quad (8)$$

kde a , b , c jsou koeficienty eliminační funkce. Z experimentálního hlediska úspěšná eliminace spočívá v nastavení těchto koeficientů pro vybraný čas t (tast mode). K praktické realizaci EP lze použít zařízení umožňující kvalitní měření i - t křivek a následně určení jejich derivací a integrálů.

Experimentální implementace EP může být dosažena analogovou technikou⁸. Za tímto účelem byl zkonstruován analogový adaptér k polarografu OH-105, který vzorkuje protékající proud a pomocí obvodů s operačními zesilovači analogové určuje jeho derivace a integrály. Výsledná hodnota proudové funkce vytvořené z lineární kombinace proudu, jeho integrálu a derivace je pak na zapisovači polarografu vynesena v závislosti na potenciálu jako eliminační polarogram. Adaptér je vybaven otočnými potenciometry se stupnicí pro nastavení eliminačních koeficientů a časovačem pro řízení klepátka. Experimentální nastavení koeficientů vyžaduje speciální kalibraci na známém elektrochemickém systému. Např. pro eliminaci kapacitního proudu může být experimentální nastavení koeficientů prováděno pomocí nárůstu kapacitního proudu základního elektrolytu v rozsahu potenciálového okna kolem 400 mV. Takto nastavené koeficienty v sobě zahrnují experimentální odchylky od teoretické proudo-časové závislosti, a proto se na experimentální nastavení koeficientů může pohlízet jako na speciální kalibraci daného systému.

Ověřovací série měření byla prováděna v třielektrodeovém zapojení, kde pracovní elektrodou byla rtuťová kapková elektroda, referenční elektrodou byla kalomelová elektroda a pomocnou elektrodou bylo rtuťové dno. Testovacími roztoky byly roztoky Cd(II) a Ni(II) v amoniakálním pufru, přičemž byl eliminován kapacitní proud^{8,9}.

3.3. Eliminace kapacitního proudu

Je známo, že kapacitní proud v polarografii limituje analytické využití metody. Eliminací kapacitního proudu se zabývá mnoho metod a postupů, počínaje lineární kompenzací¹³, měřením okamžitého proudu na konci doby kapky^{14,15}, integrací polarografického proudu¹⁶, až po měření elektrodové kapacity střídavou polarografií s využitím elektronické kompenzace¹⁷ a konče metodami pulsními, které spolu s akumulací elektroaktivního materiálu na povrchu elektrody posunuly analytické využití polarografie až na úroveň optických metod¹⁸⁻²⁰.

EP dovoluje eliminaci kapacitního proudu dvěma způso-

by, a to pomocí časové derivace nebo pomocí časového integrálu. Oba způsoby byly experimentálně ověřeny^{8,9}.

Eliminace kapacitního proudu derivací

Při požadavku eliminace i_c pomocí derivace z rovnice (4) vyplývají vztahy:

$$\frac{di}{dt} = -\frac{1}{3}A_c t^{-\frac{1}{3}-1} + \frac{1}{6}A_d t^{\frac{1}{6}-1} + \frac{2}{3}A_k t^{\frac{2}{3}-1} \quad (9)$$

resp.

$$t \frac{di}{dt} = -\frac{1}{3}i_c + \frac{1}{6}i_d + \frac{2}{3}i_k \quad (10)$$

Sečtením s rovnicí (3) a úpravou získáme konečný vztah pro eliminaci kapacitního proudu derivací:

$$\frac{2}{3} \left(i + 3t \frac{di}{dt} \right) = i_d + 2i_k \quad (11)$$

Eliminace kapacitního proudu integrálem

Při požadavku eliminace i_c pomocí integrálu, z rovnice (4) vyplývají vztahy:

$$\int_0^t idt = \frac{3}{2}A_c t^{2/3} + \frac{6}{7}A_d t^{7/6} + \frac{3}{5}A_k t^{5/3} \quad (12)$$

resp.

$$-\frac{2}{3t} \int_0^t idt = -A_c t^{-1/3} - \frac{4}{7}A_d t^{1/6} - \frac{2}{5}A_k t^{2/3} \quad (13)$$

či

$$-\frac{2}{3t} \int_0^t idt = -i_c - \frac{4}{7}i_d - \frac{2}{5}i_k \quad (14)$$

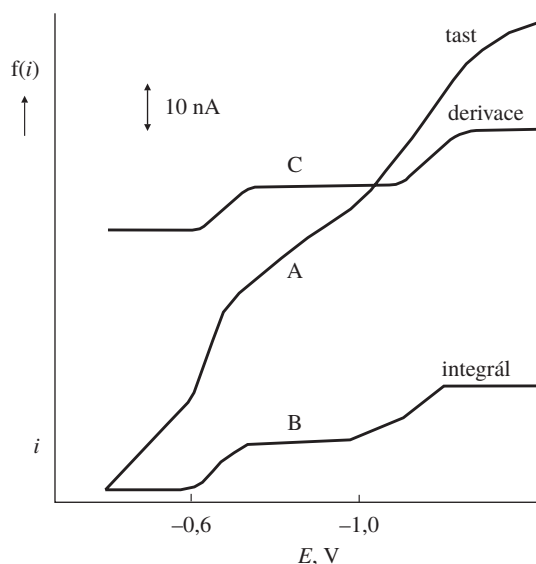
Sečtením s rovnicí (3) a úpravou dostáváme konečný vztah pro eliminaci kapacitního proudu integrálem:

$$\frac{7}{3} \left(i - \frac{2}{3t} \int_0^t idt \right) = i_d + \frac{7}{5}i_k \quad (15)$$

Výsledky eliminací kapacitního proudu podle (11) a (15) byly publikovány⁷ a současně prezentovány na Heyrovského kongresu v roce 1990 v Praze⁹ (obr. 1).

3.4. Implementace EP na Eko-Tribo polarografu

Pomocí analogového zařízení bylo dosaženo vcelku reprodukovatelných výsledků, ale měření bylo časově velmi ná-



Obr. 1. **Eliminační polarografie anorganických depolarizátorů.** Eliminace kapacitního proudu v EP pomocí časového integrálu (B) a časové derivace (C) při redukcí kademnatých a nikelnatých iontů na rtuť. A – tast polarogram Cd(II), Ni(II) v amoniakálním pufru; referenční elektroda – nasycená kalomelová elektroda, pomocná elektroda – rtuťové dno; podrobně viz práce^{8,9}

ročné. Z důvodu delších měřicích časů (až hodiny) mohlo dojít k chybám a opakovaním experimentu se doba měření neúnosně prodlužovala. Tím vyvstal požadavek vytvořit pro EP rychlejší, spolehlivější a přesnější zařízení.

Prvním pokusem získat zařízení pro záznam eliminačních polarogramů na digitální bázi bylo použití AD/DA převodníkové karty Axiom AX 5411. Tato karta byla použita jako potenciostat i jako zařízení pro měření protékajícího proudu. Ukázalo se, že převodníková karta pro funkci potenciostatu nestačí a její proudová citlivost je malá. Navíc na vzorkovaný signál byl často ze sítě superponován signál 50 Hz. Druhým pokusem byla implementace eliminační polarografie na elektrochemickém analyzátoru Eko-Tribo polarografu – ETP firmy Polaro Sensors, Praha¹⁰. ETP pracuje s tzv. tužkovou elektrodou, jejíž klepátko a jehla ovládaná elektromagnetem zaručuje obnovitelnou rtuťovou kapku a doba otevření ventilu určuje velikost této kapky. Pro EP byla tužková elektroda nahrazena polarografickou kapilárou. Nejdůležitější z hlediska využití ETP pro eliminační polarografii byl záznam $i-t$ křivek a jejich export¹⁰. Výsledek aplikace hardwarového i softwarového vybavení EP pro studium redukčního procesu purinového derivátu inosinu (hypoxanthin-9- β -D-ribofuranosid) na rtuť je ukázán v práci¹¹.

3.5. Studium elektrodového procesu pomocí EP

Teorie předpovídala, že eliminačními metodami lze dosáhnout řady výsledků, kterých nelze dosáhnout žádnou jinou elektrochemickou metodou. Prostřednictvím eliminace vybraného dílčího proudu lze lépe studovat elektrodové procesy. Výsledky aplikace EP na elektrodový proces kyseliny fenylglyoxylové ukazuje práce¹², kde byla kromě EP použita klasická (dc) polarografie, střídavá (ac) polarografie a dc polaro-

grafie s derivací podle potenciálu. Elektrodotový proces kyseliny fenylglyoxylové (PGOA) probíhá v rozsahu pH od 4,8 do 12 ve dvou redukčních vlnách, přičemž první vlna odpovídá redukci nedisociované molekuly a má kinetický charakter⁷. Ve druhé vlně se redukuje anion PGOA a její limitní proud má difuzní charakter. Eliminace difuzního proudu při zachování proudu kinetického a kapacitního byla prováděna pomocí derivace a pomocí integrálu. Jestliže je celkový proud opět vyjádřen sumou tří proudů – proudu kapacitního, difuzního a kinetického, pak je možné tyto eliminační funkce odvodit následujícím způsobem:

V případě eliminace difuzní složky proudu pomocí derivace lze vycházet z rovnice (9):

$$6t \frac{di}{dt} = -2i_c + i_d + 4i_k \quad (16)$$

Po odečtení celkového proudu a po úpravě bude platit:

$$2t \frac{di}{dt} - \frac{1}{3}i = i_k - i_c \quad (17)$$

neboli

$$\frac{1}{3} \left(i - 6t \frac{di}{dt} \right) = i_c - i_k \quad (18)$$

V případě eliminace difuzní složky proudu pomocí integrálu lze vycházet z rovnice (12):

$$t \int_0^t i dt = \frac{3}{2}i_c + \frac{6}{7}i_d + \frac{3}{5}i_k \quad (19)$$

Po úpravě a odečtení celkového proudu $i = i_c + i_d + i_k$ bude platit:

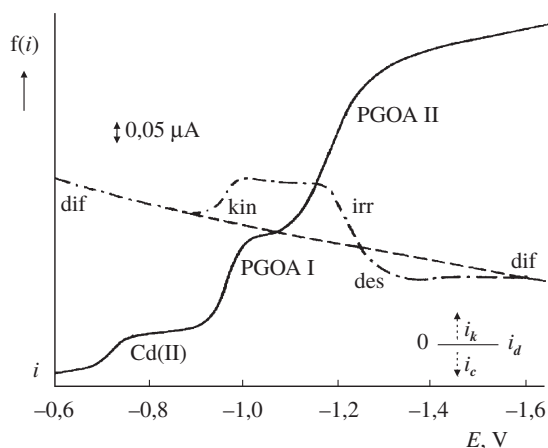
$$\frac{7}{6t} \int_0^t i dt - i = \frac{3}{4}i_c - \frac{4}{10}i_k \quad (20)$$

resp.

$$\frac{4}{3} \left(\frac{7}{6t} \int_0^t i dt - i \right) = i_c - \frac{2}{5}i_k \quad (21)$$

kde t je čas snímání proudu.

Hodnoty koeficientů v těchto vztazích jsou odvozeny teoreticky pro případ „ideální“ proudu-časové závislosti, avšak eliminace je dosaženo i pro experimentálně získanou $i-t$ závislost, která může vzhledem k teoretické funkci obsahovat určité odchylky. Ty se opět projeví ve velikosti eliminačních koeficientů. Eliminací difuzního proudu podle (18) a (21) bylo potvrzeno nejen kinetické řízení redukce nedisociované molekuly PGOA, ale byly odhaleny další důležité skutečnosti. Ty jsou patrné z obr. 2, kde je ukázána eliminace difuzního proudu PGOA pomocí derivace (18): a) kinetický proud, který je



Obr. 2. Eliminativní polarografie kyseliny fenylglyoxylové (PGOA). Tlustá a eliminativní polarografie PGOA v prostředí fosfátového pufru ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, pH 7,59) s eliminací difuzního proudu. Tlustá polarogram, - - - - - eliminativní polarogram pufru, eliminativní polarogram PGOA a Cd(II). Eliminativní polarogram ukazuje eliminaci difuzního proudu kadmia, kde eliminativní funkce splývá s eliminativní křivkou základního elektrolytu (dif); eliminace první redukční vlny PGOA upozorňuje na kineticky řízený elektrodotový proces (kin), zasahující do oblasti druhé redukční vlny, zpětný chod eliminativní funkce potvrzuje ireverzibilní charakter daného procesu (irr), průběh eliminativní funkce pod základní elektrolyt odкрývá desorpční proces PGOA (des); podrobně viz práce¹²

zobrazen nad eliminativní křivkou pufru, zasahuje do oblasti druhé polarografické vlny, b) proudová komponenta s kinetickým charakterem klesá a její pokles začínající již v blízkosti půlvlnového potenciálu druhé vlny indikuje ireverzibilní proces, c) redukční produkt PGOA podléhá desorpci. Eliminativní polarogram tedy odкрývá kinetický charakter první vlny, difuzní charakter druhé vlny a změnu v povrchové vrstvě elektrody při druhém stupni redukce PGOA. Kladná hodnota proudové funkce (zobrazení nad křivkou základního elektrolytu), odpovídající kinetickému proudu, a záporná hodnota proudové funkce (zobrazení pod křivkou základního elektrolytu), odpovídající kapacitnímu proudu, jsou znaménkově ve shodě s rovnicí (17).

Zatímco pro studium elektrodotového procesu kyseliny fenylglyoxylové bylo využíváno analogové techniky, pro studium purinového derivátu inosinu (hypoxanthin-9- β -D-ribofuranosid) bylo použito techniky digitální¹¹. Redukční proces inosinu ve vodném kyselém prostředí (1,4–2,5 pH) na rtuťové elektrodě je měřitelný jen pomocí diferenční pulsní polarografie (DPP) a eliminativní polarografie (EP). Obou metod bylo využito ke sledování elektrodotového děje v blízkosti vylučování vodíku. Zatímco DPP registruje celkový proud, do něhož se promítá jak redukce inosinu, tak i katalytické vylučování vodíku způsobené touto bází, EP svou eliminací nabíjecího a kinetického proudu dovede separovat katalytický proud, a tím odkrýt redukční signál inosinu. Eliminativní polarogram inosinu je ukázán na obr. 3. Pomocí výsledků z EP a z potenciostatické elektrolyzy s detekcí elektrolytického produktu pomocí NMR bylo navrženo redukční schéma inosinu. Díky EP bylo zjištěno, že za katalytickou redukci vodíku je zodpovědný zejména asociát inosinu. Byl navržen mechanismus

rychlého přeskočení vodíkových atomů podél celého řetězce asociovaných (vlivem interakcí navrstvených) molekul inosinu a rekombinace těchto atomů na molekulu vodíku. Podobný proces katalýzy se může předpokládat u celé řady bází, které podléhají tomuto typu asociace (stacking), svým charakterem je podobný fázovému přechodu. K eliminaci nabíjecího a kinetického proudu bylo použito jednoduchého a dvojnásobného integrálu v případě prvního typu eliminace a jednoduchého integrálu a derivace v případě druhého typu eliminace¹¹.

$$f(i) = -ai + b \int_0^t i dt - c \int_0^t \left(\int_0^t i dt \right) dt \quad (22)$$

$$f(i) = ai - b \int_0^t i dt - c \frac{di}{dt} \quad (23)$$

Eliminace odhalila nejen minoritní proces v majoritním procesu vylučování vodíku zvětšeném ještě o katalytický efekt inosinu, ale pomohla též k určení mechanismu zkoumaného elektrodového procesu¹¹.

4. Eliminační voltametrie s lineárním scanem (EVLS)

4.1. Teorie EVLS

Souběžně s eliminační polarografií (EP) se začala rozvíjet i eliminační voltametrie (EVLS). Metoda je nadějnější v tom, že pracuje na jednodušším základě, je rychlejší a lze ji aplikovat i na pevné elektrody. U eliminační voltametrie není nezávisle proměnnou čas, ale rychlost polarizace elektrody. V případě proudu-napětových křivek jak v cyklické voltametii (CV), tak i v „lineární sweep“ voltametii (LSV) čas ztrácí svou nezávislost, protože je spojen s elektrodovým potenciálem E podle rovnice:

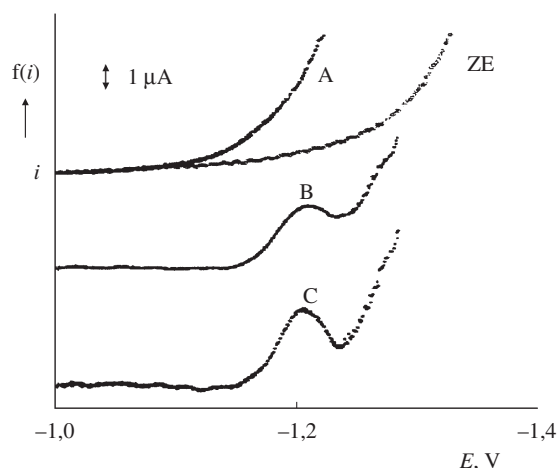
$$E = E_i - vt \quad (24)$$

kde E_i je počáteční potenciál. Tato rovnice může být považována za určitou transformaci nabízející novou proměnnou místo času t , a sice rychlost polarizace v . V EVLS je dosaženo eliminace vybraného dílčího nebo vybraných dílčích proudů z naměřených proudu-napětových křivek získaných v cyklické voltametii nebo v „lineární sweep“ voltametii vytvořením proudové funkce pomocí lineární kombinace celkových proudů měřených při různých rychlostech polarizace.

Teoretickým základem EVLS se podrobně zabývá práce⁵. První podmínkou pro eliminaci je, že eliminovaný proud lze vyjádřit jako součin dvou na sobě nezávislých funkcí – funkce rychlosti polarizace, $W_j(v)$ a funkce potenciálu, $Y_j(E)$:

$$I_j = W_j(v)Y_j(E) \quad (25)$$

Tuto podmínku splňují proudy: difúzní proud pro látku transportovanou k elektrodě pouze lineární difúzí (I_d) s rychlostním koeficientem $x = 1/2$, nabíjecí proud (I_c) s $x = 1$ a kinetický proud (I_k) s $x = 0$, které lze vyjádřit podle (25):



Obr. 3. **Eliminační polarografie inosinu.** Test a eliminační polarografie inosinu ($5 \cdot 10^{-4}$ M) v prostředí fosfátového pufru ($\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 2,00) s eliminací kinetického a kapacitního proudu. A – test polarogram, ZE – test polarogram základního elektrolytu, B – eliminace i_k a i_c pomocí časového integrálu a dvojnásobného časového integrálu, C – eliminace i_k a i_c pomocí časového integrálu a časové derivace; podrobně viz práce¹¹

$$I_d = v^{1/2}Y_d(E) \quad I_c = v^1Y_c(E) \quad I_k = v^0Y_k(E) \quad (26)$$

Druhou podmínkou pro eliminaci je podobně jako v EP vyjádření celkového proudu jako sumy dílčích proudů: $I = I_d + I_c + I_k + \dots$ Jedna vybraná rychlost polarizace je referenční v_{ref} , další rychlosti polarizace jsou vybírány tak, aby byly násobky této referenční polarizační rychlosti (nejčastěji na základě dvou nebo čtyř). Potom referenční proud bude mít tvar předešlé rovnice, zatímco ostatní budou mít tvar ovlivněný poměrem v/v_{ref} :

$$I_{v/v_{ref}} = (v/v_{ref})^{1/2} I_d + (v/v_{ref}) I_c + I_k \dots \quad (27)$$

Eliminační voltametrická funkce vycházející z násobku rychlosti polarizace 2 má lineární kombinaci proudů:

$$f(I) = AI(v_{ref}) + BI(v_{1/2ref}) + CI(v_{2ref}) \quad (28)$$

kde A, B, C jsou koeficienty lineární kombinace v EVLS, $I(v_{ref})$ je označován referenční proud při určité zvolené (referenční) rychlosti polarizace, $I(v_{1/2ref})$ popř. $I(v_{2ref})$ je proud při poloviční, popř. při dvojnásobné hodnotě rychlosti polarizace, než je referenční polarizační rychlost. V eliminační voltametii jsou tedy eliminovány proudy, které lze vyjádřit ve tvaru:

$$I = Y(E) \cdot v^x = \text{konst.} \cdot v^x \quad (29)$$

Stejně jako v EP pro eliminační funkci v EVLS platí:

$$f(I_j) = \beta_{EVLS} I_j \quad (30)$$

kde β_{EVLS} je voltametrický eliminační koeficient. Volbou koeficientů A, B, C v lineární kombinaci může být pro danou hodnotu x dosaženo $\beta_{EVLS} = 0$ což znamená eliminaci daného proudu v EVLS.

Jako ilustrativní příklad je ukázán výpočet eliminační funkce pro současnou eliminaci nabíjecího a kinetického proudu se zachováním proudu difuzního s použitím rychlosti polarizace, $v/4$, v , $4v$ (např. 20, 80 a 320 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$). Pro jednoduchost je vynechán index u v_{ref} , kterým je označován proud referenční. Celkové proudy pro vybrané rychlosti polarizace lze napsat:

$$I_{v/4} = Y_d(E)(1/2)v^{1/2} + Y_c(E)(1/4)v + Y_k(E)v^0 \quad / .a_{v/4}$$

$$I_v = Y_d(E)v^{1/2} + Y_c(E)v + Y_k(E)v^0 \quad / .a_v$$

$$I_{4v} = Y_d(E)2v^{1/2} + Y_c(E)4v + Y_k(E)v^0 \quad / .a_{4v}$$

Pro proudové funkce při stejném potenciálu bude platit:

$$a_{v/4}I_{v/4} = Y_d(E)a_{v/4}(1/2)v^{1/2} + Y_c(E)a_{v/4}(1/4)v + Y_k(E)a_{v/4}$$

$$a_v I_v = Y_d(E)a_v v^{1/2} + Y_c(E)a_v v + Y_k(E)a_v$$

$$a_{4v} I_{4v} = Y_d(E)a_{4v} 2v^{1/2} + Y_c(E)a_{4v} 4v + Y_k(E)a_{4v}$$

požadavek: $\underbrace{\quad}_{= I_d} \quad \underbrace{\quad}_{= 0} \quad \underbrace{\quad}_{= 0}$

Potom konečná trojice rovnic o třech neznámých je:

$$Y_d(E)v^{1/2}[1/2]a_{v/4} + a_v + 2a_{4v}] = Y_d(E)v^{1/2}$$

$$Y_c(E)v[1/4]a_{v/4} + a_v + 4a_{4v}] = 0$$

$$Y_k(E)[a_{v/4} + a_v + a_{4v}] = 0$$

Řešením této soustavy rovnic jsou hodnoty koeficientů $a_{v/4} = -4$, $a_v = 5$ a $a_{4v} = -1$. Výsledný tvar lineární kombinace tedy je:

$$f(I) = -4I_{v/4} + 5I_v - I_{4v} \quad (31)$$

Podobně jsou počítány všechny eliminační funkce, které jsou uvedeny v teoretické práci⁵ a v práci týkající se experimentální verifikace EVLS (cit.²¹).

4.2. Experimentální verifikace EVLS

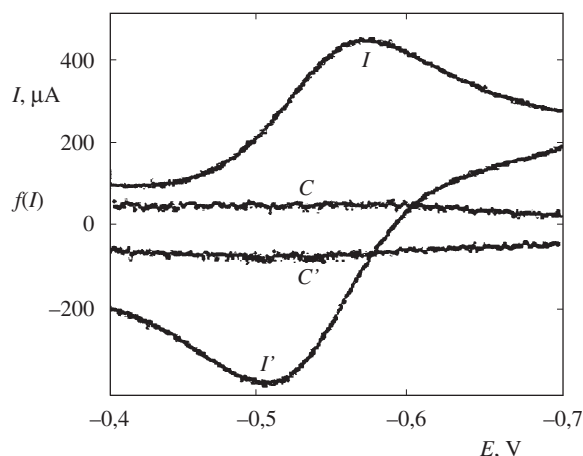
Teoretické výsledky EVLS byly experimentálně verifikovány pro případ reverzibilních, kvazireverzibilních a ireverzibilních procesů probíhajících na rtuťové elektrodě. Bylo testováno celkem šest typů eliminací. Tři typy se týkaly eliminací jednoho ze tří uvažovaných proudů (difuzní, kapacitní a kinetický) a další tři typy eliminací se týkaly současné eliminace dvou vybraných proudů. Simultánní eliminace difuzního a kinetického proudu se zachováním proudu kapacitního podle vztahu:

$$f(I) = 3,4142I_2 + 4,8284I_{1/2} - 8,2426I \quad (32)$$

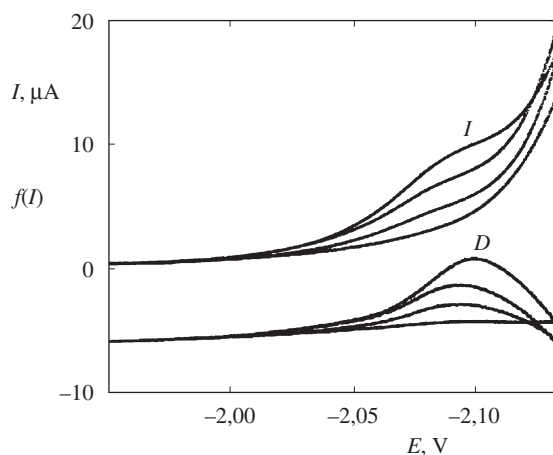
je ilustrována na obr. 4. K eliminaci byla využita kombinace proudů naměřených při dvojnásobné I_2 a poloviční rychlosti polarizace $I_{1/2}$, než je referenční polarizační rychlost I .

4.3. Analytická aplikace EVLS

Výše popsany typ eliminace (32) indikuje ztrátu reverzibility elektrodového procesu a může být použit pro rozlišení



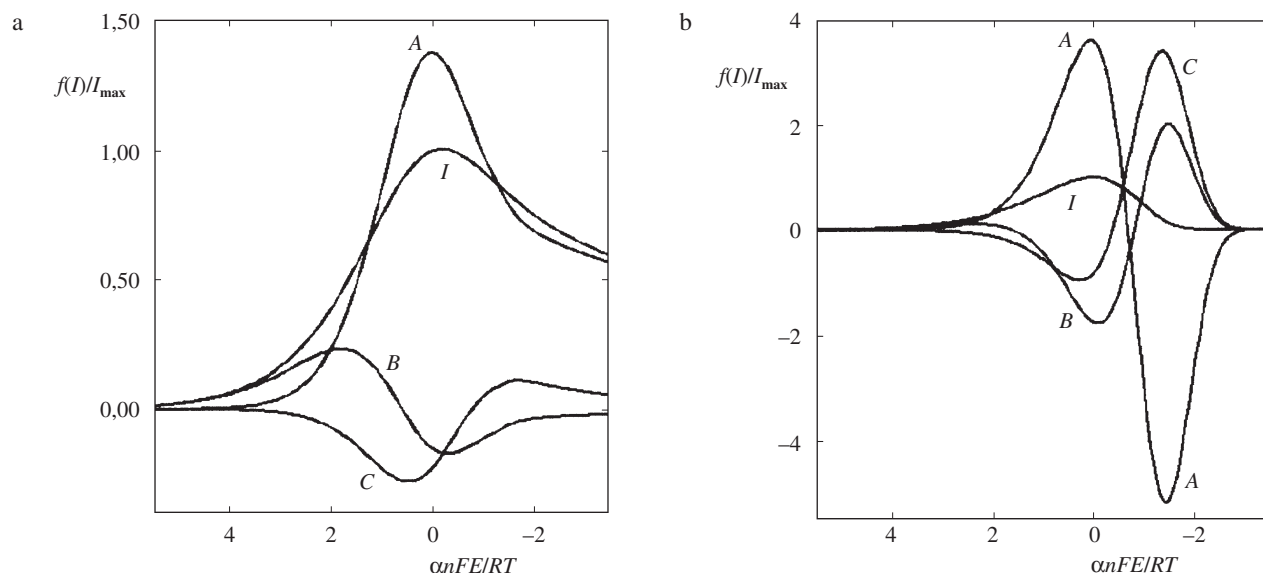
Obr. 4. Experimentální verifikace eliminační voltametrie. Cyklický a eliminační voltamogram Tl ($5 \cdot 10^{-5}$ M) v 0,1 M-KCl s eliminací difuzního proudu; I a I' – referenční proudy thallia snímané při rychlosti polarizace elektrody $80 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$; C a C' – eliminační křivky pro oba dva směry polarizace elektrody; viz práce²¹



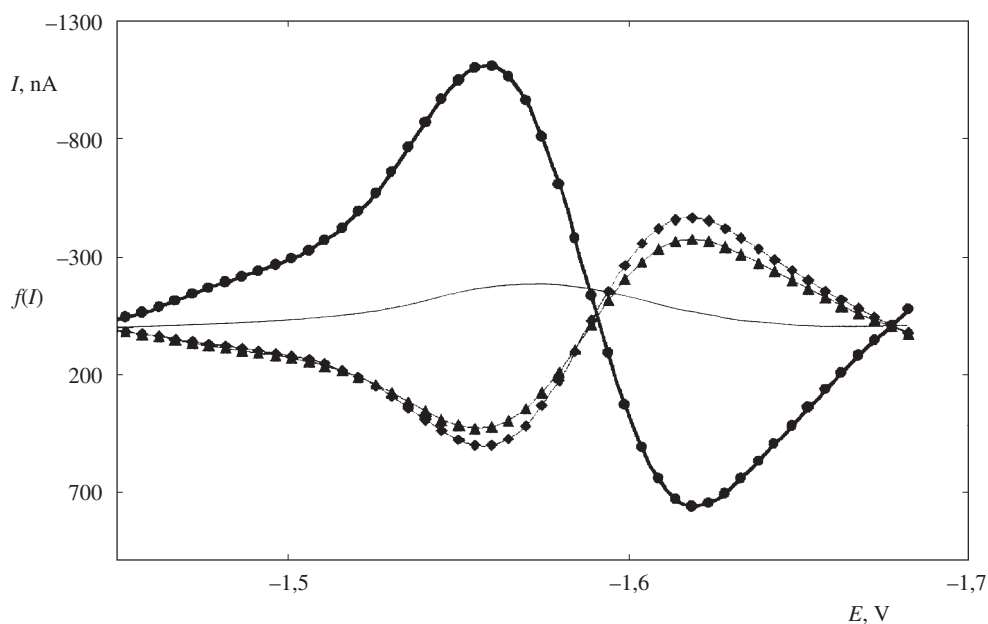
Obr. 5. Analytická aplikace eliminační voltametrie. Katodická větev cyklického voltamogramu Sr (II) o různé koncentraci v nadbytku vápenaté soli jako základního elektrolytu; I – referenční proudy o různé koncentraci Sr (II) ($160 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$), D – odpovídající proudové funkce po eliminaci kinetického proudu, koncentrace stroncia – 0, 0,5, 0,25, 0,125 mM; pro lepší rozlišení jsou jednotlivé eliminační křivky v proudové ose posunuty; podrobně viz práce²¹

i kvantifikaci ireverzibilního elektrodového procesu v přítomnosti procesu reverzibilního¹². Eliminace kapacitního proudu zvyšuje citlivost měření při nízkých koncentracích depolarizátoru²⁴. Všechny typy eliminací, při kterých je eliminován kinetický proud, umožňují zvětšení rozsahu měřených potenciálů (potenciálové okno). Příkladem může být odkrytí procesu redukce stronnatých iontů v přebytku vápenaté soli²¹, jak je ukázáno na obr. 5, neboť katodický ireverzibilní proces vápenatých iontů má v počáteční fázi charakter kinetického proudu⁷.

Analytickému využití EVLS byla věnována pozornost i v případě elektrochemického stanovení hliníku, adeninu a cytosinu, jejichž redukce probíhá v oblasti negativních poten-



Obr. 6. Teoretická transformace ireverzibilních proudonapěťových křivek v EVLS; a – pro elektroaktivní látku transportovanou k planární elektrodě difuzí, b – pro elektroaktivní látku předem naadsorbovanou na elektrodě; *I* – referenční proud, *A* – simultánní eliminace kinetického a kapacitního (nabíjecího) proudu se zachováním proudu difuzního, *B* – simultánní eliminace difuzního a kapacitního (nabíjecího) proudu se zachováním proudu kinetického, *C* – simultánní eliminace kinetického a difuzního proudu se zachováním proudu kapacitního (nabíjecího), hodnoty na ose *y* jsou bezrozměrné a symboly označující osu *x* mají svůj obvyklý význam



Obr. 7. Eliminační voltamogram denaturované DNA (calf thymus). Redukční pík adeninových a cytosinových zbytků v DNA ($100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), prostředí fosfátového pufru, — referenční křivka (akumulační potenciál $-0,1 \text{ V}$, akumulační čas 60 s), ● simultánní eliminace kinetického a kapacitního (nabíjecího) proudu se zachováním proudu difuzního (v obr. 6b – *A*), ◆ simultánní eliminace difuzního a kapacitního (nabíjecího) proudu se zachováním proudu kinetického (v obr. 6b – *B*), ▲ simultánní eliminace kinetického a difuzního proudu se zachováním proudu kapacitního (v obr. 6b – *C*); podrobněji viz práce²²

ciálů, často ovlivněných redukčními procesy základního elektrolytu²⁴. Velkou výhodou EVLS, podobně jako EP, je eliminace konkurenčního redukčního procesu vodíkových iontů (eliminace kinetického proudu) a možnost přímého elektro-

chemického stanovení iontů hliníku na rtuťové elektrodě při velmi negativních potenciálech ($-1,8$ až $-1,9 \text{ V}$). Podobná situace vzniká při studiu elektrodového procesu purinových a pyrimidinových bází²³.

4.4. Aplikace EVLS při studiu elektrodového procesu

Eliminační koeficient β_{EVLS} ve vztahu pro eliminační funkci (30) závisí na rychlostním koeficientu x a na použité eliminační funkci²⁵. Hodnota $\beta_{EVLS} = 0$ odpovídá eliminaci daného vybraného proudu, $\beta_{EVLS} = 1$ odpovídá jeho zachování. Mezi těmito hodnotami nabývá β_{EVLS} různých hodnot a podle jeho závislosti na x je možné v prvním přiblížení testovat charakter daného proudu²⁵. Aplikace různých typů eliminací na stejný studovaný systém může pomoci při řešení sporných otázek, jaký proces na elektrodě v dané oblasti potenciálu probíhá, nebo odkrýt proces, který je svou velikostí minoritní.

4.5. EVLS adsorbovaného depolarizátoru

Poměrně velkého zcitlivění redukčního nebo oxidačního signálu je dosaženo pomocí EVLS v případě adsorbované částice (teoretické křivky jsou na obr. 6, aplikace na obr. 7). Bylo ukázáno, že EVLS může značnou měrou přispět ke zvýšení citlivosti v adsorptivní rozpouštěcí voltametrické²². Pro tři simultánní eliminace dvou proudů:

A – simultánní eliminace kinetického a nabíjecího proudu se zachováním proudu difuzního, což může být vyjádřeno jako $f(I_k) = 0, f(I_c) = 0$ a $f(I_d) = I_d$. Pro tuto eliminaci platí lineární kombinace:

$$f(I) = 17,485I - 11,657I_{1/2} - 5,8584I_2 \quad (33)$$

B – simultánní eliminace difuzního a nabíjecího proudu se zachováním proudu kinetického, což může být vyjádřeno jako $f(I_d) = 0, f(I_c) = 0$ a $f(I_k) = I_k$. Těto eliminace je dosaženo lineární kombinací:

$$f(I) = 2,4142I_2 + 6,8284I_{1/2} - 8,2426I \quad (34)$$

C – simultánní eliminace difuzního a kinetického proudu se zachováním proudu nabíjecího, což může být vyjádřeno jako $f(I_d) = 0, f(I_k) = 0$ a $f(I_c) = I_c$. Těto eliminace je dosaženo lineární kombinací (32), kde $I_{1/2}$ a I_2 je celkový proud odpovídající poloviční a dvojnásobné hodnotě rychlosti polarizace, než je referenční rychlost polarizace použitá pro proud I . Teoretické křivky byly počítány stejným způsobem, jako je uvedeno v práci⁵. Transformace ireverzibilních proudů do lineární kombinace pro elektroaktivní částici předem adsorbovanou na povrchu elektrody byly provedeny pomocí vztahů²:

$$i = nFSk\Gamma_0 \exp\left[-\left(\frac{RT}{\alpha n_a F}\right)\left(\frac{k}{v}\right)\right], \text{ kde } k = k_i \exp\left(-\frac{\alpha n_a FE}{RT}\right) \quad (35)$$

kde i je proud, n je celkový počet přenášených elektronů, S je plocha elektrody, k je heterogenní rychlostní konstanta ireverzibilního procesu, (k_i – počáteční), Γ_0 je počáteční povrchový nadbytek elektroaktivní substance (před začátkem polarizace elektrody), α je koeficient přenosu náboje, n_a je počet elektronů, účastnících se kroku určujícího rychlost, v je rychlost polarizace, F , R a T reprezentují známé symboly. Výpočty byly provedeny pouze za předpokladu, že hodnota Γ_0 je

během polarizace elektrody konstantní, to znamená, že elektroaktivní částice podléhá pouze elektrodové redukci.

Nejprve byly zpracovány eliminační funkce A, B a C pro případ, kdy se elektroaktivní částice k elektrodě dostává pouze difuzí (obr. 6a), a pak pro případ, kdy je tato částice na elektrodě předem adsorbovaná (obr. 6b). Zatímco eliminace A (eliminace kinetického a nabíjecího proudu se zachováním difuzního proudu) pro částici transportovanou difuzí poskytuje mírné zvýšení signálu, tak eliminace A pro adsorbovaný depolarizátor dává eliminační funkci v podobě dobře odečitatelných protilehlých maxim (pík–protipík). Dvě zbývající eliminace (B a C), na rozdíl od případu difuzně transportované částice, mají velmi podobný průběh.

Pro potvrzení teoretických výsledků, jak ukazuje obr. 6b, byla vybrána DNA telecího brzlíku. Po tepelné denaturaci byla DNA z roztoku fosfátového pufru na rtuťové elektrodě adsorbována (akumulační čas 60 sekund, akumulací potenciál $-0,1$ V). Redukční pík, poskytovaný zbytky adeninu a cytosinu, byl měřen při třech různých rychlostech polarizace. Bylo zjištěno, že EVLS signál v eliminaci A je pro adsorbovanou DNA na rtuťové elektrodě jeden a půl krát vyšší než voltametrický signál v modu square wave voltametrie (SWV)²². Navíc odečtení vzdálenosti dvou protilehlých maxim v signálu tvaru pík–protipík je jednoznačnější a nevyžaduje žádnou korekci na zbytkový proud (baseline correction). Eliminace B a C, podobně jak předpovídala teorie, jsou si velmi blízké.

5. Význam eliminačních metod

5.1. Výhody a nevýhody EP a EVLS

Z naměřených polarografických/voltametrických křivek jsou eliminační metody schopny vytvořit různě volené eliminační funkce, které mohou experiment a jeho interpretaci posunout dál než v případě metod, ze kterých vycházejí²⁵. Pochopitelně, jako všechny metody, mají EP a EVLS svoje výhody a nevýhody. Kromě jednoduchosti a časové nenáročnosti pokusu spočívají jejich výhody v možnostech:

- zvětšení rozsahu měřících potenciálů (rozšíření potenciálového okna),
- zvýšení citlivosti (využití v elektroanalýze),
- odkrýt minoritního procesu v procesu majoritním.

Úspěšnou eliminaci přesně odražející teoretické výsledky lze očekávat jen u takových proudů, u kterých nedochází ke vzájemné interakci. Je to sice nevýhoda eliminačních metod, ale na druhé straně, pokud eliminovaný parciální proud přesně neodpovídá teoretické závislosti na čase (u EP) nebo závislosti na rychlosti polarizace (u EVLS), je eliminací zkreslen. V některých případech lze tohoto zkreslení analyticky využít^{22,24}.

Nejednoznačnost jednoho eliminačního experimentu můžeme vyloučit prováděním jednoho typu eliminací za různých experimentálních podmínek a různých typů eliminací za stejných experimentálních podmínek. Tímto způsobem se nám může podařit nahlédnout mnohem hlouběji do procesů, probíhajících na povrchu elektrody²⁵.

Z experimentálního hlediska je jedním ze základních požadavků eliminačních metod výkonný potenciostat a možnost exportu naměřených dat (proudo-časových křivek v EP a proudo-napěťových křivek v EVLS). Počítačová technika umožnila nejen vznik těchto dvou metod, ale celkově uskutečnila

v elektrochemických metodách pokrok, spočívající v rychlejších a preciznějších provedení experimentu s možností volby daleko větší škály proměnných parametrů.

5.2. Možnosti aplikací eliminačních metod

Obecnou tendencí elektrochemického výzkumu je preferovat takové metody, které poskytnou další informaci o daném elektrodovém ději nebo které umožňují rychlé analytické stanovení. Eliminační metody poskytují obojí. Rovněž simultánní eliminaci více proudových komponent není schopna uskutečnit žádná jiná metoda. Eliminace a zachování vybrané proudové komponenty v EP a v EVLS poskytuje řadu důležitých a významných aplikací, které znamenají další rozvoj polarografických a voltametrických metod^{26–29}. Současná eliminace kapacitního a kinetického proudu u obou metod dovozuje určit stopová množství substancí v přítomnosti různých depolarizátorů, jejichž koncentrace je mnohonásobná.

Jedním z nejdůležitých přínosů eliminačních metod je možnost objasnění některých dosud sporných problémů týkajících se elektrochemických procesů látek, jejichž redukce probíhá při velmi negativních potenciálech, často skrytá v procesu redukce základního elektrolytu. Experimentální práce potvrdily, že eliminační metody jsou schopny s eliminací kinetického proudu rozšířit měřené potenciálové okno^{11,21,23,24,26}, což pulsní metody nedokázaly. Protože purinové a pyrimidinové deriváty se redukují při poměrně negativních potenciálech a jejich proces je maskován proudem redukce základního elektrolytu, nabízí se zde myšlenka tento majoritní proud ZE eliminovat, a tím odhalit minoritní proces báze²³.

Eliminace kinetického proudu umožňuje stanovení substance, která poskytuje ireverzibilní polarografickou vlnu v nadbytku depolarizátoru, který dává reverzibilní signál při téže potenciálu, což by se dalo využít při studiu interakcí elektrochemicky aktivních organických látek s kovy.

Výsledek eliminace kinetického a kapacitního proudu se zachováním proudu difuzního pro adsorbovanou částici v EVLS může mít obecně velký význam v analýze adsorbované částice. Takovou silně adsorbovanou částicí je DNA (cit.²²). Podobně při velmi negativních hodnotách potenciálu eliminace A (33) odhaluje na rtuti redukční signál hliníku ve tvaru protilehlých maxim, a proto se dá předpokládat, že redukční proces hliníku probíhá v adsorbovaném stavu^{24,29}.

Prezentované eliminační metody byly aplikovány především na rtuťových elektrodách, které mají svoje obrovské přednosti, jako je lehce obnovitelný povrch s možností rychlé změny jeho velikosti a velké přepětí vodíku. Zatímco EP je omezena na rtuťovou kapkovou elektrodu, EVLS lze rozšířit i na pevné elektrody s možností celé řady netradičních aplikací³⁰.

6. Závěr

Eliminační polarografie (Elimination Polarography – EP) a eliminační voltametrie s lineárně se měnícím napětím (Elimination Voltammetry with Linear Scan – EVLS) jsou nekonvenční, relativně nové elektrochemické metody, které jsou schopny některé dílčí proudy eliminovat, jiné zachovávat. Jsou založeny na novém teoretickém principu, pomocí něhož

lze dosáhnout takových výsledků, které nelze získat žádnou jinou existující elektrochemickou metodou. Oběma metodám je společná myšlenka: *a*) existence sumy parciálních (dílkých) proudů, z nichž se celkový proud skládá a *b*) vytvoření eliminačních funkcí pomocí lineární kombinace určitých členů. Rozdíl je však v tom, že eliminační funkce v EP využívá rozdílné závislosti parciálního proudu na čase a eliminační funkce v EVLS využívá rozdílné závislosti parciálního proudu na rychlosti polarizace.

Žádná metoda není univerzální, ale časem se ukáže těžiště výhod eliminačních metod, kterým pak bude přisouzeno místo mezi metodami klasickými³⁰. Již dnes je zřejmé, že EP a EVLS přispívají k analytickému stanovení elektroaktivních látek i k interpretaci jejich komplexního elektrodového procesu, probíhajícího na fázovém rozhraní elektroda/roztok.

Seznam symbolů

<i>a, b, c</i> , resp.	koeficienty lineární kombinace v EP, resp. v EVLS
<i>A, B, C</i>	
DNA	deoxyribonukleová kyselina (Deoxyribonucleic Acid)
DPP	diferenční pulsní polarografie (Differential Pulse Polarography)
E_i	počáteční potenciál
EP	eliminační polarografie (Elimination Polarography)
ETP	Eko-Tribo polarograf
EVLS	eliminační voltametrie (Elimination Voltammetry with Linear Scan)
$f(i)$, resp. $f(I)$	eliminační funkce v EP, resp. v EVLS
i_c, I_c	kapacitní proud
i_d, I_d	difuzní proud
i_k, I_k	kinetický proud
k	heterogenní rychlostní konstanta
n	celkový počet přenášených elektronů
n_a	počet elektronů, účastnících se kroku určujícího rychlost
PGOA	kyselina fenylglyoxylová (phenylglyoxylic acid)
S	plocha elektrody
SWV	voltametrie s pravouhlým střídavým napětím
α	koeficient přenosu náboje
β_{EP}	polarografický eliminační koeficient (EP)
β_{EVLS}	voltametrický eliminační koeficient (EVLS)
Γ_0	počáteční povrchový nadbytek
ν	rychlost polarizace elektrody (scan rate)

V letech 1994–1996 byl výzkum elektrochemických eliminačních metod a jejich aplikací podporován grantem GA ČR 203/94/0520 a v současné době je podporován komplexním grantem GA ČR 204/97/K084. Proto poděkování bezesporu patří Grantové agentuře ČR. Samozřejmě velký dík je adresován i prof. Oldřichu Dračkovi, DrSc., bez kterého by tato práce nevznikla.

LITERATURA

1. Kissinger P. T., v knize: *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry* (Kissinger P. T., Heineman W. R., ed.), 2. vyd. Marcel Dekker, New York 1996.

2. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods*, 2. vyd. Wiley, New York 1980.
3. Dračka O.: Collect. Czech. Chem. Commun. *51*, 288 (1986).
4. Dračka O.: J. Electroanal. Chem. *296*, 405 (1990).
5. Dračka O.: J. Electroanal. Chem. *402*, 19 (1996).
6. Galus Z.: *Fundamentals of Electrochemical Analysis*, str.127. Ellis Horwood, New York a Polish Sci. Publ. PWN, Warsaw 1994.
7. Heyrovský J., Kůta J.: *Základy polarografie*. ČSAV, Praha 1962.
8. Kořenek K., Trnková L., Dračka O.: Chem. Pap. *44*, 527 (1990).
9. Dračka O., Trnková L.: *J. Heyrovsky Centennial Congress on Polarography, 41st Meeting of International Society of Electrochemistry, Prague 1990*, Tu-34.
10. Havran L.: Chem. Listy *91*, 122 (1997).
11. Havran L., Trnková L., Dračka O.: J. Electroanal. Chem. *454*, 65 (1998).
12. Trnková L., Dračka O.: J. Electroanal. Chem. *348*, 265 (1993).
13. Ilkovič D., Semerano G.: Collect. Czech. Chem. Commun. *4*, 176 (1932).
14. Wåhlin E., Bresle A.: Acta Chem. Scand. *10*, 935 (1956).
15. Kronenberger K., Strehlow H., Ebel A. W.: Polarogr. Ber. *5*, 62 (1957).
16. Kalvoda R.: Chem. Listy *71*, 530 (1977).
17. Poojary R., Rajagopalan S. R.: J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem. *62*, 51 (1975).
18. Smith D. E.: Anal. Chem. *35*, 1811 (1963).
19. Barker G. C., Jenkins J. L.: Analyst (London) *77*, 685 (1952).
20. Barker G. C., Gardner A. W.: Fresenius' J. Anal. Chem. *173*, 79 (1960).
21. Trnková L., Dračka O.: J. Electroanal. Chem. *413*, 123 (1996).
22. Trnková L., Kizek R., Dračka O.: Electroanalysis, *12*, 905 (2000).
23. Trnková L.: Clin. Biochem. Metab. *3*, 182 (1998).
24. Trnková L., Friml J., Vévodová J., Dračka O.: *Deauville Conference 98, Valencia, 22–24 June 1998, 6th Symposium on Analytical Science, Valencia 1998*, C 215.
25. Trnková L., Dračka O.: J. Electroanal. Chem., v tisku.
26. Trnková L., Friml J., Dračka O.: *Modern Electroanalytical Methods, An International Conference to Mark the 40th Anniversary of the Award of the Nobel Prize to Professor Jaroslav Heyrovský, 19.–23. September 1999, Seč*. Book of Abstracts, PO/40.
27. Trnková L., Kosour D.: *Biochemie a molekulární biologie na prahu nového tisíciletí, IV. Pracovní setkání biochemiků a molekulárních biologů, Brno, 3. února 1999*. Sborník příspěvků, str. 31.
28. Trnková L.: *Fyzikální chemie a elektrochemie na konci druhého tisíciletí, II. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků, Brno, 10. února 2000*. Sborník příspěvků, str. 21 a 38.
29. Trnková L., Kizek R., Dračka O.: *Electroanalysis, ESEAC 2000 SEAC, Bonn, 11.–15. July 2000*. Abstracts (Emons H., Ostapczuk P., ed.), D 27.
30. Kalvoda R.: Chem. Listy *94*, 2 (2000).

L. Trnková (Department of Theoretical and Physical Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno):
Electrochemical Elimination Methods

The article reviews two non-conventional electrochemical methods – elimination polarography (EP) and elimination voltammetry with linear scan (EVLS). The two methods enable elimination of selected particular currents, contributing to the measured total current. The most frequently eliminated particular currents are the charging current (I_c), the diffusion current (I_d), and the kinetic current (I_k). In EP, eliminated currents are expressed as $I = \text{const. } t^x$, and elimination is achieved by a function obtained by linear combination of the direct current and its time derivative and/or time integral. In EVLS, eliminated currents are expressed as $I = \text{const. } v^x$, and elimination is achieved by a function obtained by linear combination of total currents measured at different scan rates v . The theory of EP and EVLS has been verified experimentally. In comparison with d.c. polarography and linear sweep voltammetry, both elimination methods have the following advantages: (a) an expanded available electrode potential range, (b) increased current sensitivity and (c) improved signal resolution. In EVLS, (b) and (c) result from the fact that the elimination of I_c and I_k currents decreases the irreversible current width and increases the peak height. This effect is particularly pronounced in the case of an adsorbed substance. Application of EP and EVLS enables detection of minor electrode processes overlapped by a major one, such as desorption process during reduction, or the formation of associates which influence the process of hydrogen evolution. In addition, both methods improve the sensitivity of determination of electroactive substances, and may contribute to solving problems associated with complex electrode processes.

DÁVKOVANIE VEĽKÝCH OBJEMOV V KAPILÁRNEJ PLYNOVEJ CHROMATOGRAFII

EVA KORENKOVÁ^a, EVA MATISOVÁ^b
a JAROSLAV SLOBODNÍK^a

^aEnvironmental Institute, Okružná 784/42, 972 41 Koš, ^bKatedra analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

Došlo dňa 23.I.2001

Kľúčové slová: kapilárna plynová chromatografia, eliminácia pár solventu, dávkovanie veľkých objemov, dávkovanie do kolóny, dávkovanie cez slučku, kombinácia LC-GC

Obsah

1. Úvod
2. Spôsoby eliminácie pár solventu
3. Techniky dávkovania veľkých objemov
 - 3.1. Dávkovanie cez „on-column“ injektor
 - 3.2. Dávkovanie cez slučku
 - 3.3. Dávkovanie do odparovacej komôrky
4. Záver

1. Úvod

Príprava vzorky je vo väčšine prípadov časovo najnáročnejší krok analýzy. Na konci komplikovanej procedúry zvyčajne dávkujeme do plynového chromatografu 1–2 µl extraktu, čo znamená veľkú stratu citlivosti a neekonomické využitie vzorky. Zriedené extrakty sa musia často zakoncentrovať, aby sa dosiahli požadované medze detekcie. Tento proces je náročný nielen na čas a manuálnu prácu, ale nesie so sebou nebezpečenstvo straty prchavých látok, alebo kontaminácie vzorky. Dávkovaním veľkého objemu sa dá zakoncentrovanie vzorky nahradiť, čím sa zjednoduší celková procedúra prípravy vzorky. V prípade, že sa vzorka zakoncentruje, umožňuje dávkovanie veľkého objemu znížiť medzu detekcie daného analytu. Dávkovanie veľkých objemov predstavuje významný krok vpred v stopovej analýze. Cieľom tohto článku je uviesť základné techniky dávkovania veľkých objemov v kapilárnej plynovej chromatografii, vysvetlí ich princíp a uviesť niektoré aplikácie.

V podstate existujú tri spôsoby, akými možno dávkovať veľké objemy vzorky v kapilárnej GC:

1. dávkovanie priamo do kolóny (on-column injection/interface),
2. dávkovanie cez slučku (loop-type injection/interface),
3. dávkovanie do odparovacej komôrky (vaporizing chamber).

Na čistenie vzorky, predseparáciu analytov, alebo ich obohatenie sa často používa kvapalinová chromatografia. Jej spo-

jenie s plynovou chromatografiou, ktorá poskytuje vysokú separačnú účinnosť a selektívnu a citlivú detekciu, je preto zvlášť výhodné a žiaduce. Uvedené techniky dávkovania veľkých objemov sa používajú aj ako medzičlánok pre on-line kombináciu LC-GC.

Ideálny injektor pre dávkovanie veľkých objemov by mal spĺňať tieto kritériá:

- schopnosť odstrániť prevažnú časť solventu s minimálnymi stratami analytov,
- schopnosť znovu sfokusovať počiatočnú zónu, aby sa dosiahli úzke píky v GC chromatograme,
- v prípade kombinácie LC-GC, medzičlánok by mal reprodukovaťne a úplne prenášať danú LC frakciu.

V tabuľke I sú zhrnuté a vysvetlené termíny bežne používané v súvislosti s dávkovaním veľkých objemov v kapilárnej GC.

2. Spôsoby eliminácie pár solventu

Prvým predpokladom pre úspešnú chromatografickú separáciu analytov pri dávkovaní veľkých objemov, či už do „on-column“ injektora, alebo do odparovacej komôrky, je odstránenie nadmerného množstva solventu. Veľký objem pár pozostávajúci prevažne zo solventu je možné odstrániť ich zmiešaním s nosným plynom a následným vypustením cez ventil (gas discharge) alebo samoexpanziou nezriedených pár cez ventil (vapour overflow)¹.

„Gas discharge“

V tomto prípade sa solvent odparuje v prúde nosného plynu pri teplote pod teplotou varu solventu. Rýchlosť odparovania je určená množstvom pary, ktorá nasýti nosný plyn pri danej teplote. Týmto spôsobom sa odstraňuje solvent napríklad pri dávkovaní do injektora s deliacim ventilom a programovateľnou teplotou (PTV injektor). Ak je teplota termostatu nižšia ako je rosný bod zmesi nosný plyn/pary solventu, nosný plyn je presýtený parami solventu a v predkolóne dochádza k rekondenzácii. Eliminácia pár solventu v prúde nosného plynu umožňuje čiastočné odparovanie (v odparovacej komôrke), alebo čiastočnú rekondenzáciu (v predkolóne, resp. v zadrživacej predkolóne) solventu. Podiel odparovania/rekondenzácie solventu sa dá optimalizovať nastavením prietoku nosného plynu, alebo teploty termostatu. Väčším zriedením pár nosným plynom (tj. zvýšením prietoku nosného plynu) sa zníži rosný bod, takže sa môže znížiť teplota pre odparovanie, alebo rekondenzáciu v predkolóne. Nižšia teplota v predkolóne vedie k vyššej retencii látok v stacionárnej fáze. Čiastočné odparovanie, alebo rekondenzácia solventu umožňujú využiť solvent efekt na zachytenie prchavých látok.

„Vapour overflow“

Počas odstraňovania pár solventu týmto spôsobom je prívod nosného plynu vypnutý. Pary opúšťajú systém v dôsledku

Tabuľka I

Terminológia spojená s dávkovaním veľkých objemov v GC

Predkolóna (retention gap)	Deaktivovaná kapilára z taveného kremeňa bez stacionárnej fázy, ktorá sa používa na rekoncentráciu zón rozšírených difúziou v priestore.
Zmäčateľnosť (wettability)	Schopnosť solventu vytvoriť súvislý film na vnútorných stenách predkolóny.
Zaplavená zóna (flooded zone)	Dĺžka kapiláry pokrytá vrstvou kvapalnej vzorky. Zvyčajne sa vyjadruje ako dĺžka kapiláry, ktorú zaplaví jednotkový objem vzorky ($\text{cm} \cdot \mu\text{l}^{-1}$).
Úplné súčasné odparovanie solventu (fully concurrent solvent evaporation, FCSE)	Úplné odparenie solventu počas jeho dávkovania do GC, tj. rýchlosť dávkovania sa rovná rýchlosti odparovania.
Čiastočné súčasné odparovanie solventu (partially concurrent solvent evaporation, PCSE)	Podmienky dávkovania do GC, pri ktorých sa väčšina solventu odparuje už počas dávkovania, tj. rýchlosť dávkovania je vyššia ako rýchlosť odparovania. Neodparený zvyšok zaplavuje predkolónu a zachytáva prchavé analyty účinkom „solvent“ efektu.
„Solvent“ efekt	Rekoncentrácia prchavých látok rozpustením v kvapalnom filme, pri odparovaní solventu smerom od konca zaplavenej zóny k jej čelu.
Fokusačný účinok zmáčania stacionárnej fázy (phase soaking focusing effect)	Rekoncentrácia analytov v dôsledku zvýšenej retencie na stacionárnej fáze zmáčanej solventom (zmáčanie spôsobuje nárast hrúbky stacionárnej fázy, a teda zvýšenú retenciu).
Fokusačný účinok pomerom stacionárnych fáz (phase-ratio focusing effect)	Rekoncentrácia menej prchavých látok v dôsledku spomalenia ich migrácie pri prechode z predkolóny s nízkou retenciou do separačnej kolóny s vysokou retenciou.
Ventil pre skorú elimináciu pár solventu (early solvent vapour exit, SVE)	Kus kapiláry s veľkým vnútorným priemerom medzi predkolónou a separačnou kolónou, ktorým sa eliminujú prebytočné pary solventu.
Ko-solvent (cosolvent)	Solvent s vyššou teplotou varu, ako má hlavný solvent, ktorý sa v malých množstvách pridáva k hlavnému solventu na zníženie strát prchavých látok. Používa sa napr. pri dávkovaní veľkých objemov za podmienok úplného súčasného odparovania rozpúšťadla.
Zadržiavacia predkolóna (retaining precolumn)	Krátka kapilára so stacionárnou fázou (zvyčajne tou istou, akú má separačná kolóna), ktorá sa vsúva medzi predkolónu a separačnú kolónu, aby sa zabránilo stratám prchavých látok cez ventil pre skorú elimináciu pár solventu.
Odparovacia komôrka s programovateľnou teplotou (programmable temperature vaporizer, PTV)	Injektor pre dávkovanie do studeného lineru s následným rýchlym zahriatím a prenosom analytov do predkolóny/kolóny.

Tabuľka II

Porovnanie eliminácie pár solventu v prúde nosného plynu a bez prietoku nosného plynu

Eliminácia pár solventu v prúde nosného plynu (gas discharge)

- + nižšia teplota počas odparovania v odparovacej komôrke aj v predkolóne => silnejšia retencia prchavých látok
- + čiastočné odparovanie/rekondenzácia solventu je možné a regulovateľné
- + zachytenie prchavých látok účinkom „solvent“ efektu
- komplikovanejší dizajn a fungovanie

Eliminácia pár solventu samoexpanziou bez prietoku nosného plynu (vapour overflow)

- + ľahká optimalizácia (len jeden parameter – teplota)
- + prietok pár samoregulovateľný (kolapsuje na konci odparovacieho procesu)
- + pokles tlaku cez náplň vo vyparovacej komôrke nie je kritický
- potrebná pomerne vysoká teplota termostatu, aby sa zabránilo rekondenzácii
- možné jedine úplné odparenie rozpúšťadla počas dávkovania (neexistuje čiastočné odparovanie rozpúšťadla)
- zachytenie prchavých látok účinkom „solvent“ efektu je možné len s pridaním ko-solventu

+ pozitívum, – negatívum

ich samoexpanzie počas vyparovania. Pri eliminácii nezriedených pár solventu musí byť teplota injektora počas odparovania minimálne na úrovni teploty varu solventu. Aby sa zabránilo rekondenzácii pár na vstupe do predkolóny/kolóny,

teplota termostatu musí byť tiež vyššia, ako je teplota varu solventu (korigovaná na daný tlak). V opačnom prípade dochádza k úplnej rekondenzácii a predkolóna musí mať schopnosť zadržať celý objem rekondenzovanej kvapaliny, inak do-

Tabuľka III

Rôzne techniky dávkovania vzoriek v kapilárnej GC s elimináciou pár solventu v prúde nosného plynu, alebo samoexpanziou nezriedených pár

Eliminácia pár v prúde nosného plynu	Eliminácia nezriedených pár samoexpanziou
Dávkovanie s deličom	dávkovanie bez delenia s pretekaním pár solventu (Splitless overflow)
Dávkovanie bez delenia	
„On-column“ dávkovanie	dávkovanie cez slučku (v kombinácii LC-GC)
PTV s ventilom na elimináciu pár solventu	PTV bez delenia s pretekaním pár solventu (PTV splitless overflow)
Dávkovanie do systému odparovania	
komôrka-predkolóna-ventil pre elimináciu pár	

Techniky dávkovania veľkých objemov sú hrubo vytlačené

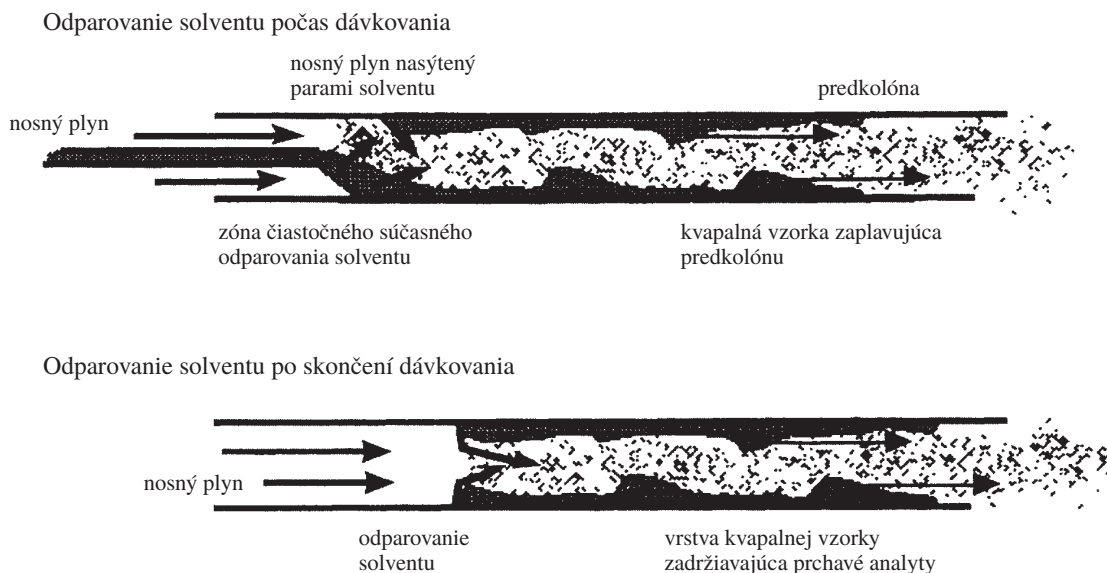
chádza k zaplaveniu separačnej kolóny. Čiastočnú rekondenzáciu pár solventu je možné dosiahnuť len zmiešaním hlavného solventu s vyššie vrúcim ko-solventom. Odstraňovanie pár solventu samoexpanziou je jednoduchšie ako eliminácia pár v prúde nosného plynu. Jedinou premennou veličinou je teplota, ktorá sa dá ľahko odhadnúť z teploty varu korigovanej na daný tlak. Čas zatvorenia ventilu pre skorú elimináciu pár (SVE) nie je kritický, pretože tok pár prestáva na konci odparovacieho procesu. Nevýhodou tohto spôsobu eliminácie pár solventu sú možné straty prchavých látok v prípade, že predkolóna nie je schopná zadržať celé množstvo rekondenzovanej kvapaliny. Ďalej, teplota termostatu musí byť vyššia ako pri eliminácii pár v prúde plynu, čo znižuje retenciu látok na stacionárnej fáze (menší stupeň zakoncentrovania prchavých látok).

Porovnanie „gas discharge“ a „vapour overflow“ techník eliminácie pár solventu je uvedené v tabuľke II. Rôzne techniky dávkovania vzorky v kapilárnej GC a typický spôsob, akým sa eliminujú pary solventu, sú uvedené v tabuľke III.

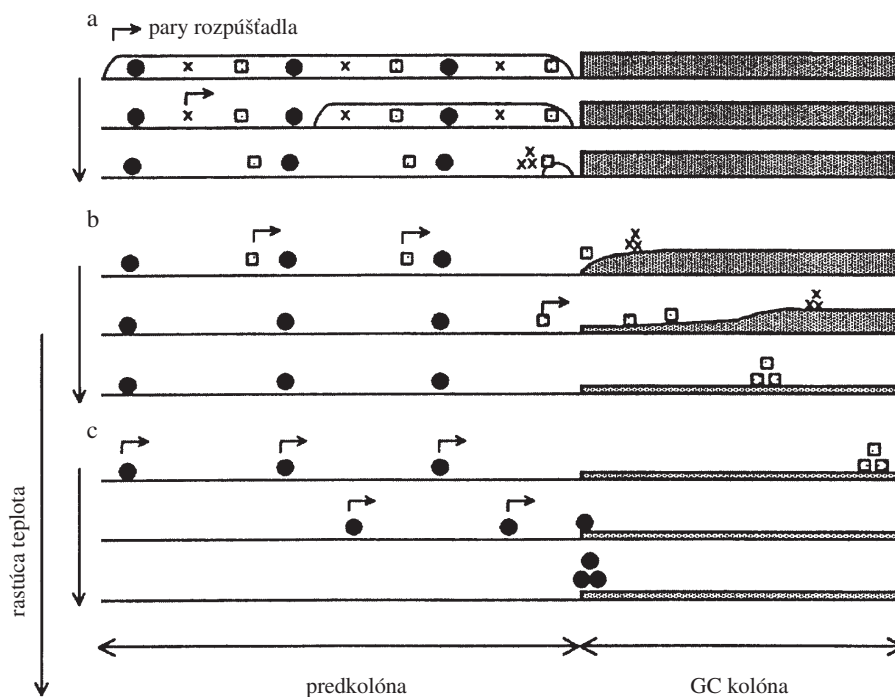
3. Techniky dávkovania veľkých objemov

3.1. Dávkovanie cez „on-column“ injektor

Prelom v dávkovaní veľkých objemov vzoriek v GC a v on-line spojení LC-GC nastal s vývinom „on-column“ injektora v kombinácii s veľmi dlhou (až do 50 m) deaktivovanou sklenenou kapilárou, alebo kapilárou z taveného kremeňa bez stacionárnej fázy. Všetky variácie techniky dávkovania veľkých objemov cez „on-column“ injektor sú založené na dávkovaní vzorky pri teplote nižšej, ako je teplota varu solventu korigovaná na daný tlak. Teda vzorka sa nachádza v predkolóne vo forme kvapaliny. Účinkom nosného plynu sa kvapalina zanáša hlbšie do kapiláry. Ak solvent zmáča predkolónu, vytvorí sa súvislá tenká vrstva kvapaliny na vnútorných stenách predkolóny, tzv. zaplavená zóna (flooded zone)² (obr. 1). Nosný plyn prichádzajúci do styku so zaplavenou zónou sa nasycuje parami solventu. Solvent sa postupne odparuje vý-



Obr. 1. Proces vytvárania zaplavenej zóny a odparovania solventu v predkolóne počas a po skončení dávkovania

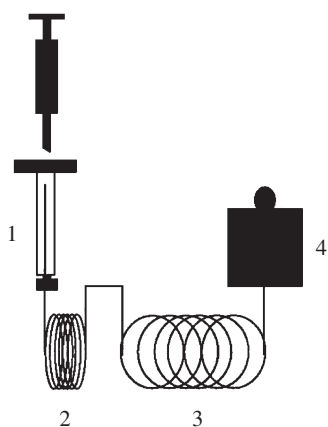


Obr. 2. **Rekoncentrácia prchavých a neprchavých zložiek vzorky účinkom** a) solventu, b) zmáčania stacionárnej fázy v analytickej kolóne a c) rozdielu v pomere stacionárnych fáz analytickej kolóny a predkolóny. Obrázok 2a predstavuje situáciu hneď po ukončení nástreku vzorky do predkolóny; x prchavé látky, □ menej prchavé látky, ● neprchavé látky. Meniaci sa hrúbka sivo vyšráfovanej stacionárnej fázy znázorňuje proces jej zmáčania solventom, ktorý sa odparuje z ľava do prava

lučne smerom od injektora k detektoru a analyty sa zakonzentrujú účinkom solventu (solvent effect), zmáčania stacionárnej fázy v analytickej kolóne solventom (phase soaking effect) a v dôsledku rozdielu medzi pomerom stacionárnej fázy v analytickej kolóne a v predkolóne (phase-ratio focusing effect)³. Tieto efekty, ktoré vedú k zakonzentrovaniu analytov a k vytvoreniu úzkej počiatočnej zóny, sú znázornené na obr. 2. Relatívne prchavé analyty migrujú spolu so solventom, ktorý sa odparuje smerom k analytickej kolóne. Vzápätí sa však opäť rozpúšťajú v tenkej vrstve ešte neodpareného solventu nachádzajúcej sa vpredu, ktorá funguje ako dočasná stacionárna fáza (temporary stationary phase). Týmto spôsobom sa prchavé látky koncentrujú na čele solventu a uvoľňujú sa ako úzka zóna v momente, keď sa odparia posledné zvyšky solventu (solvent effect, obr. 2a). Ak má odparujúci sa solvent schopnosť zmáčať stacionárnu fázu v analytickej kolóne, zakonzentrujú sa aj menej prchavé analyty (phase soaking effect, obr. 2b). Zmáčaním stacionárnej fázy sa zväčšuje jej hrúbka a následne sa zvyšuje retencia analytov. Menej prchavé zlúčeniny zostávajú aj po odparení solventu rozptýlené po celej dĺžke pôvodne zaplavenej zóny a začínajú migrovať až so zvyšujúcou sa teplotou. Rozdiel v rýchlosti migrácie analytov v analytickej kolóne so stacionárnou fázou a v predkolóne bez stacionárnej fázy vedie k ich zakonzentrovaniu. Migrácia analytov v analytickej kolóne sa výrazne spomalí v porovnaní s rýchlosťou migrácie pozdĺž predkolóny, v ktorej sa analyty pohybujú rýchlosťou nosného plynu. Teda zakonzentrovanie menej prchavých zlúčenín je dôsledkom rozdielu medzi pomerom stacionárnej fázy v analytickej kolóne a v predkolóne (phase-ratio focusing effect, obr. 2c).

Klasická „on-column“ technika

Schéma klasickej „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov je znázornená na obr. 3. Medzi „on-column“ injektorom a analytickou kolónou sa nachádza predkolóna rôznej dĺžky v závislosti od dávkovaného objemu. 1 μl solventu s dobrými zmáčacími vlastnosťami, teda schopný vytvárať súvislú vrstvu kvapaliny na stenách predkolóny, vytvorí v kapiláre s vnútorným priemerom 0,53 alebo 0,32 mm kvapalnú film s dĺžkou približne 10 cm a 15 cm. Inými slovami, 15 m \times 0,32 mm i.d. kolóna bez stacionárnej fázy má schopnosť zadržať 80–100 μl zmáčacej kvapaliny⁴. V prípade kolóny s vnútorným priemerom 0,53 mm, stačí na zadržanie rovnakého objemu len 10 m, vzhľadom na jej väčší vnútorný priemer. Predkolóna je s analytickou kolónou zvyčajne spojená pomocou deaktivovanej sklenej spojky (press-fit). Ako je vyššie uvedené, odparovanie solventu sa začína pri injektore a pokračuje smerom k detektoru, pričom dochádza k zakonzentrovaniu analytov. Nevýhodou klasickej „on-column“ techniky je odparovanie celého objemu solventu cez analytickú kolónu a detektor. To vedie k rýchlejšej aktivácii analytickej kolóny, v prípade, že solvent obsahuje stopy vody, a spôsobuje problémy s detektorom (zhášanie plameňa v FID alebo tvorba fosgenu pri použití chlórovaných rozpúšťadiel). Zároveň je odparovanie solventu cez analytickú kolónu a detektor pomerne zdĺhavé, keďže prietok nosného plynu je obmedzený na 1–3 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. V prípade jednorázového („at-once“) nástreku je veľkosť dávkovaného objemu obmedzená dĺžkou predkolóny. Vzorka sa dávkuje oveľa rýchlejšie, ako sa stihne vyparovať, preto musí mať predkolóna primeranú dĺžku, aby bola



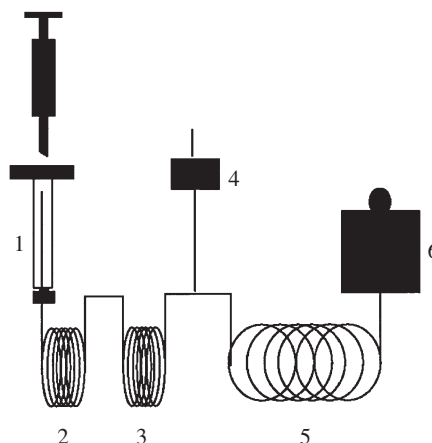
Obr. 3. Schéma klasickej „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov; 1 – „on-column“ injektor, 2 – predkolóna, 3 – analytická kolóna, 4 – detektor

schopná zadržať celý objem dávkovanej kvapaliny. Pri nástreku príliš veľkého objemu sa prekročí zadržiavacia kapacita (retaining capacity) predkolóny a solvent zaplaví aj analytickú kolónu. Vytvoria sa neprimerane široké počiatočné zóny a zníži sa separačná účinnosť kolóny. Ak je rýchlosť dávkovania kontrolovaná, môže sa dávkovaný objem zvýšiť, limitujúcim faktorom však naďalej ostáva neprimerane dlhý čas na odstránenie solventu. Pre dávkovanie, alebo prenos LC frakcií do GC s objemom väčším ako 50 μl sa uprednostňuje použitie ventilu pre skorú elimináciu pár solventu.

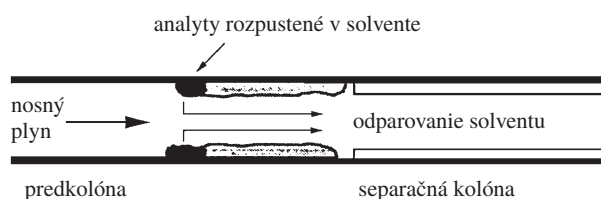
„On-column“ dávkovanie s využitím ventilu pre skorú elimináciu pár solventu

Veľkosť dávkovaného objemu možno výrazne zvýšiť zaradením ventilu pre skorú elimináciu pár solventu (early solvent vapour exit, SVE) medzi predkolónu a analytickú kolónu⁵ (obr. 4). Vo všeobecnosti sa medzi predkolónu a SVE zaraďuje ešte krátka analytická kolóna, tzv. zadržiavacia predkolóna (retaining precolumn), ktorá znižuje straty prchavých látok unikajúce cez ventil spolu s odparujúcim sa solventom. Rovnako ako pri klasickej spôsobe „on-column“ dávkovania sa vzorka nastrekuje pri teplote pod teplotou varu rozpúšťadla (korigovaná na daný tlak). S odparovaním solventu a so zvyšovaním teploty kolóny dochádza k zakoncentrovaniu analytov účinkom vyššie opísaných efektov. Pary solventu však neprechádzajú cez kolónu a detektor, ale sa vypúšťajú cez SVE ventil. Ten je počas odparovania solventu otvorený a počas chromatografickej analýzy sa preplachuje nízkym prietokom nosného plynu. Kolóna a detektor sú tak chránené pred nadmerným množstvom solventu a zabráňuje sa tvorbe toxických látok v detektore, ako je napríklad tvorba fosgénu v FID pri použití chlórovaných rozpúšťadiel. Rýchlosť nosného plynu cez ventil je až niekoľko desiatok $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (30–200 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ v porovnaní s 1–3 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ pri odparovaní solventu cez analytickú kolónu), a teda aj proces odparovania solventu je výrazne rýchlejší. Šírka píku rozpúšťadla sa výrazne znižuje, keďže rýchlosť odparovania rozpúšťadla teraz dosahuje až 100–500 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ namiesto pôvodných 5–20 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, keď pary solventu prechádzali cez celú analytickú kolónu⁴.

Na rozdiel od klasickej „on-column“ techniky sa dávko-



Obr. 4. Schéma „on-column“ injektora s ventilom pre odstraňovanie pár solventu; 1 – „on-column“ injektor, 2 – predkolóna, 3 – zadržiavacia predkolóna, 4 – ventil pre elimináciu pár solventu (SVE), 5 – analytická kolóna, 6 – detektor



Obr. 5. Dávkovanie za podmienok čiastočného súčasného odparovania solventu (PCSE)

vanie vzorky uskutočňuje za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu (partially concurrent solvent evaporation, PCSE) (obr. 5). Až okolo 90 % solventu sa odparí cez SVE už počas dávkovania. Pretože len relatívne malá frakcia solventu sa nachádza v predkolóne vo forme kvapaliny, ktorá sa rozmýva pozdĺž stien, je možné jej dĺžku výrazne skrátiť, alebo zvýšiť dávkovaný objem, prípadne zvýšiť rýchlosť dávkovania pri danej dĺžke predkolóny. Použitie ventilu pre skorú elimináciu pár solventu má veľký význam aj pri kombinácii LC-GC. Prenos LC frakcie do GC za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu si vyžaduje, aby rýchlosť odparovania solventu bola len o čosi menšia ako rýchlosť dávkovania, tj. prietok mobilnej fázy v LC. Pre LC kolóny s vnútorným priemerom 2–3 mm sú typické prietoky mobilnej fázy 200–500 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, čo sa práve zhoduje s rozsahom rýchlostí odparovania solventu cez SVE.

Najdôležitejším parametrom pri optimalizácii dávkovania veľkého objemu „on-column“ technikou za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu je dĺžka zaplavenej zóny. Tá je určená rýchlosťou dávkovania vzorky a rýchlosťou odparovania solventu, ktorá je zase daná teplotou kapiláry (musí byť nižšia, ako je teplota varu rozpúšťadla korigovaná na tlak v kolóne), prietokom nosného plynu a vstupným tlakom. Solvent nesmie zaplavíť aj stacionárnu fázu separačnej kolóny, teda zaplavená zóna nesmie prekročiť dĺžku predkolóny. Prítomnosť SVE spôsobuje, že proces odparovania solventu zo zaplavenej zóny je komplexnejší a v niektorých bodoch sa líši od opisu, ktorý je uvedený v úvode kapitoly 3.

Tabuľka IV
Aplikácie „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov vzorky v GC a LC-GC analýze

Analyt ^a	Vzorka	Príprava vzorky ^b	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^c [μl]	GC Detektor ^d	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Fluorantén, pyrén/ chlórované fenoly	riečna voda	„in-vial“ extrakcia 8 ml vody s 2 ml <i>n</i> -hexánu	–	–	150	MSD/FID	0,01	8
Herbicídy kyseliny chlórofenoxu octovej	voda	<i>in situ</i> esterifikácia a „in-vial“ extrakcia	–	–	200	MS-SIM	0,01–0,06	9
Benzonitril, nitrobenzén, <i>m</i> -krezol, 2-metyl naftalén, acenaftén, 2,3-dinitro- benzén, tributyl fosfát	riečna voda	predkoncentrácia 9,5 ml vody na LC kolóne, elúcia s EtAc	9,5	10 × 2 PLRP-S, 10 μm	75	FID	0,05	10
Karboxylové kyseliny a chlórované anilíny	voda	25 ml vzorky, on-line alkylácia/acylácia, LLE do izooktánu	–	–	100	FID/ECD	1000/100	11
29 Organofosforečných pesticídov	olivový olej	filtrácia, 250 mg oleja doplnené do 5 ml cyklohexánom, GPC	20	250 × 4,6 PLGel, 5 μm, 50 Å póry	1300	FPD	0,001–0,003 mg.kg ⁻¹	12
PAU (EPA metóda 625)	odpadová voda	20 ml vody „in-vial“ extrakcia s 2 ml hexánu	–	–	100	FID	nízke μg.l ⁻¹	13
Organochlórované a organofosforečné pesticídy	podzemná voda	off-line LLE, 100 ml vzorka/ 1 ml hexán	–	–	100	MS full scan	0,01	14
Organochlórované pesticídy/PCBs	materské mlieko	extrakcia 100 g vzorky MeOH/dietyl éter/petroleum éter (1:1:1) a čistenie	35/100	50 × 1 Hypersil silica, 3 μm/30 × 2,1 Spherisorb 5 μm	240	ECD	0,3–2 μg.kg ⁻¹ tuku	15
<i>p,p'</i> -DDE/PCBs	podkožné tkanivo	saponifikácia	50	50 × 1 Hypersil silica, 3 μm	180	ECD	–	16
Organosírové zlúčeniny (tioly, sulfidy, tiofény, benzotiofény, dibenzotio- fény, benzo-naftotiofény)	ťažké a stredné ropné destiláty (150–450 °C)	10–25-násobné zriedenie vzorky heptánom	10	250 × 2 aminosilane- -bonded silica, 5 μm	–	FID-SCD	–	17
Polycyklické aromatické zlúčeniny (PAU, hetero- cyklické-, nitro-, oxy-polyaromáty)	nafta; častice (mestského vzduchu a z výfukov dieslových motorov); uholné dechty	off-line LLE, SFE	20	100 × 2 Spherisorb, 5 μm	500/350	MS/AED	–	18
Chlórované alkány a benzény	odpadová voda	off-line LLE 30 ml vzorky s 5 ml hexánu	–	–	100	MS-SIM	0,0008– 0,0085	19

Tabuľka IV – pokračovanie

Analyt ^a	Vzorka	Príprava vzorky ^b	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^c [μl]	GC Detektor ^d	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Nasytené a aromatické uhľovodíky	dieslové palivá	zriedenie 1:1000 pentánom	2,5	220 × 2,1 silica 5 μm a amino-bonded silica 5 μm	260	FID	–	20
Alifatické aldehydy, sesqui- a monoterpenové aldehydy	pomarančový olej	zriedenie éterického oleja v pentáne, 1 %, (v/v)	20	100 × 2 Spherisorb, 5 μm	do 200	MS full scan	–	21
Metyl izobutyryát, metyl metakrylát, metyl α-formyl izobutyryát, metyl β-formyl izobutyryát	kontrola reakčnej zmesi	zriedenie dichlórmetánom a pentánom	24	100 × 2,1 cyano Spherisorb, 5 μm	200	FID	–	22
Organofosforečné pesticídy, triazíny	pitná a povrchová voda	off-line SPE	–	–	100	FPD/MS-SIM	0,001–10	23
Triazíny	povrchová voda	off-line mikroextrakcia, SPE	–	–	100–150	NPD	0,1	24
Triazíny	riečna a odpadová voda; pomarančový džús	on-line imunoafinitná SPE-SPE 10 ml vzorky, desorpcia so 100 μl etylacetátu	–	–	100	FID NPD	0,015–0,025 0,0015	25
Chlórované fenoly	voda	acetylácia, off line/on-line SPE	2200	10 × 2 PLRP-S pre on-line SPE	110/85	FID	0,1	26
Atrazín, diazinon, simetrín, metolachlor, triazofos, dietyl ftalát, sulfotep, kofeín	voda	on-line SPE 20 ml vody	–	–	100	IR	0,1–1	27
Triazíny, organofosforečné pesticídy	povrchová voda	on-line SPE, PLRP-S	–	–	50	FID/MS	0,2–0,7/ 0,02–0,04	28
Alifatické a aromatické uhľovodíky	benzín	zriedenie	–	100 × 2 silica	100	FID	–	29
Chlórované benzény	palivový olej	zriedenie	0,06	1050 × 0,25 silica	22	FID	1000	30
PCBs	uhľový decht	–	–	960 × 0,25 ODS silica	40	FID	–	31
Kyslíkaté PAU	častice z výfukov dieslových motorov	SFE s CO ₂ a modifikátorom	50	150 × 2 silica	200	FID	–	32
PAU	častice z výfukov dieslových motorov	–	–	100 × 2 silica	300–450	FID	–	33

Tabuľka IV – vysvetlivky

^a PAU – polycyklické aromatické uhľovodíky, PCBs – polychlórované bifenyly; ^b LLE – extrakcia kvapalina–kvapalina, GPC – gélová permeačná chromatografia, SPE – extrakcia superkritickou kvapalinou, SPE – extrakcia tuhou fázou; ^c GC – objem dávkovaný do GC, LC – objem LC frakcie; ^d MS – hmotnostný spektrometer, MSD – hmotnostný detektor, FID – plameňovoionizačný detektor, SIM – selektívne monitorovanie iónov, ECD – detektor elektrónového záhytu, FPD – plameňovofotometrický detektor, SCD – chemiluminiscenčný (S – sira) detektor, AED – atómový emisný detektor, IR – infračervený detektor

Tabuľka V

Aplikácie dávkovania veľkých objemov cez slučku v GC a LC-GC analýze

Analyt	Vzorka	Príprava vzorky ^a	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^b [μl]	Detektor ^c	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
α-, β-, γ-, δ- -Hexachlórocyclohexán	podzemná voda	on-line LLE 10 ml vody izooktánom	–	–	100	ECD	0,1	36
Acinatrín, pyreteroidný insekticíd	ovocie	extrakcia ovocia	20	100 × 2,1 Lichrosorb Diol, 5 μm	280–420	ECD	–	37
β-Blokátory (metoprolol, oxpremolol, propranolol, timolol) a kodeín	moč	filtrácia, on-line RPLC čistenie alebo LLE, silanizácia	–	20 × 2,1 C18, 5 μm	420	FID	–	38
Mono-, di-, triacylglyceroly	rastlinný olej, dieslové palivo	off-line acetylácia, on-line NPLC-GC	20	100 × 2 silica Spherisorb S5W, 5 μm	1000	FID	–	39
Alifatické alkoholy a steroly	olivový olej	off-line transesterifikácia	10	200 × 21 Hypersil silica, 5 μm	alkoholy 250 a steroly 450 140	FID	–	40
Hexachlórobutadién, hexachlórobenzén	povrchová voda	„in-vial“ extrakcia 1 ml vzorky, 1 ml pentán	–	–	140	MS-SIM	0,006	41
Organochlórované pesticídy/NCC-éter a ACC-éter	podzemná voda/testy akútnej toxicity s rybami a blchami	on-line LLE 10 ml vzorky do izooktánu	–	–	100, 250	ECD/FID	0,1–10	42

Tabuľka V – pokračovanie

Analyt	Vzorka	Príprava vzorky ^a	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rožmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^b [μl]	Detektor ^c	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Polycyklické aromatické zlučiny (PAU, heterocyklické-, nitro-, oxy-polyaromáty)	nafta, častice (mestského vzduchu a z výfukov dieslových motorov); uhoľné dechty	off-line LLE, SFE	20	100 × 2 Spherisorb, 5 μm	500/350	MS/AED	–	18
Nasýtené a aromatické uhľovodíky	dieslové palivá	zriedenie 1:1000 pentánom	2,5	220 × 2,1 silica 5 μm a amino-bonded silica, 5 μm	260	FID	–	20
PCBs	krvná plazma	off-line extrakcia a čistenie	125–175	100 × 3 dinitro-anilinopropyl silica, 5 μm	1000	MS-SIM	–	43
2,6-Dichlórobenzén nitril, tetradifon, tetrasul, lindán	podzemná voda	on-line LLE	–	–	100	AED	10–500	44
Chlórované fenoly	voda	acetylácia, off line/on-line SPE	2200	10 × 2 PLRP-S, pre on-line SPE	110/85	FID	0,1	26
31 Organofosforečných a dusíkatých pesticídov	voda	on-line SPE	2000	10 × 2 PLRP-S, 15–25 μm	500 s ko-solventom	NPD	0,01–0,17	45
Organochlórované a pyretroidné pesticídy	voda	off-line LLE	–	–	200	ECD	0,004–0,3 ^e , 0,05–0,1 ^f	46
PAU	častice z výfukov dieslových motorov	zriedenie	200	250 × 1 aminosilán/silica v sérii	350	FID	–	47
PAU	mazací olej kerosén,	zriedenie	10	600 × 6 350 × 0,32 DNPMP-silica	1000 50 s ko-solventom	FID MS	200	48
PAU	surový olej kominové sadze	soxhlet extrakcia	10	250 × 2 aminosilán	500	FID	–	49
PAU	–	–	–	–	–	–	–	50

^a NPLC – kvapalinová chromatografia na normálnych fázach; RPLC – kvapalinová chromatografia na reverzných fázach, ^b GC/LC viz ^c v tab IV, ^d ostatné použité skratky ako v tab. IV, ^e pre organochlórované pesticídy, ^f pre pyretroidy

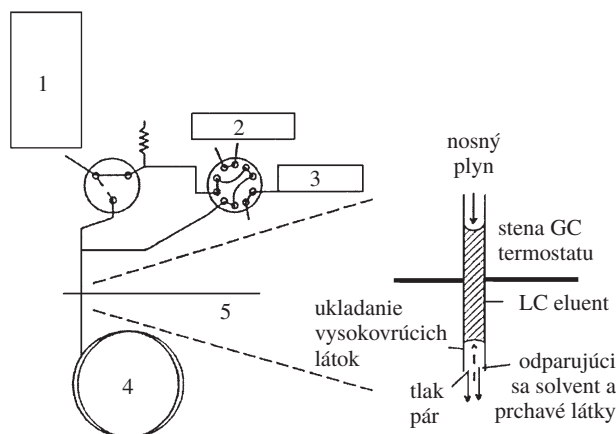
Čelo zaplavenej zóny sa môže nachádzať blízko SVE, kde je takmer atmosferický tlak. Teda medzi vstupom do predkolóny a čelom zaplavenej zóny existuje pokles tlaku, v dôsledku ktorého dochádza k zmenám v procese vyparovania solventu^{6,7}.

Aplikácie

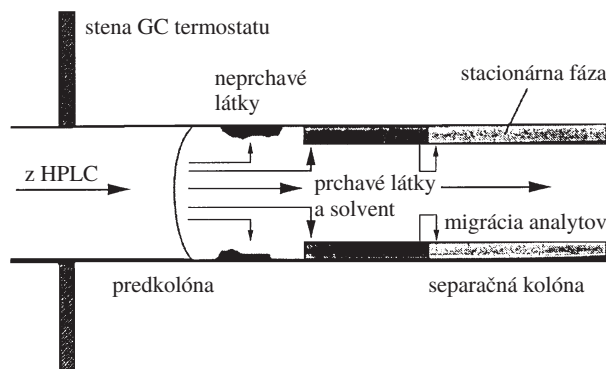
„On-column“ techniky dávkovania sú vhodné hlavne pri analýze termolabilných a prchavých analytov. Využívajú sa predovšetkým na spájanie LC-GC, on-line extrakcie kvapalina–kvapalina–GC alebo on-line extrakcie na tuhej fáze (SPE)–GC. Ich nevýhodou je menšia robustnosť v porovnaní s inými technikami pri nástreku vzoriek s vysokou koncentráciou vysoko vrúcich nečistôt (humínové kyseliny v environmentálnych vzorkách, tuky a oleje v biologickom materiáli a potravinách) alebo rozpúšťadiel obsahujúcich stopy vody, prípadne iné agresívne látky. Dochádza k deaktivácii predkolóny a k vzniku adsorpčných miest. „On-column“ techniky sú takisto nevhodné pre priamu analýzu vodných vzoriek. Voda a jej zmesi s inými rozpúšťadlami nemajú schopnosť zmáčať steny predkolóny, teda nemajú schopnosť vytvárať súvislú vrstvu kvapaliny. Pre takéto vzorky sa výrazne znižuje zadržiavacia kapacita predkolóny a neuplatňujú sa efekty solventu, teda rekoncentrácia prchavých látok a zmáčanie stacionárnej fázy v zadržiavacej predkolóne, alebo v separačnej kolóne. Pre silne znečistené a agresívne vzorky sa využíva dávkovanie do odparovacej komôrky. Príklady aplikácií GC analýzy, alebo LC-GC analýzy s využitím „on-column“ techník pre dávkovanie veľkých objemov sú uvedené v tabuľke IV.

3.2. Dávkovanie cez slučku

Druhý spôsob, akým možno dávkovať veľké objemy vzorky, je cez slučku s úplným odparením solventu (obr. 6). Tento spôsob bol pôvodne vyvinutý pre on-line kombináciu LC-GC. Vzorka sa dávkuje cez slučku, ktorá je súčasťou 10-kanálového ventilu³⁴. Ďalšími kanálmi je k nemu pripojená ešte slučka pre vnútorný štandard alebo premývací solvent, prívod nosného plynu a predkolóna. Po naplnení oboch slučiek a otočení ventilu sa vzorka vytlačí nosným plynom zo slučky do predkolóny. Na rozdiel od dávkovania „on-column“ technikou je teplota termostatu mierne nad teplotou varu solventu. Všetok solvent sa okamžite vyparuje a tlak vytvorený odparujúcim sa solventom zabraňuje, aby kvapalina prenikala hlbšie do predkolóny. Na jej stenách sa teda nevytvára žiadna súvislá vrstva kvapaliny, ktorá by mohla zachytávať prchavé látky. Tie sa odparujú spolu so solventom. Dávkovanie prebieha za podmienok úplného súčasného odparovania solventu (fully concurrent solvent evaporation) (obr. 7). Táto metóda je preto vhodná len na analýzu látok s relatívne vysokými GC elučnými teplotami, t.j. len pre zlúčeniny, ktoré eluujú pri teplote aspoň o 100–120 °C vyššej, ako je teplota počas dávkovania. Z toho istého dôvodu (absencia zaplavenej zóny) postačujú aj veľmi krátke predkolóny (1–2 m). Pary solventu a prchavé látky sa eliminujú buď cez kolónu a detektor, alebo rýchlejšie cez SVE. Za podmienok úplného súčasného odparovania rozpúšťadla môžu byť v relatívne krátkom čase dávkované objemy až niekoľko mililitrov. Doposiaľ zaznamenané maximum bolo 20 ml za menej ako 20 minút³⁵. Zaostrovanie počiatkových zón analytov sa uskutočňuje len v dôsledku rozdielnych



Obr. 6. Schéma dávkovania veľkých objemov cez slučku; 1 – nosný plyn, 2 – slučka pre vnútorný štandard alebo premývací solvent, 3 – slučka na zachytenie LC frakcie, 4 – predkolóna, 5 – stena GC



Obr. 7. Dávkovanie za podmienok úplného súčasného odparovania solventu (FCSE); na stenách predkolóny sa nevytvára kvapalný film a prchavé látky unikajú spolu so solventom

pomerov stacionárnych fáz v predkolóne (bez stacionárnej fázy) a v separačnej kolóne.

V podstate je potrebné optimalizovať jediný parameter, a tým je počiatková teplota, pri ktorej sa dávkuje vzorka. Príliš nízka teplota spôsobuje nežiadúcu opätovnú kondenzáciu solventu na stenách predkolóny. Kondenzovaná kvapalina môže preniknúť až do separačnej kolóny, čo vedie k širokým a deformovaným píkom. Na druhej strane, príliš vysoká počiatková teplota vedie k nadmerným stratám prchavejších analytov, čo ešte viacej zužuje aplikačný rozsah metódy. Na zníženie strát nižšie vrúcich analytov sa k hlavnému solventu pridáva ko-solvent. Ko-solvent musí mať vyššiu teplotu varu ako hlavný solvent, musí sa s ním miešať a dobre zmáčať predkolónu. Zatiaľ čo sa hlavný solvent počas dávkovania okamžite odparuje, ko-solvent vytvára na stenách predkolóny tenký film, ktorý slúži ako dočasná stacionárna fáza zachytávajúca prchavé analyty. Možnosti použitia tejto techniky v GC a v kombinácii LC-GC sú zhrnuté v tabuľke V.

3.3. Dávkovanie do odparovacej komôrky

Vzorky obsahujúce neprchavé interferujúce látky, alebo vzorky rozpustené v solventoch s obmedzenými zmáčacími schopnosťami (zmes organických rozpúšťadiel s vodou) sa musia dávkovať do odparovacej komôrky. Vzorka sa dávkuje do studeného injektora (pri teplote pod teplotou varu rozpúšťadla), alebo do horúceho injektora. K odparovaniu solventu a k separácii analytov od solventu dochádza buď v tej istej časti injektora, alebo sú jednotlivé kroky od seba priestorovo oddelené. Odparovacia komôrka môže byť plnená vhodným sorbentom na zvýšenie jej zadrživacej kapacity pre kvapalinu. Rôzny dizajn odparovacích komôriek, použitie rôznej počiatkovej teploty injektora pri dávkovaní, rôzne spôsoby odstránenia solventu a separovania solventu od analytov umožňujú rôzne kombinácie pre nástrek veľkých objemov, s nomenklatúrou, ktorá zdanlivo ešte zväčšuje tento počet a zvyšuje ich prehľadnosť⁵¹.

4. Záver

Dávkovanie veľkých objemov vzorky v kapilárnej GC umožňuje znížiť medze detekcie v stopovej analýze alebo eliminovať zakoncentrovací krok odparovaním, čo zároveň umožňuje skrátenie a zjednodušenie prípravy vzorky pri dosiahnutí tej istej medze detekcie ako s použitím samostatného obohacovacieho stupňa. Medzi základné techniky dávkovania veľkých objemov patrí dávkovanie do „on-column“ injektora, dávkovanie cez slučku a dávkovanie do odparovacej komôrky. Dávkovanie do „on-column“ injektora je vhodné pre relatívne čisté vzorky a pre prchavé analyty. Objemy do 50 µl je možné dávkovať klasickou „on-column“ technikou, pri dávkovaní väčších objemov je nutné eliminovať pary solventu cez ventil pre elimináciu pár solventu. Optimalizácia parametrov je pomerne náročná, kritický parameter, ktorý ovplyvňuje straty prchavých látok a kvalitu chromatografickej separácie, je moment zatvorenia ventilu. Pri dávkovaní cez slučku je potrebné optimalizovať jediný parameter, a to teplotu GC termostatu počas prenosu vzorky zo slučky do predkolóny. Táto technika je vhodná najmä pre vyššie vrúce analyty, jej rozsah použitia sa dá rozšíriť na prchavejšie látky použitím ko-solventu s teplotou varu vyššou ako má hlavný solvent. Dávkovanie do odparovacej komôrky je vhodné pre matrice obsahujúce neprchavé rušivé látky.

LITERATÚRA

- Grob K., Biedermann M.: *J. Chromatogr.*, A 750, 11 (1996).
- Boselli E., Grob K., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 327 (1999).
- Vreuls R. J. J.: *PhD Thesis*. Free University of Amsterdam, Amsterdam 1993.
- Boselli E., Grolimund B., Grob K., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 149 (1999).
- Mol H. G. J., Janssen H. G. M., Cramers C. A., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 703, 277 (1995).
- Boselli E., Grolimund B., Grob K., Lercker G., Amadò R.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 355 (1998).
- Grolimund B., Boselli E., Grob K., Amadò R., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 378 (1998).
- Magni P., Munari F., Trisciani A., Trestianu S.: *20th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda 1998*.
- Catalina M.I., Dallüge J., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 877, 153 (2000).
- Vreuls R. J. J., Cuppen W. J. G. M., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 157 (1990).
- Goosens E. C., Broekman M. H., Wolters M. H., Strijker R. E., De Jong D., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 242 (1992).
- Jongenotter G. A., Kerkhoff M. A. T., van der Knaap H. C. M., Vandeginste B. G. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 17 (1999).
- Morabito P. L., McCabe T., Hiller J. F., Zakett D.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 90 (1993).
- Termonia A., Termonia M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 447 (1997).
- van der Hoff G. R., Baumann R. A., van Zoonen P., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 222 (1997).
- Gort S. M., van der Hoff R., Baumann A., van Zoonen P., Martin-Moreno J. M., van't Veer P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 138 (1997).
- Beens J., Tijssen R.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 131 (1997).
- Lewis A. C., Askey S. A., Holden K. M., Bartle K. D., Pilling M. J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 109 (1997).
- Tamilarasan R., Morabito P. L., Lamparski L., Hazelwood P., Butt A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 689 (1994).
- Trisciani A., Munari F.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 452 (1994).
- Mondello L., Bartle K. D., Dugo G., Dugo P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 312 (1994).
- Andersson T., Hyötyläinen T., Riekkola M. L.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 261 (1999).
- Ramalho S., Hankemeier T., De Jong M., Brinkman U. A. T.: *J. Microcol. Sep.* 7, 383 (1995).
- Beltran J., López F.J., Forcada M., Hernández F.: *Anal. Chim. Acta* 356, 125 (1997).
- Dallüge J., Hankemeier T., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 830, 377 (1999).
- Louter A. J. H., Jones P. A., Jorritsma J. D., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 363 (1997).
- Hankemeier T., Hooijschuur E., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 341 (1998).
- Hankemeier T., Steketee P. C., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 750, 161 (1996).
- Munari F., Trisciani A., Mapelli G., Trestianu S., Grob K., Colin J. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.*, Chromatogr. Commun. 8, 601 (1985).
- Cortes H. J., Richter B. E., Pfeiffer C. D., Jensen D. E.: *J. Chromatogr. Commun.* 11, 706 (1988).
- Cortes H. J., Pfeiffer C. D., Richter B. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 8, 469 (1985).

32. Kelly G. W., Bartle K. D., Clifford A. A., Robinson R. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 526 (1992).
33. Kelly G. W., Bartle K. D., Clifford A. A., Scammells D.: *J. Chromatogr. Sci.* 31, 73 (1993).
34. Kelly G. W., Bartle K. D.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 390 (1994).
35. Grob K., Schmarr H.-G., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 12, 375 (1989).
36. Goosens E. C., Bunschoten R. G., Engelen V., De Jong D., van den Berg J. H. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 438 (1990).
37. Modeste F., Caude M., Devaux P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 535 (1996).
38. Hyötyläinen T., Pilviö R., Riekkola M. L.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 439 (1996).
39. Lechner M., Bauer-Plank Ch., Lorbeer E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 581 (1997).
40. Lanuzza F., Micali G., Calabrò G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 444 (1996).
41. Venema A., Jelink J. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 234 (1996).
42. Goosens E. C., De Jong D., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 352 (1997).
43. Grimvall E., Östman C., Nilsson U.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 685 (1995).
44. Goosens E. C., De Jong D., De Jong G. J., Rinkema F. D., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 38 (1995).
45. Noij T. H. M., van der Kooi M. M. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 535 (1995).
46. van der Hoff G. R., Gort S. M., Baumann R. A., van Zoonen P., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 14, 465 (1991).
47. Kelly G. W., Bartle K. D., Breen D. G., Clifford A. A.: *Proceedings of the 15th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, May 1993.*
48. Ostman C., Bemgard A., Colmsjo A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 437 (1992).
49. Welch K. J., Hoffman N. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 170 (1992).
50. Heo G. S., Suh J. K.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 748 (1990).
51. Engewald W., Teske J., Efer J.: *J. Chromatogr., A* 842, 143 (1999).

E. Korenková^a, E. Matisová^b, and J. Slobodník^a (^a*Environmental Institute, Koš*, ^b*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic*): **Large-Volume Injection in Capillary Gas Chromatography**

The review deals with large-volume injection techniques in capillary GC. Basic principles, advantages and limitations of cool on-column injection in standard setup and with the use of solvent vapour exit, as well as of loop-type injection are described. An overview of applications is summarized.

AROMATICKÉ NUKLEOFILNÍ DENITROCYKLIZAČNÍ REAKCE*

STANISLAV RÁDL

Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, a.s., Dolní Měcholupy 130, 102 37 Praha 10, e-mail: radl@vufb.cz

Došlo dne 23.I.2001

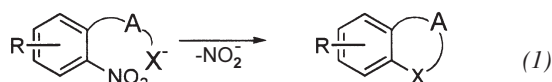
Klíčová slova: denitrocyklizační reakce, Turpinova reakce, Smilesův přesmyk, heteroaromatické látky

Obsah

1. Úvod
2. Cyklizace vedoucí k pětičlenným kruhům
 - 2.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů
 - 2.2. Reakce zahrnující atak sírných nukleofilů
 - 2.3. Reakce zahrnující atak dusíkových nukleofilů
 - 2.4. Reakce zahrnující atak karbaniontů
3. Cyklizace vedoucí k šestičlenným kruhům
 - 3.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů
 - 3.2. Reakce zahrnující atak sírných nukleofilů
 - 3.3. Reakce zahrnující atak dusíkových nukleofilů
 - 3.4. Reakce zahrnující atak karbaniontů
4. Cyklizace vedoucí k sedmičlenným kruhům
 - 4.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů
 - 4.2. Reakce zahrnující atak sírných nukleofilů
5. Závěr

1. Úvod

Pod pojmem aromatické nukleofilní denitrocyklizační reakce se rozumí cyklizace aromatických nebo heteroaromatických nitroderivátů, při níž je aktivovaná nitroskupina nahrazena vhodným nukleofilem, který se začlení do vznikajícího kruhu. Vznikající kruh bývá pěti-, šesti- nebo sedmičlenný, jako nukleofily se uplatňují nejčastěji kyslíkaté, sírné, nebo dusíkaté anionty, popřípadě karbanionty. V nejjednodušším případě benzenových derivátů lze tuto reakci znázornit rovnicí (1), kde R představuje aktivující skupinu, A je skelet začleňující se do vznikajícího kruhu a X⁻ je dostatečně reaktivní nukleofilní anion.



Obecně se pro reaktivitu nitroskupiny ve smyslu aromatické nukleofilní substituce uvádí, že je větší než reaktivita

příslušného chlorderivátu a nižší než fluorderivátu. Přitom v některých případech, zvláště u látek slabě aktivovaných, je mobilita nitroskupiny srovnatelná s mobilitou fluorového atomu. Ještě výraznější je reaktivita nitroskupiny k thiolátovým iontům, kde je obvykle udávána vyšší reaktivita, než je tomu u odpovídajících fluor- a chlorderivátů. Přesto je syntetické využití aromatické nukleofilní substituce mající jako odstupující skupinu nitroskupinu v porovnání se substitucí halogen-derivátů velmi omezené.

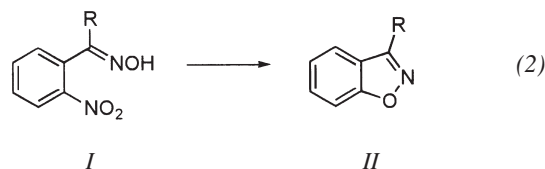
Výhodnost volby strategie zahrnující denitrocyklizaci většinou netkví v samotném cyklizačním stupni, ale ve snadnosti syntézy výchozích nitroslooučenin. Často totiž přítomnost nitroskupiny odstupující ve stupni cyklizace je nutná k provedení předcházejícího reakčního stupně, který svým silným elektronegativním působením přímo umožňuje. Proto je v tomto přehledu v některých případech uváděn celý sled těchto reakcí. Jedním z důvodů řídkého používání denitrocyklizačních reakcí je i fakt, že kromě krátkého přehledu¹ nebyla tato problematika souhrnně zpracována.

Základní členění tohoto přehledu je založeno na velikosti vznikajícího kruhu, podrobnější členění je podle nukleofilu uplatňujícího se při cyklizaci.

2. Cyklizace vedoucí k pětičlenným kruhům

2.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů

Mezi nejstarší denitrocyklizační reakce vůbec patří tvorba 3-substituovaných benzisoxazolů II z příslušných alkyl(2-nitrofenyl)ketoximů I, ke které dochází v alkalickém prostředí² (2). Nověji je popsáno použití hydridu sodného v diglymu^{3,4}. Reakce nevyžadují přítomnost další aktivující skupiny, výtěžky jsou ale relativně nízké, neboť cyklizovat mohou pouze příslušné Z-isomery^{5,6}.



Formálně podobná je i denitrocyklizace vedoucí k dibenzofuranovým derivátům. Příkladem může být cyklizace 2'-hydroxy-4,6,4'-trinitrobifeny-2-karboxylové kyseliny (III) vedoucí k dibenzofuranovému derivátu IV. Stejný produkt byl získán také reakcí laktonu VI získaného oxidací fluorenonu V (schéma 1)^{7,8}.

Kyslíkatý nukleofil může být i enolforma β-diketonu, β-ketoesteru nebo β-diesteru. V dobrých výtěžcích tak lze připravit 2-fenylbenzofuranové deriváty, například sloučeninu^{9,10}

* Tato práce byla sepsána na základě přednášky přednesené na konferenci Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii konané v Liblicích 13.–15. listopadu 2000.

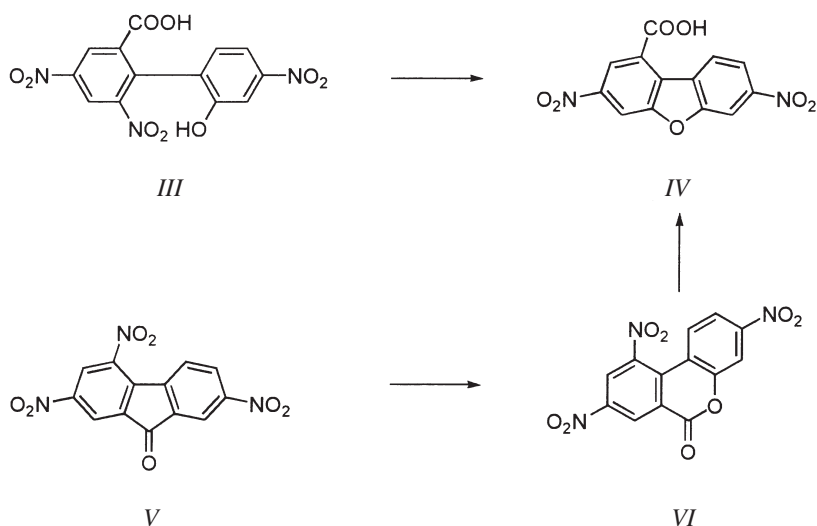


Schéma 1

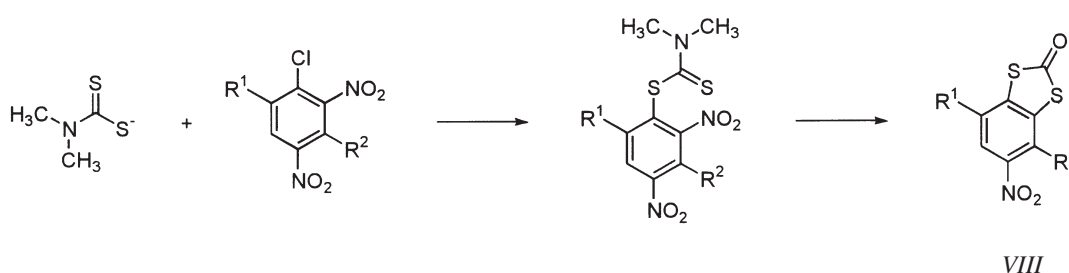


Schéma 2

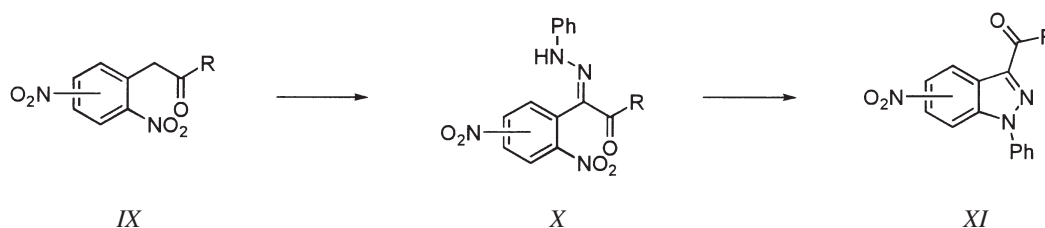
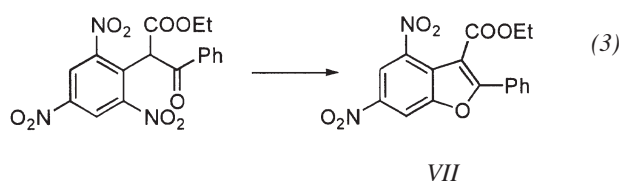


Schéma 3

VII (3). Tento typ reakce v kombinaci s tzv. „vicarious nucleophilic substitution“ popsanou Makoszou¹¹ by mohla představovat atraktivní cestu k benzofuranovým derivátům.

-aryldisulfidy, ale jinak velice těžko dostupné 1,3-benzodithiol-2-ony VIII (schéma 2).



2.2. Reakce zahrnující atak sírných nukleofilů

Zjištění, že soli dithiokarbamové kyseliny reagují s deriváty 2,6-dinitrochlorbenzenu v polárních aprotických rozpouštědlech za vzniku bis-aryldisulfidů, vedlo k domněnce, že jedním z kroků je denitrocyklizační reakce^{12–18}. Detailnější studium ukázalo, že hlavním produktem nejsou uvedené bis-

2.3. Reakce zahrnující atak dusíkových nukleofilů

Již na přelomu století byla objevena syntéza indazolů XI denitrocyklizací fenylhydrazonů¹⁹ X a od té doby se plně prokázala užitečnost této jednoduché reakce^{20–25} (schéma 3). Pro průběh reakce je nutná přítomnost další aktivující skupiny, obvykle nitroskupiny v poloze 4 nebo 6. Výchozí fenylhydrazony X se obvykle připravují kopulací odpovídajících diazoniových solí s deriváty (2-nitrofenyl)acetonu nebo 2-(2-nitrofenyl)octové kyseliny IX. Přítomnost karbonylové nebo karboxylové skupiny ve většině popsaných případů je nutná pouze pro kopulační syntézu výchozího hydrazonu, obdobně cyklizují i fenylhydrazony příslušných acetofenonů^{26,27}.

Denitrocyklizační strategie se osvědčila i při syntéze chinolinonu (XII, X = O), kterou lze dalšími dvěma kroky dovést až k alkaloidu chindolinu. Stejný postup byl použit i pro syntézu oxa- (X = O) a thiaanalogue (X = S) (schéma 4) (cit.²⁸).

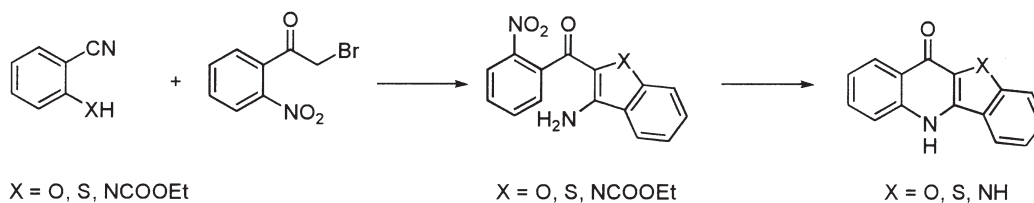


Schéma 4

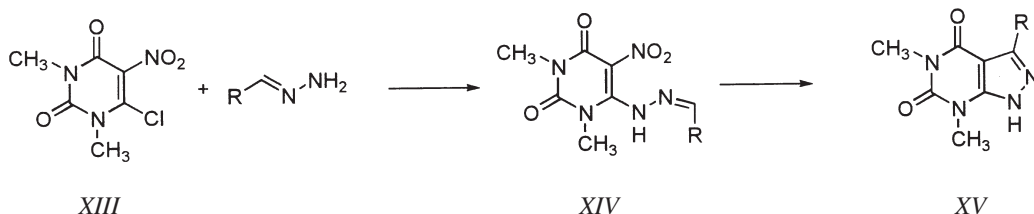


Schéma 5

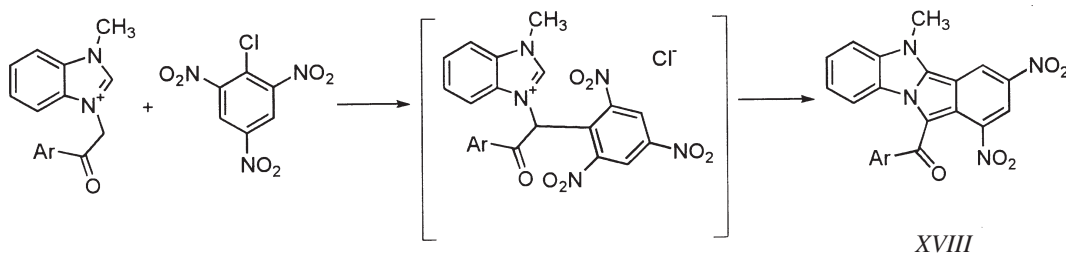
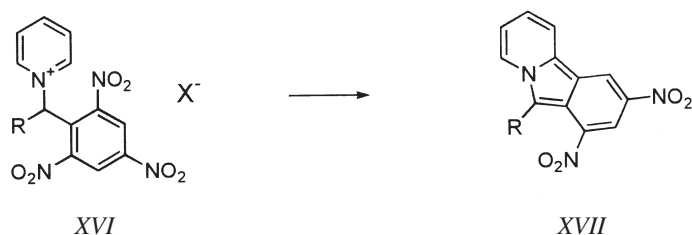


Schéma 6

2.4. Reakce zahrnující atak karbaniontů

Série zajímavých pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidinových derivátů byla připravena termální denitrocyklizací hydrazonů *XIV* získaných z halonitrouracilových derivátů *XIII* (schéma 5) (cit. ^{29,30}). Intermediát *XIV* lze izolovat a k jeho cyklizaci postačí zahřívání ve vhodném rozpouštědle.

Poněkud odlišným příkladem je reakce některých *N*-(2,4,6-trinitrobenzyl)pyridiniových solí *XVI*, která poskytuje vysoké výtěžky příslušných derivátů indolizinu ^{31,32} *XVII*. Obdobně lze připravit ve vysokých výtěžcích i další látky, např. tetra-cyklickou sloučeninu *XVIII* (schéma 6).

3. Cyklizace vedoucí k šestičlenným kruhům

3.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů

Nejnámějším příkladem denitrocyklizačních reakcí vůbec je zřejmě Turpinova metoda syntézy fenoxazinů ^{33–35}

(schéma 7), která vychází z vhodně aktivovaných 2-[(2-nitrofenyl)amino]fenolů *XXI*. Tyto výchozí látky jsou obvykle syntetizovány nukleofilní reakcí vhodných polynitrohalobenzenů *XIX* s příslušnými aminofenoly *XX* a často nebývají izolovány. Při běžném provedení se zahřívají s vodně-etanolickým roztokem NaOH, s octanem sodným nebo jejich směsí ^{36–39}. Nejprve dochází k tvorbě *O*-arylderivátů *XXI*, které podléhají Smilesovu přesmyku ⁴⁰ na *N*-arylderiváty *XXIII*. Při tomto přesmyku je předpokládán a v některých případech i prokázán jako intermediát Meisenheimerův komplex *XXII*.

Poměrně obtížně reagují *N*-nesubstituované intermediáty *XXIII* mající $R^2 = H$; to neplatí o dostatečně aktivovaných *N*-alkyl ^{40–42} a *N*-acetyldifenylaminových derivátech ^{43,44}. Jako *N*-alkylskupina byla použita i 3-(*N,N*-dimethylaminopropyl)ová skupina vedoucí přímo k fenoxazinovému analogu *XXV*, odvozenému od antipsychotického léčiva chlorpromazinu ^{45,46} (4).

Pro přípravu azaanalog fenoxazinu se vychází z příslušných aminopyridinů ^{47,48}. Protože 2,4,6-trinitrochlorbenzen tvoří s některými pyridinovými deriváty kvarterní soli, užívá se v těchto případech Misslinovy modifikace ⁴³ (schéma 8),

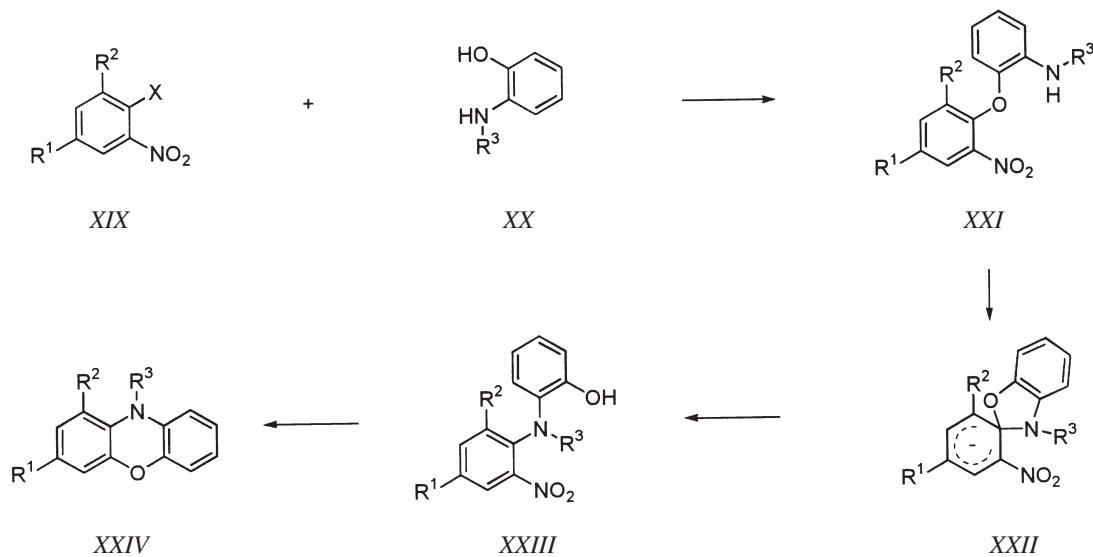
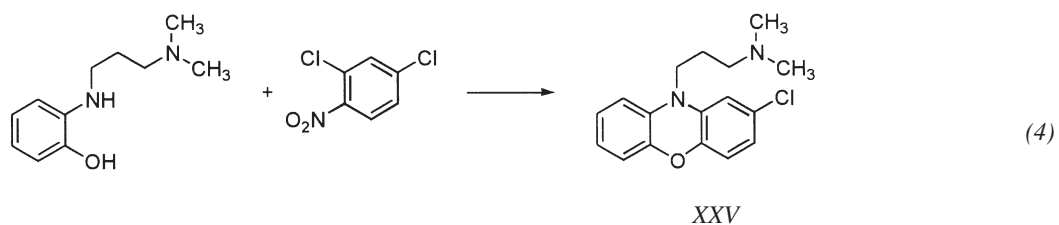


Schéma 7

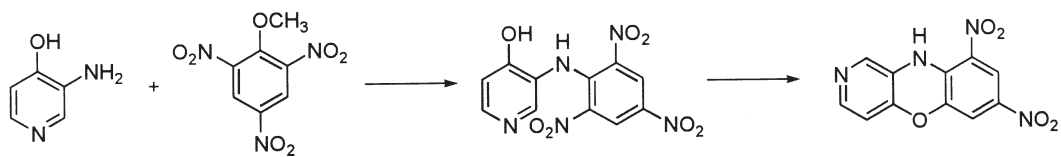


Schéma 8

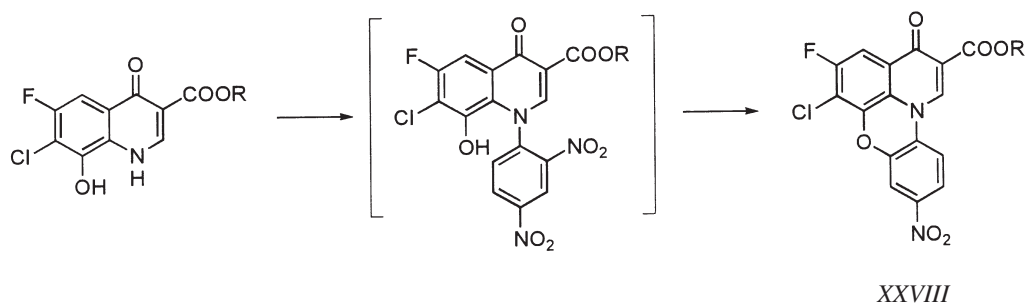
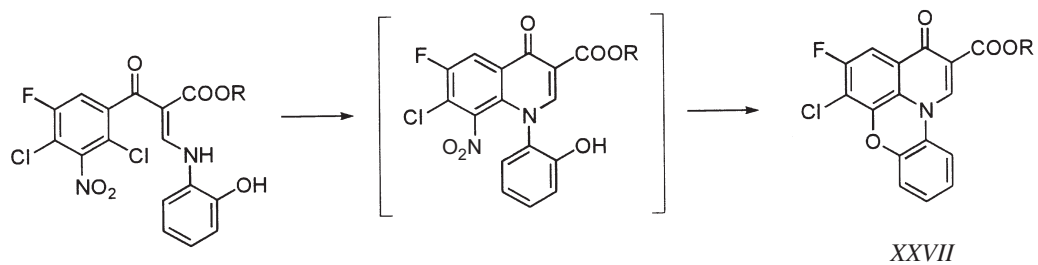


Schéma 9

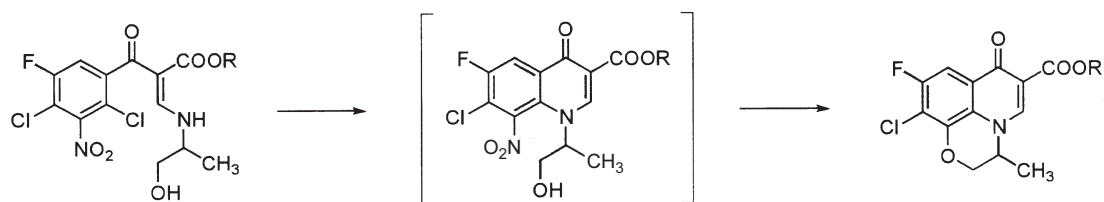


Schéma 10

XXIX

XXX

XXXI

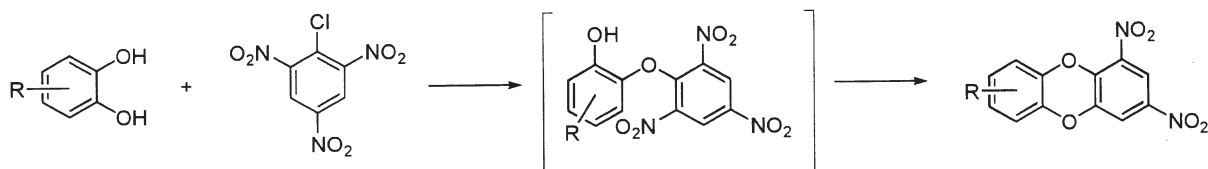


Schéma 11

XXXII

XXXIII

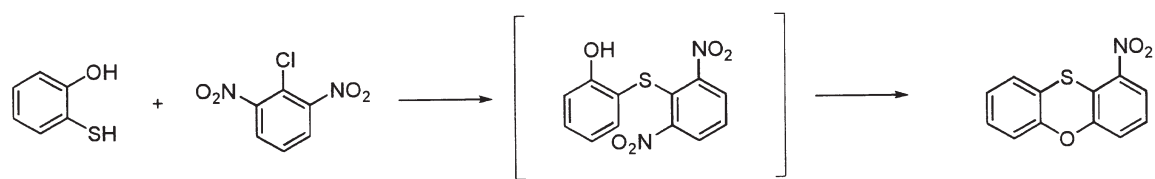


Schéma 12

XXXIV

XXXV

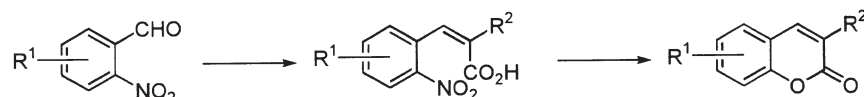


Schéma 13

XXXVIII

kteřá vychází z trinitroanisolu (XXVI). Tato metodika byla použita i pro syntézu některých polynitrofenoxazinů⁴⁹.

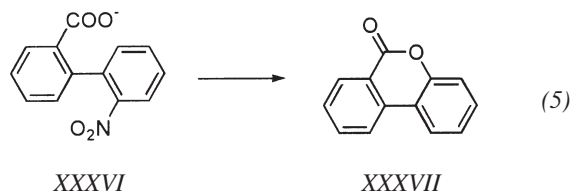
Denitrocyklizační reakce se osvědčila i při syntéze pyrido[3,2,1-*kl*]fenoxazinů XXVII a XXVIII z příslušných *N*-arylchinolonů^{50,51} (schéma 9).

Velmi snadno probíhá také reakce 8-nitrochinolonů s kyslíkatým nukleofilem na alifatickém řetězci v látce XXIX (schéma 10); předpokládaný meziprodukt XXX se nepodařilo zachytit a byla izolována přímo tricyklická látka⁵² XXXI.

Reakcí 1,2-dihydroxybenzenových derivátů XXXII s 2-nitrochlorbenzenovými deriváty majícími v poloze 6 další elektronogativní skupinu byly získány příslušné dioxiny^{53–59} XXXIII (schéma 11). U nesymetricky substituovaných dihydroxyderivátů je obvykle popisován vznik obou možných isomerů⁶⁰. Nověji byla tato metoda využita k syntéze vysoce toxických polychlorovaných dioxinů, výtěžky však jsou obvykle vzhledem k nedostatečné aktivaci nízké^{56,57,61–63}.

Vznik fenoxathiinů reakcí aktivovaných 2-chlornitrobenzenů s 2-sulfanylfenoly byl popsán v roce 1905 a poté v několika dalších pracích^{64–69}. Teprve Stevenson a Smiles⁶⁷ potvrdili na základě struktury produktů XXXV, že se jako nukleofil při cyklizaci uplatňuje OH skupina intermediátu XXXIV (schéma 12). V literatuře je také popsána denitrocyklizační syntéza řady aza- a diazaanalogů fenoxathiinů^{70–75}.

Jako nukleofil může vystupovat u denitrocyklizačních re-



XXXVI

XXXVII

(5)

akcí i karboxylátový anion. Příkladem je reakce vhodně substituovaných bifenyľů XXXVI vedoucí k benzo[*c*]kumarinům XXXVII (5). Reakce byla provedena jak u 2'-nitrobifenyľ-2-karboxylové kyseliny, tak u řady podobných substituovaných derivátů obsahujících jak elektronakceptorové, tak elektronodonorové substituenty. Reakci lze provést v řadě modifikací včetně zahřívání draselné soli nebo zahříváním příslušné kyseliny s chinolinem nebo s piperidinem^{76,77}, popřípadě zahříváním v DMF (cit.^{78,79}).

Obdobou výše uvedené syntézy je i syntéza kumarinů XXXVIII. Nukleofilní karboxylová skupina v tomto případě není vázána na aromatickém jádře, ale na dvojné vazbě v poloze *cis* k *o*-nitrofenylskupině. *Trans*-isomery za podmínek reakce (většinou zahřívání v chinolinu) dekarboxylují. 3-Nesubstituované kumariny byly získány ve velmi dobrých výtěžcích (80–90 %) z příslušných 2-nitrobenzaldehydů a malonové kyseliny, dochází zde k samovolné dekarboxylaci^{80,81} (schéma 13).

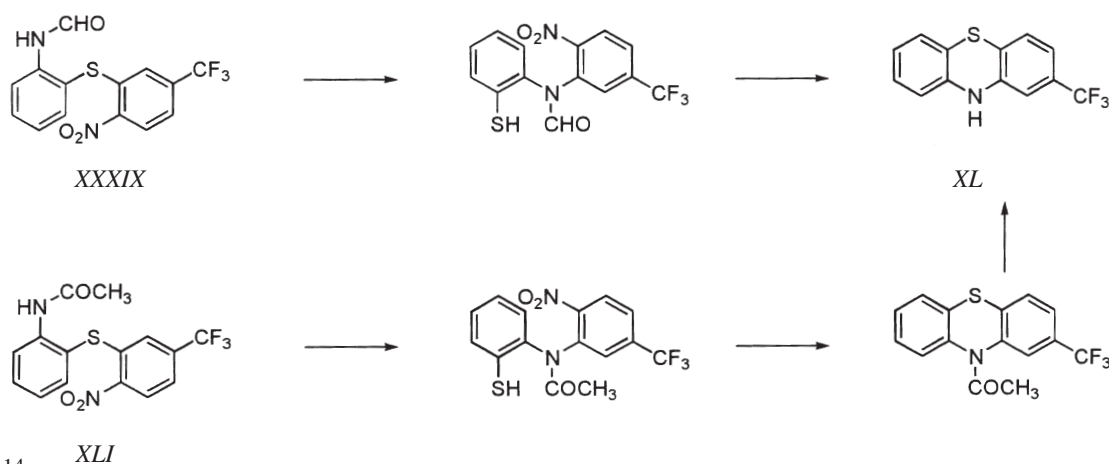


Schéma 14

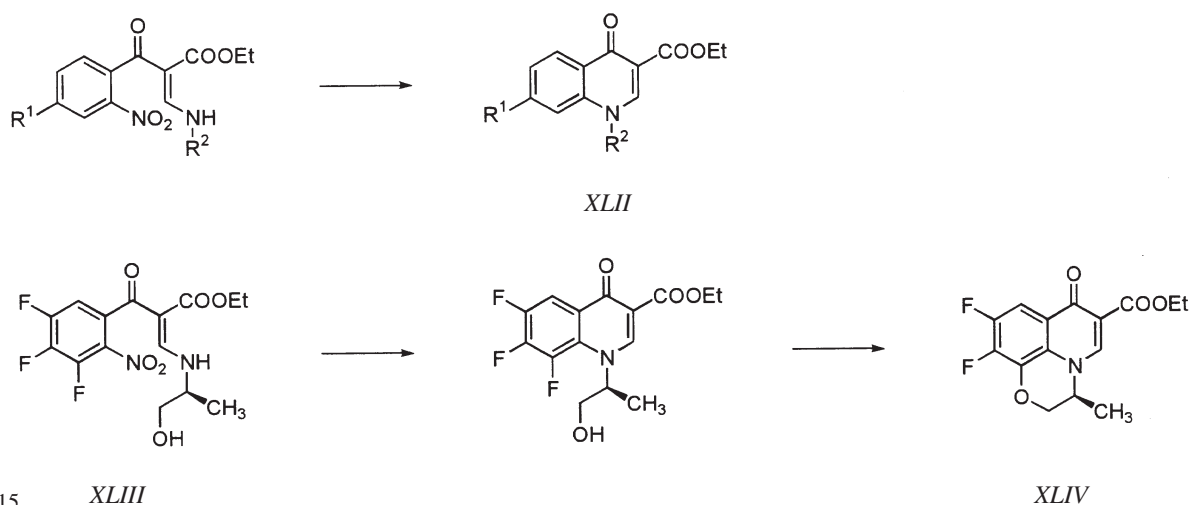


Schéma 15

3.2. Reakce zahrnující atak sirných nukleofilů

Nejprozkoumanější reakcí této skupiny je jistě syntéza fenothiazinů^{82–93}. Formálně se jedná o obdobu Turpinovy reakce, opět se zde uplatňuje Smilesův přesmyk. Reakce má proti Turpinově reakci poněkud nižší nároky na aktivaci. Dobré výtěžky jsou často získávány i bez přítomnosti další aktivující nitroskupiny^{94,95}. Hlavně díky významné roli fenothiazinů ve farmaceutickém průmyslu byla popsána syntéza velkého množství tohoto typu látek denitrocyklizačními reakcemi^{96–101}, které jsou v řadě případů výhodnější, než jiné známé metody. Významným vylepšením bylo využití *N*-formyl-^{102–104} a *N*-acetyl-^{105,106} derivátů. Při použití *N*-formyl-derivátu XXXIX byl získán farmaceutický intermediát XL ve výtěžku 52 % (schéma 14), kdežto při dvoustupňové metodě vycházející z acetyl-derivátu XLI byl požadovaný fenothiazin získán v celkovém výtěžku¹⁰⁷ 92 %.

3.3. Reakce zahrnující atak dusíkových nukleofilů

Při syntéze chinolonů, z nichž některé se výrazně uplatňují

jako antibakteriální léčiva¹⁰⁸ a některá mají výrazný potenciál se v budoucnosti uplatnit i jako antineoplastická léčiva¹⁰⁹, se často užívá reakce 2-halogenbenzoyl-derivátů, které nukleofilní cyklizaci poskytují příslušné intermediáty¹¹⁰. Proto byla studována možnost využít i zde denitrocyklizačních reakcí (schéma 15). Tato metoda byla použita k syntéze *N*-cyklopropyl-derivátů XLII ($R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = c\text{-Pr}$)^{111,112} a *N*-dimethylamin-derivát XLII ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{NMe}_2$)¹¹³. Nedávno byl publikován vysoký výtěžek klíčového intermediátu syntézy chirálního ofloxacinu XLIV, který byl získán z nitroderivátu XLIII sledem denitrocyklizační reakce a následně cyklizace zahrnující náhrady atomu fluoru¹¹⁴ (schéma 15).

Obdobou Turpinovy reakce je opět syntéza dihydrofena-
zinů VL. Podle literárních údajů, které ale vesměs pocházejí z počátku 20. století, je pro reakci nutná silná aktivace^{115–118} (schéma 16).

3.4. Reakce zahrnující atak karbaniontů

Řada zajímavých polycyklických derivátů obsahujících isochinolinové jádro je ve vysokých výtěžcích dostupná sledem reakcí zahrnujících denitrocyklizační stupeň¹¹⁹. Typickým příkladem je syntéza uvedená ve schématu 17.

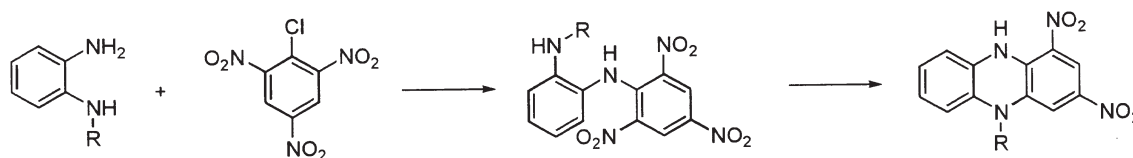


Schéma 16

VL

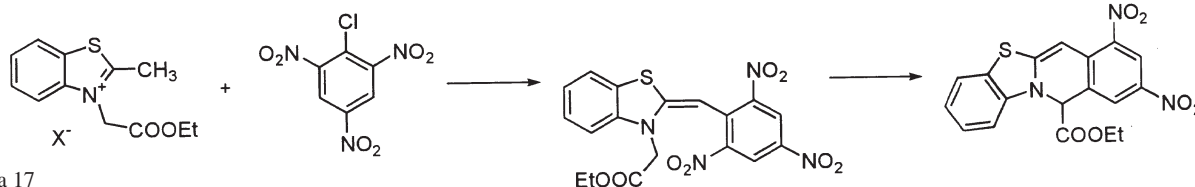


Schéma 17

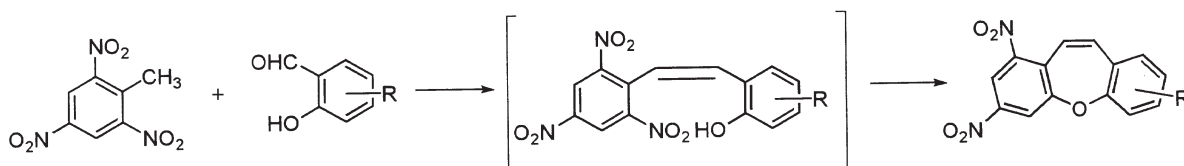
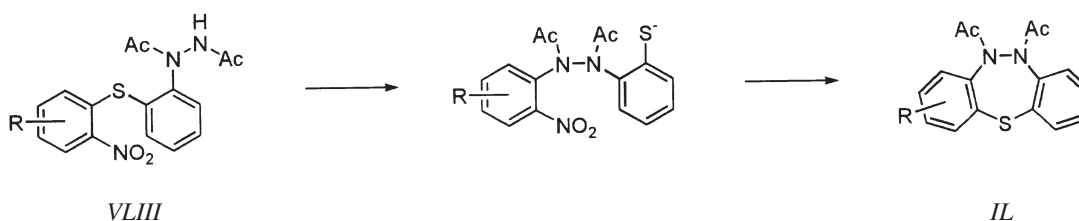


Schéma 18

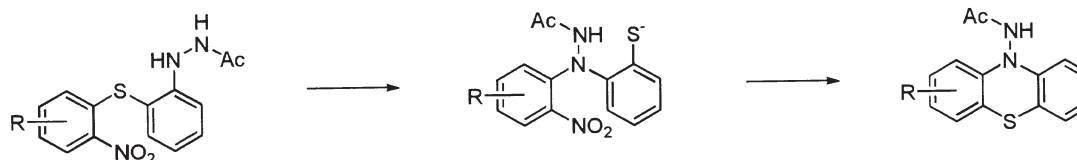
VLI

VLII



VLIII

IL



L

LI

Schéma 19

4. Cyklizace vedoucí k sedmičlenným kruhům

4.1. Reakce zahrnující atak kyslíkových nukleofilů

Jediným popsaným případem tohoto typu reakce je syntéza dibenz[*b,f*]azepinů VLII vycházející z příslušně substituo- vaného salicylaldehydu VLI a minimálně di-, nebo lépe trinitrotoluenu¹²⁰ (schéma 18).

4.2. Reakce zahrnující atak sírných nukleofilů

Diacetylderivát VLIII po krátkém zahřívání s uhlíčanem draselným v DMF poskytl vysoké výtěžky 5,6-dihydrodiben-

zo[1,4,5]thiadiazepinu¹²¹ IL (schéma 19). Přitom odpovídající monoacetylderivát L za těchto podmínek poskytuje dobré výtěžky *N*-aminofenothiazinu¹²² LI. Vznik obdobných šesti- členných cyklů je popsán i pro některé další acylderiváty¹²³.

5. Závěr

Z textu tohoto přehledného referátu plyne různorodost možností využití aromatických denitrocyklizačních reakcí v organické syntéze. Je však třeba zdůraznit, že řadu typů látek uvedených v tomto článku lze s obdobnými, nebo dokonce lepšími výsledky připravit jiným způsobem. Přesto ale je řada heterocyklických systémů, pro jejichž přípravu je denitrocyklizační přístup nejnvýhodnější. Jak již bylo řečeno v úvodu,

nemusí být výhodnost dána vysokým výtěžkem denitrocykličačního stupně, ale snadností celého sledu reakcí.

Jak je zdůrazňováno v textu, jsou první reakce tohoto typu starší než 100 let a letným pohledem do seznamu literatury lze zjistit, že v posledních letech nedochází k žádnému nárůstu publikací týkajících se tohoto tématu. Přesto jsem přesvědčen o tom, že v řadě případů se tato na první pohled neatraktivní a jednoduchá metodika může osvědčit i v mnoha jiných oblastech heterocyklické chemie, kde dosud nebyla vůbec zkoušena. Byl bych rád, kdyby ji tento přehled uvedl do povědomí heterocyklických chemiků jako přístup hodný uvážení při plánování syntézy.

LITERATURA

- Rádl S.: *Janssen Chim. Acta* 11, 12 (1993).
- Meyer V.: *Chem. Ber.* 26, 1250 (1893).
- Kemp D. S., Paul K. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 97, 7305 (1975).
- Hrib N. J., Jurcak J. G., Burgher K. L., Conway P. G., Hartman H. B.: *J. Med. Chem.* 37, 2308 (1994).
- Borsche W.: *Chem. Ber.* 42, 3596 (1909).
- Kövendi A., Kirez M.: *Chem. Ber.* 97, 1902 (1964).
- Andrievskii A. M., Poplavskii A. N., Dyumaev K. M.: *Khim. Geterotsykl. Soedin.* 1982, 703.
- Andrievskii A. M., Poplavskii A. N., Dyumaev K. M., Tchetskina L. A., Beľskii V. K., Bogatchev Y. S., Berestova S. S.: *Khim. Geterotsykl. Soedin.* 1987, 314.
- Jawdosink M., Kmíotek-Skarzynska I., Czarnecka E.: *Pol. J. Chem.* 52, 1837 (1978).
- Onysko P. P., Proklina N. V., Prokopenko V. P., Golobov Y. G.: *Zh. Org. Khim.* 23, 606 (1987).
- Makosza M.: *Synthesis* 1991, 103.
- D'Amico J. J., Tung C. C., Dahl W. E., Dahm D. J.: *J. Org. Chem.* 41, 3564 (1976).
- Rasheed K., Warkentin J. D.: *J. Org. Chem.* 42, 1265 (1977).
- Rasheed K., Warkentin J. D.: *J. Org. Chem.* 44, 267 (1979).
- Rasheed K., Warkentin J. D.: *J. Org. Chem.* 45, 4041 (1980).
- Rasheed K., Warkentin J. D.: *J. Heterocycl. Chem.* 18, 1581 (1981).
- Rasheed K., Warkentin J. D.: *J. Heterocycl. Chem.* 18, 1597 (1981).
- Spence T. W. M., Tennant G.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1972, 1835.
- Meyer V.: *Chem. Ber.* 22, 319 (1889).
- Borsche W.: *Chem. Ber.* 42, 601 (1909).
- Auwers K., Frese E.: *Chem. Ber.* 58, 1369 (1925).
- Borsche W., Diacont K.: *Liebigs Ann. Chem.* 510, 287 (1934).
- Ruggli P., Straub O.: *Helv. Chim. Acta* 21, 1084 (1938).
- Schimmelschmidt K., Hoffmann H.: *Liebigs Ann. Chem.* 677, 157 (1964).
- Prakash G., Mambhir I. R.: *J. Indian Chem. Soc.* 43, 529 (1966).
- Reich S., Nicolaeva V.: *Helv. Chim. Acta* 2, 84 (1919).
- Reich S., Nicolaeva V.: *Bull. Soc. Chim. Fr.* 25, 190 (1919).
- Rádl S., Konvička P., Váchal P.: *J. Heterocycl. Chem.* 37, 855 (2000).
- Maki Y., Izuta K., Suzuki M.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1971, 1442.
- Maki Y., Izuta K., Suzuki M.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1972, 298.
- Augustin W., Kröhnke F.: *Liebigs Ann. Chem.* 697, 158 (1966).
- Reuschling D.-B., Kröhnke F.: *Chem. Ber.* 104, 2103 (1971).
- Turpin G. S.: *J. Chem. Soc.* 59, 714 (1891).
- Ullman F., Engi G., Wossenesensky N., Kuhn E., Heine E.: *Liebigs Ann. Chem.* 366, 79 (1909).
- Ullman F., Sané S. B.: *Chem. Ber.* 44, 3730 (1911).
- Joshi S. S., Sané S. B.: *J. Indian Chem. Soc.* 10, 459 (1933).
- Boothroyd B., Clark E. R.: *J. Chem. Soc.* 1953, 1504.
- Predvoditeleva G. S., Shchukina M. N.: *Zh. Obshch. Khim.* 30, 1893 (1960).
- Sen A. B., Sharma R. C.: *J. Indian Chem. Soc.* 34, 877 (1957).
- Roberts K. C., Clark H. B.: *J. Chem. Soc.* 1935, 1312.
- Boothroyd B., Clark E. R.: *J. Chem. Soc.* 1953, 1499.
- Knyazev V. N., Drozd V. N., Mozhayeva T. Y.: *Zh. Org. Khim.* 16, 876 (1980).
- Misslin E., Bau A.: *Helv. Chim. Acta* 2, 285 (1919).
- Gruz J., Stránský Z.: *Acta Univ. Palacki Olomouc, Fac. Rerum. Natur.* 27, 321 (1968).
- Bonvicino G. E., Yogodzinski L. H., Hardy R. A.: *J. Org. Chem.* 26, 2797 (1961).
- Bonvicino G. E., Yogodzinski L. H., Hardy R. A.: *J. Org. Chem.* 27, 4272 (1962).
- Petrov V. A., Rewald E. L.: *J. Chem. Soc.* 1945, 313.
- Okafor C. O.: *J. Heterocycl. Chem.* 13, 107 (1976).
- Fromentin H., Hurion N.: *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 65, 282 (1972).
- Schriewer M., Grohe K., Zeiler H. J., Metzger K. G. (Bayer A.-G.): *DE 3 600 891; Chem. Abstr.* 107, 198345 (1987).
- Rádl S., Zikán V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 54, 506 (1989).
- Rádl S., Kovářová L., Moural J., Bendová R.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 56, 1937 (1991).
- Loudon J. D., McCapra F.: *J. Chem. Soc.* 1959, 1899.
- Oliver J. E.: *J. Heterocycl. Chem.* 21, 1073 (1984).
- Lee H. H., Denny W. A.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1990, 11071.
- Hewitt L. M., Carey J. H., Munkittrick K. R., Parrott J. L., Solomon K. R., Servos M. R.: *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 941 (1998).
- Hu K. B., Nigel J.: *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 13, 307 (1999).
- Klyuev N. A., Golovkov V. F., Chernov S. A., Brodskii E. S., Shuiskii G. M.: *Khim. Geterotsykl. Soedin.* 1994, 902.
- Merica S. G., Bunce N. J.: *Can. J. Chem.* 73, 826 (1995).
- Lee H. H., Palmer B. D., Boyd M., Baguley B. C., Denny W. A.: *J. Med. Chem.* 35, 258 (1992).
- Kende A. S., De Camp M. R.: *Tetrahedron Lett.* 33, 2877 (1975).
- Luebke M., Whitcombe M. J., Vulfson E. N.: *J. Am. Chem. Soc.* 120, 13342 (1998).

63. Sanborn J. R., Gee S. J., Gilman S. D., Sugawara Y., Jones A. D.: *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2407 (1998).
64. Mauthner F.: *Chem. Ber.* **38**, 1411 (1905).
65. Mauthner F.: *Chem. Ber.* **39**, 1340 (1906).
66. Pollak J., Riesz E. M.: *Monatsh. Chem.* **53**, 90 (1929).
67. Stevenson H. A., Smiles S.: *J. Chem. Soc.* **1931**, 718.
68. Turley J. C., Martin G. E.: *J. Heterocycl. Chem.* **18**, 431 (1981).
69. Caldwell S. R., Martin G. E., Simonsen S. H., Innes R. R., Willcott M. R.: *J. Heterocycl. Chem.* **18**, 479 (1981).
70. Martin G. E., Turley J. C., Williams L.: *J. Heterocycl. Chem.* **14**, 1249 (1977).
71. Martin G. E., Turley J. C., Williams L., Steenberg M. L., Buchley J. P.: *J. Heterocycl. Chem.* **14**, 1067 (1977).
72. Martin G. E., Turley J. C.: *J. Heterocycl. Chem.* **15**, 609 (1978).
73. Caldwell S. R., Turley J. C., Martin G. E.: *J. Heterocycl. Chem.* **17**, 1153 (1980).
74. Lindsay C. M., Smith K., Martin G. E.: *J. Heterocycl. Chem.* **24**, 211 (1987).
75. Davies J. S., Smith K., Turner J. R., Grymer G.: *Tetrahedron Lett.* **1979**, 5035.
76. Finzi C., Bellavita V.: *Gazz. Chim. Ital.* **66**, 421 (1936).
77. Hey D. H., Leonard J. A., Rees C. W.: *J. Chem. Soc.* **1962**, 4579.
78. Valkova G. A., Sakhno T. V., Shigorin D. N., Andrievskii A. M., Poplavskii A. N.: *Zh. Fiz. Khim.* **55**, 803 (1981).
79. Plakhtinskii V. V., Kresovskaya G. G., Abramova M. B., Mironov G. S., Migachev G. I., Yasinovskii O. A.: *Zh. Org. Khim.* **27**, 158 (1991).
80. Oda N., Yoshida Y., Nagai S.-I., Ueda T., Sakakibara J.: *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1796 (1987).
81. Yoshida Y., Nagai S., Oda N., Sakakibara J.: *Synthesis* **1986**, 1026.
82. Kehrman F.: *Chem. Ber.* **32**, 2601 (1899).
83. Kehrman F., Nossenko O.: *Chem. Ber.* **46**, 2809 (1913).
84. Roe A., Little W. F.: *J. Org. Chem.* **20**, 1577 (1955).
85. Onda M., Kawanishi M., Onishi S., Tominaga T., Kunugi Y., Sasamoto M., Suzuki M.: *Yakugaku Zasshi* **76**, 566 (1956).
86. Yale H. L., Sowinski F., Bernstein J.: *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 4375 (1957).
87. Galbraith R. J., Ingham R. K.: *J. Org. Chem.* **23**, 1804 (1958).
88. Nodiff E. A., Craig P. N.: *J. Org. Chem.* **26**, 824 (1961).
89. Mital R. L., Jain S. K.: *J. Chem. Soc. C* **1969**, 2148.
90. Mital R. L., Taunk P. C.: *Monatsh. Chem.* **102**, 760 (1971).
91. Gupta R. R., Jain K. S.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **49**, 2026 (1976).
92. Gupta R. R., Kalwania G. S., Kumar M.: *J. Heterocycl. Chem.* **21**, 893 (1984).
93. Sharma N., Gupta R., Kumar M., Gupta R. R.: *J. Fluorine Chem.* **98**, 153 (1999).
94. Gupta R. R., Kumar R.: *Heterocycles* **22**, 1169 (1984).
95. Davis F. A., Wetzal R. B.: *Tetrahedron Lett.* **1969**, 4483.
96. Gupta R. R., Ojha K. G., Kumar M.: *J. Heterocycl. Chem.* **17**, 1325 (1980).
97. Gupta R. R., Kalwania G. S., Kumar M.: *Heterocycles* **16**, 1527 (1981).
98. Gupta R. R., Kumar R.: *Synth. Commun.* **17**, 229 (1987).
99. Gupta R. R., Saraswat V., Gupta A., Jain M., Gupta V.: *J. Heterocycl. Chem.* **29**, 1703 (1992).
100. Saraswat V., Gupta A., Gupta V., Gupta R. R.: *Pharmazie* **48**, 620 (1993).
101. Mukherjrr S. J., Gautam D. C., Gupta A., Rathore R. S., Rai D., Gupta R. R.: *Pharmazie* **49**, 453 (1994).
102. Saggiomo A. J., Asai M., Schwartz P. M.: *J. Heterocycl. Chem.* **6**, 631 (1969).
103. Shavyrina V. V.: *Khim.-Farm. Zh.* **8**, 23 (1974).
104. Gupta R. R., Kumar R.: *Pharmazie* **41**, 830 (1986).
105. Florey K., Restivo A. R.: *J. Org. Chem.* **23**, 1018 (1958).
106. Gupta R. R., Jain M., Rathore R. S., Gupta A.: *J. Fluorine Chem.* **62**, 191 (1993).
107. Bunnett J. F., Okamoto T.: *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 5363 (1956).
108. Rádl S.: *Pharmacol. Ther.* **48**, 1 (1990).
109. Rádl S., Dax S.: *Curr. Med. Chem.* **1**, 304 (1994).
110. Rádl S., Bouzard D.: *Heterocycles* **34**, 2143 (1992).
111. Egawa H., Kataoka M., Shibamori K., Miyamoto T., Nakano J., Matsumoto J.: *J. Heterocycl. Chem.* **24**, 181 (1987).
112. Grohe K., Heitzer H.: *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 29.
113. Grohe K., Heitzer H.: *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 871.
114. Kang S. B., Park S., Kim Y. H., Kim Y.: *Heterocycles* **45**, 137 (1997).
115. Kehrman F., Messinger J.: *Chem. Ber.* **26**, 2372 (1893).
116. Leemann H., Grandmougin E.: *Chem. Ber.* **41**, 1306 (1908).
117. Kehrman F., Efront Y.: *Helv. Chim. Acta* **4**, 517 (1921).
118. Goswami N. K., Gupta R. R.: *Indian J. Chem., Sect. B* **21**, 365 (1982).
119. Reuschling D.-B., Kröhnke F.: *Chem. Ber.* **104**, 2110 (1971).
120. Hoyer H., Vogel M.: *Monatsh. Chem.* **93**, 766 (1962).
121. Corral C., Lissavetzky J., Quintanilla G.: *J. Org. Chem.* **47**, 2214 (1982).
122. Corral C., Lissavetzky J., Quintanilla G.: *J. Heterocycl. Chem.* **15**, 1137 (1978).
123. Corral C., Lissavetzky J., Quintanilla G.: *J. Heterocycl. Chem.* **15**, 969 (1978).

S. Rádl (*Research Institute for Pharmacy and Biochemistry, Prague*): **Aromatic Nucleophilic Denitrocyclization Reactions**

Sufficiently activated aromatic nitro groups are known to undergo replacement with various nucleophiles. Intramolecular version of this reaction is called aromatic denitrocyclization reaction. Five-, six-, seven-, and even eight-membered rings are formed with oxygen, sulfur, nitrogen, and carbon nucleophiles involved. The present review covers the most important reactions of this type, such as the Turpin reaction and similar methods of preparation leading to phenothiazines, dihydrophenazines, dithiines, and dioxines, as well as some less frequent interesting reactions of this type.

DERIVÁTY ELIPTICINU S CÍLENÝM PROTINÁDOROVÝM ÚČINKEM

MARIE STIBOROVÁ^a a EVA FREI^b

^aKatedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, ^bInstitut für Molekulare Toxikologie, Deutsches Krebsforschungszentrum, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg
e-mail: stiborov@prfdec.natur.cuni.cz

Došlo dne 6.II.2001

Klíčová slova: elipticin, mechanismus působení, cíleně směřovaná protinádorová léčiva

Obsah

1. Elipticiny a jejich protinádorové účinky
2. Derivatizace molekuly elipticinu
3. Charakterizace cíleně směřovaných derivátů elipticinu
 - 3.1. Konjugát derivátů elipticinu s heptagastrinem
 - 3.2. Konjugáty elipticinu a 9-hydroxyelipticinu s enkefaliny
 - 3.3. Konjugáty elipticinu s estradiolem
 - 3.4. Konjugáty elipticinu se sacharidy
 - 3.5. Komplexy esterů elipticinu s lipoproteiny
 - 3.6. Konjugát elipticinu s lidským sérovým albuminem
4. Závěr

1. Elipticiny a jejich protinádorové účinky

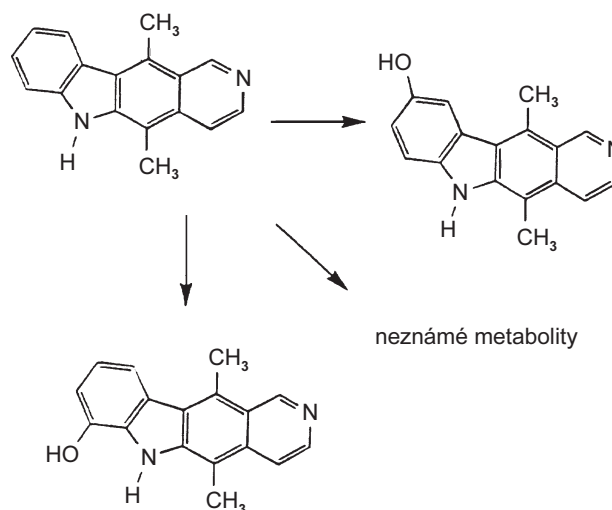
Elipticin (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazol, obr. 1) a některé jeho deriváty jsou alkaloidy rostlin čeledi *Apocynaceae* vykazující významnou protinádorovou aktivitu¹⁻⁴. Elipticin samotný a jeho deriváty 9-hydroxyelipticin a 9-hydroxy-2-methylelipticin (ve formě acetátu) jsou užívány zejména k léčení pokročilého karcinomu prsu s kostními metastázami, akutní myeloblastické leukémie, sarkomů ledvin a karcinomu štítné žlázy⁵⁻¹⁰. Důvody zájmu o klinické využití elipticinu jsou dva: 1) vysoká účinnost proti nádorovým onemocněním (elipticin je cytotoxický vůči nádorovým buňkám již v koncentracích řádově rovných 0,1–1 μM) a 2) jeho relativně nízké vedlejší toxické účinky. Limitující toxicitou je xerostomie (asialie), která může vyvolávat další nežádoucí účinky (monilázy, anorexie)⁹. Až na nefrotoxicitu podobnou svým mechanismem vzniku nefrotoxicitě cisplatinu, jsou další vedlejší toxické účinky elipticinu minimální. Hematologická toxicita je dokonce prakticky nulová^{9,11}.

V organismu potkana je elipticin metabolizován oxidačními reakcemi za tvorby 9-hydroxyelipticinu a 7-hydroxyelipticinu jakožto majoritních metabolitů¹² (obr. 1). C-Hydroxylace elipticinu v poloze C9 přitom vede ke zvýšení farmakologického účinku parentální molekuly, naopak v poloze C7

k jeho snížení¹³. Cytochromy P450 (CYP) jsou stěžejními enzymy, které elipticin či jeho deriváty metabolizují; CYP1A1 ev. CYP1A2 jsou přitom považovány za enzymy oxidující elipticiny nejefektivněji. Nelze však vyloučit, že se na metabolismu elipticinu mohou podílet i další, dosud nezjištěné¹²⁻¹⁶ isoenzymy cytochromu P450. Zda jsou elipticiny oxidovány uvedenými enzymy i v lidském organismu, nebylo dosud potvrzeno; k objasnění této problematiky je třeba dalších, detailnějších studií. Důležitým poznatkem ve vztahu k cytochromům P450 je rovněž skutečnost, že elipticin působí jako induktor jeho dvou isoenzymů, CYP1A1 a CYP1B1 (cit.^{17,18}).

Elipticin a jeho 9-hydroxyderivát jsou silnými mutageny vykazujícími mutagenní aktivitu vůči kmenům *Salmonella typhimurium*, *Neurospora crassa*, *Escherichia coli* a jsou mutagenní i vůči buňkám savcím¹⁹.

Elipticiny patří do skupiny protinádorových léčiv, jejichž mechanismus účinku není ještě přesně rozluštěn. Předpokládá se, že převládajícími mechanismy protinádorového účinku jsou *i*) interkalace do dvojšroubovicové struktury DNA, která vyplývá z velikosti a tvaru molekuly elipticinu a *ii*) jeho působení jako inhibitor topoisomerasy II (cit.¹³). Interkalace elipticinu je způsobena slabými reverzibilními hydrofobními interakcemi mezi spárovanými bázemi molekuly DNA (cit.¹³). Interakce mezi methylovou skupinou elipticinu a thyminem v interkalačním místě je určující pro orientaci této sloučeniny v DNA (cit.²⁰). Vzhledem ke svým fluorescenčním vlastnostem slouží elipticin i v řadě studií řešících obecné principy interkalace jako modelová sloučenina^{20,21}. Poznání mechanismu působení elipticinu jako inhibitoru topoisomerasy II je rovněž předmětem intenzivního výzkumu²²⁻²⁴. Elipticin, oproti jiným inhibitorům topoisomerasy II, interaguje buď s molekulou DNA nebo s proteinem topoisomerasy II za tvorby ternárního komplexu. Vzniklý ternární komplex, který je katalyticky inaktivní, pak výsledně vede ke stimulaci tvorby řetězových zlomů v DNA (cit.²⁴).



Obr. 1. Schéma metabolické oxidace elipticinu

Zajímavým zjištěním, které může k vysvětlení mechanismu protinádorového působení elipticinu také přispět, je poznatek, že elipticin a 9-hydroxyelipticin způsobují selektivní inhibici fosforylace produktu tumorového supresorového genu, proteinu p53 (cit.²⁵). Inhibice fosforylace proteinu p53 je pravděpodobně způsobena inhibicí specifické cyklin-dependenční kinasy (cit.²⁵). Nahromadění defosforylovaného proteinu p53 pak může vyústit v indukci apoptózy. Vedle uvedených mechanismů může elipticin fungovat i mechanismem dalším. Inhibuje oxidační fosforylaci, která vede ke drastickému snížení obsahu ATP v buňkách, což rezultuje v jejich zániku²⁶. Působí také jako inhibitor telomerasy¹³.

Všechna uvedená vysvětlení mechanismu protinádorové aktivity elipticinů jsou založena na nesespecifickém působení. Tato skutečnost však ostře kontrastuje s poměrně úzkou specifitou jejich účinku vůči nádorovým onemocněním. Jsou specifické pouze k určitým typům neoplasie. Velmi důležitým aspektem pozorovaným při terapii užívající elipticiny je navíc individuální variabilita v odpovědi pacientů na podané léčivo. Účinek elipticinů je tedy specifický i pro individuální osoby (pacienty). Je tudíž nanejvýš pravděpodobné, že specifické působení elipticinu musí vycházet (být odvozeno) ještě z principů jiných, dosud neodhalených. Jedním z vysvětlení specifity chemoterapeutického účinku i selektivní odpovědi na podané léčivo může být rozdílná enzymová výbava lidského organismu takovými enzymy, které jsou důležité pro biotransformaci elipticinu. Příslušné enzymy mohou aktivovat léčivo na terapeuticky účinnější derivát, který pak buňky novotvaru poškozují efektivněji, popř. způsobí až jejich likvidaci.

Souvislostí mezi metabolickou aktivací elipticinu a jeho působením jako protinádorového léčiva se dosud nikdo detailně nezabýval. Interkalovány jsou totiž samotný elipticin či jeho majoritní metabolit 9-hydroxyelipticin (nebo další terapeuticky užívané deriváty), a to bez jejich aktivace. Také vazba těchto sloučenin na DNA a topoisomerasu II vedoucí k tvorbě řetězových zlomů v DNA nevyžaduje jejich metabolické změny. Zda protinádorová chemoterapeutika na bázi elipticinů působí také prostřednictvím mechanismu, který je podmíněn jejich metabolickou aktivací, řešíme v grantovém projektu podporovaném GA ČR (grant 203/01/0996).

V předkládaném článku shrnujeme poznatky o nových trendech využití elipticinových derivátů jako kancerostatik. V tomto případě se jedná o poznatky informující o vývoji účinnějších elipticinových protinádorových léčiv, která jsou cíleně specifická vůči nádorovým buňkám.

2. Derivatizace molekuly elipticinu

V řadě laboratoří byla připravena široká škála derivátů základního skeletu elipticinu. Účelem takových úprav molekuly elipticinu bylo především: *i*) zvýšení protinádorového účinku, *ii*) modulace hydrofobicity molekuly ve smyslu zvýšené rozpustnosti, ale i účinnější absorpce léčiva nádorovými buňkami a *iii*) zvýšení selektivity léčiva pro nádorové buňky, tedy příprava cíleně směřovaného protinádorového léčiva na bázi elipticinu.

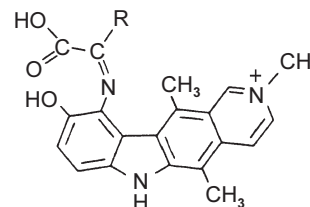
Významným místem pro derivatizaci elipticinového skeletu je atom uhlíku v poloze 9 molekuly léčiva. Zvýšený protinádorový účinek vykazují deriváty elipticinu substituované v této poloze, a to hydroxylovaný derivát, který je rovněž

majoritním metabolitem elipticinu v lidském organismu, dále pak 9-methoxyelipticin a 9-chlorelipticin. Další místo důležité pro derivatizaci molekuly elipticinu je atom dusíku v poloze 2. 9-Hydroxy-2-methylelipticinium (ve formě acetátu) je proti nádorům prsu s kostními metastázami i jako léčivo protileukemické nejučinnějším derivátem elipticinu. Další derivát, 9-methoxy-2-methylelipticinium-acetát, je cytotoxický vůči buněčným liniím nádorů mozku, experimenty *in vivo* však neprokázaly jeho účinnost vůči pevným nádorům²⁷. Naproti tomu 9-chlor-2-methylelipticinium-acetát je vůči pevným nádorům mozku vysoce efektivní.

Výše uvedené derivatizace molekuly elipticinu vedou nejen ke zvýšení protinádorové účinnosti, ale derivatizací je silně pozměněn i hydrofobní charakter léčiva. U léčiva musí být zachován optimální poměr mezi jeho hydrofobními a hydrofilními vlastnostmi. Nízká rozpustnost snižuje možnost jeho distribuce v organismu, a ovlivňuje se tak i jeho farmakokinetika a farmakodynamika. Vysoká polarita pak naopak snižuje transport léčiva přes buněčnou membránu do buněk. Elipticin je efektivně transportován přes buněčnou membránu, a to prostou, pasivní difuzí. Derivatizace na dusíku v poloze 2 vytváří z molekuly elektricky nabitou částici, uvedené deriváty elipticinu jsou proto používány ve formě solí, nejčastěji ve formě acetátu. Zmíněnou derivatizací dochází sice k lepší distribuci léčiva v organismu, naopak však k výraznému zhoršení transportních vlastností léčiva přes buněčnou membránu. Takto velká nabitá a hydrofilní molekula je přes buněčnou membránu transportována mnohem hůře než elipticin samotný. Pro odstranění tohoto jevu byly připraveny konjugáty 9-hydroxy-2-methylelipticinia s hydrofobními aminokyselinami glycinem, alaninem, kyselinou α -aminomáselnou, valinem, leucinem a isoleucinem navázanými na uhlík 10 molekuly léčiva^{28,29}. Struktura takových derivátů je uvedena na obr. 2. Všechny konjugáty s aminokyselinami byly do nádorových buněk transportovány efektivněji (podobně jako elipticin pasivní difuzí), většina konjugátů (vyjma konjugátu s isoleucinem) však vykazovala nižší protirakovinnou účinnost^{28,29}.

Ke zvýšení rozpustnosti elipticinu byly rovněž využity komplexy elipticinu (a jeho 9-hydroxyderivátu) s γ - a β -cyklodextriny. Elipticiny nekovalentně vázané do cyklodextrinů však nebyly testovány z hlediska jejich transportních vlastností (distribuce) v organismu ani z hlediska jejich kancerostatických účinků³⁰.

Optimálním řešením úpravy molekuly protirakovinného léčiva ve smyslu změny jeho vlastností nejen fyzikálně-chemických, ale i biologických a terapeutických, je příprava cíleně směřovaných derivátů léčiv. Takové úpravy léčiva vedou ke zlepšení jeho distribuce v lidském organismu, op-



Obr. 2. Struktura konjugátů 9-hydroxy-2-methylelipticinia (NMHE) s aminokyselinami: Gly-NMHE, R = H; Ala-NMHE, R = CH₃; Val-NMHE, R = CH-(CH₃)₂; Lue-NMHE, R = CH₂CH(CH₃)₂

timálně bez vlivu na zdravé buňky a k selektivnímu příjmu léčiva pouze nádorovými buňkami.

3. Charakterizace cíleně směřovaných derivátů elipticinů

Většina kancerostatik jsou nízkomolekulární látky, které nepůsobí místně specificky a relativně rychle se vylučují z organismu. Protože je třeba zajistit působení léčiva ve vhodné terapeuticky účinné koncentraci po delší dobu, je nezbytné podávat vhodnou dávku léčiva opakovaně, v určitých časových intervalech. I v takovém případě však léčivo nepůsobí pouze v místě požadovaného terapeutického efektu, tedy pouze na nádorové buňky. S tím je spojeno riziko vedlejších, často toxických účinků léčiva, které jsou právě u kancerostatik velmi závažným problémem. To vše platí i pro elipticin a jeho deriváty. I když jsou vedlejší toxické účinky elipticinu nižší než u jiných protirakovinných léčiv, je jejich snížení pro zdravé buňky organismu stále vysoce žádoucí a aktuální.

Jeden ze směrů přípravy cíleně směřovaných kancerostatik využívá jejich navázání na nosič obsahující tzv. determinantu cíleného transportu (cíleného účinku)^{31,32}. Výsledkem je konjugát léčiva s determinantou. Determinantou cíleného účinku je molekula, která je schopná rozpoznat povrchové receptory nádorových buněk, a k těmto receptorům celou molekulu (konjugát) specificky zavést. Kancerostatikum je v tomto případě dopravováno organismem ve své, v ideálním případě biologicky neaktivní formě, a k jeho vlastní aktivaci dochází až po průniku konjugátu do cílových nádorových buněk.

Úspěšné cíleně směřované léčivo musí splňovat následující kritéria:

- 1) Léčivo musí být cíleně směřované k receptoru, který je v nádorových buňkách přítomný v signifikantně vyšším množství než v buňkách zdravých tkání. Determinanta cíleného účinku musí mít navíc k receptorům, které jsou přítomné na povrchu nádorových buněk, vysokou afinitu.
- 2) Receptor se po rozštěpení konjugátu v nádorové buňce uvolní a měl by být zpětně recyklován do buněčného povrchu, aby mohl být opět léčivem rozpoznán. Je třeba, aby působil jako „pumpa“, která transportuje větší množství léčiva do buněk. Tento požadavek je obzvlášť důležitý, neboť počet molekul receptorů v cílové buňce zřídka přesahuje hodnotu 10^6 (cit.³³).
- 3) Konjugát musí být v průběhu cirkulace (transportu) léčiva v organismu stabilní; naproti tomu musí být snadno hydrolyzován lysosomálními hydrolytickými enzymy.
- 4) Účinná složka konjugátu (vlastní nemodifikované kancerostatikum) musí vykazovat extrémně vysokou toxicitu uvnitř nádorových buněk s hodnotami IC_{50} v rozmezí nM– μ M.
- 5) Konjugát nesmí vykazovat imunogenní aktivitu (musí být neimmunogenní).

Návrh a syntéza nadějných přípravků s cíleným kancerostatickým účinkem vychází z využití receptorů pro *i*) růstové faktory^{34–36}, *ii*) cytokiny^{37,38}, *iii*) steroidní i peptidové hormony^{39,40} nebo *iv*) monoklonální protilátky⁴¹ či využití lektinů – tedy ve všech případech domén přítomných na povrchu určitých typů nádorových buněk. Jinou možností je využití skutečnosti, že některé typy nádorových buněk vyžadují pro svůj růst a vývoj či proliferaci určité sloučeniny (nízko- i vy-

sokomolekulární) v daleko vyšších koncentracích než buňky zdravých tkání. Takové sloučeniny pak mohou být využity jako nosiče protinádorově účinné látky.

Elipticin a některé jeho deriváty se jeví jako kancerostatika vhodná pro přípravu cíleně směřovaných protinádorových léčiv. Jak již bylo uvedeno, jedná se o silně hydrofobní sloučeninu s výraznou cytotoxicitou pro nádorové buňky a poměrně nízkými vedlejšími účinky.

Do současnosti byla popsána příprava několika konjugátů elipticinu, které byly testovány jako potenciální cíleně směřovaná protirakovinná léčiva.

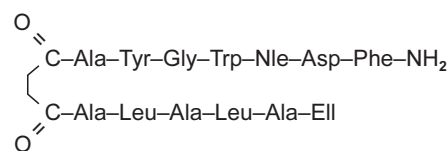
3.1. Konjugát derivátu elipticinu s heptagastrinem

V roce 1998 bylo Michejdou a jeho spolupracovníky⁴² popsáno, že gastrointestinální (GI) hormon, gastrin, stimuluje růst některých gastrointestinálních nádorů. Receptor typu B pro uvedený hormon (gastrin) a eventálně rovněž pro cholecystokinin je exprimován v mnoha druzích uvedených nádorů. Tento receptor patří do rodiny receptorů spojených s G proteinem, pro něž je charakteristická přítomnost sedmi transmembránových domén. Gastrin cirkulující v organismu je peptid, u něhož je pro vazbu na jeho specifický receptor absolutně nezbytný C-terminální tetrapeptid. Na bázi výše uvedených poznatků byl Michejdovou pracovní skupinou připraven konjugát C-terminálního heptapeptidu gastrinu (heptagastrin Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH₂), který byl připojen k derivátu elipticinu, 1[3-[N-(3-aminopropyl)-N-methylamino]propyl]amino-(9-methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazolu, prostřednictvím sukcinylovaného pentapeptidu Ala-Leu-Ala-Leu-Ala (obr. 3). Elipticin je vázán k terminálnímu alaninu přes atom dusíku v poloze 2 elipticinového skeletu.

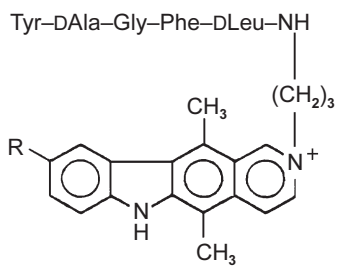
Syntetizovaný konjugát se specificky váže na receptor pro gastrin/cholecystokinin přítomný v NHI/3T3 buňkách, zatímco s povrchem divokého typu těchto buněk (neobsahujících receptor) neinteraguje. Endocytosou (pinocytosou) je komplex konjugátu s receptorem transportován do buněk a ukládán do endosomů. Receptor je s velkou efektivitou recyklován do buněčného povrchu, zatímco peptidový ligand (konjugát) dosahuje lysosomy. Pravděpodobně právě v lysosomech je pak konjugát degradován, a volný elipticin pak může v nádorové buňce působit jako cytotoxické agens⁴².

3.2. Konjugáty elipticinu a 9-hydroxyelipticinu s enkefaliny

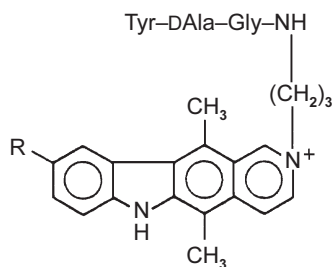
Enkefaliny (Leu-enkefalin, Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, a Met-enkefalin, Tyr-Gly-Gly-Phe-Met) patří spolu s β -endorfinem mezi peptidové hormony, které působí na centrální nervovou soustavu podobně jako opiáty. Jsou proto někdy označovány jako opioidní (opiátové) peptidy. Vážou se na opiátové receptory mozkových buněk, jsou jejich fyziologickými agonisty.



Obr. 3. Konjugát elipticinu s heptagastrinem

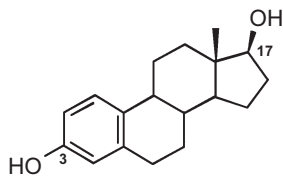
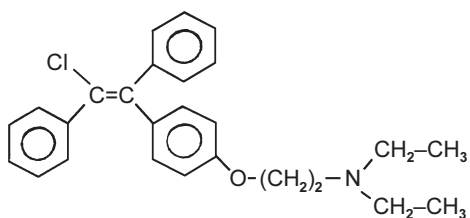


R=H DADLE-NME
R=OH DADLE-NMHE

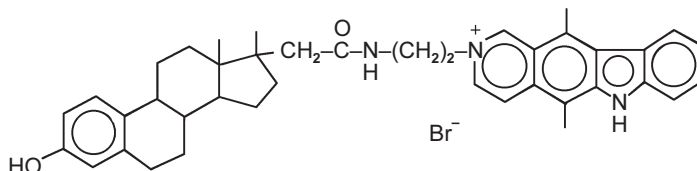


R=H TAG-NME
R=OH TAG-NMHE

Obr. 4. Chemická struktura konjugátů elipticinů s enkefalinem (DADLE, D-Ala²-D-Leu⁵-enkefalin, Tyr-D Ala-Gly-Phe-D Leu-NH-(CH₂)₃-elipticin, NME, N²-methylelptictin, NMHE, 9-hydroxy-N²-methylelptictin)



Obr. 5. Struktura (*E*)-clonifenu a estradiolu



Obr. 6. Konjugát eliptictinu s estradiolem

Zajímavé je zjištění, že lidské kolo-rektální karcinomy^{43,44} a malobuněčné plicní karcinomy⁴⁵, které jsou silně chemo-rezistentní, obsahují vysoké koncentrace enkefalinů a jejich receptorů. Těchto poznatků bylo využito Rigaudem se spolupracovníky^{41,46}, kteří připravili konjugáty uvedených peptidů s elipticinem a jeho 9-hydroxyderivátem. Struktura syntetizovaných konjugátů je uvedena na obrázku 4.

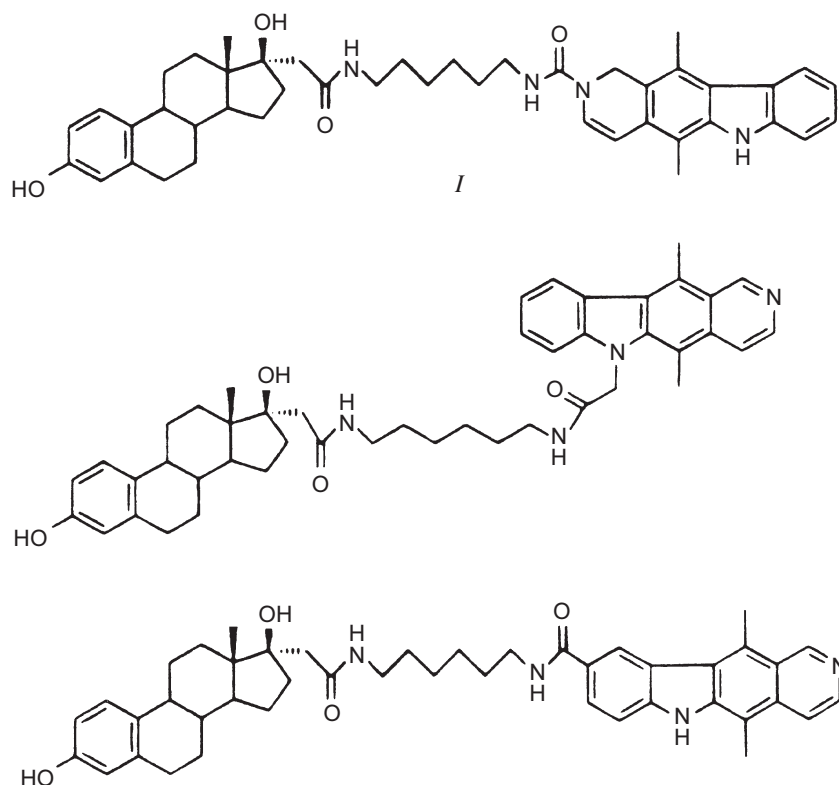
Připravené konjugáty, kterým zůstala zachována schopnost tvořit interkaláty s DNA, interagují s enkefalinovými receptory *in vitro* a jsou transportovány do nádorových buněk obsahujících uvedené receptory. Interakce s receptory je však velmi slabá a konjugáty vstupují i do buněk, které enkefalinové receptory neobsahují. Pro úspěšné cíleně směřované léčivo, které je připraveno na bázi směřování pro určitý receptor, je důležité, aby ta část molekuly konjugátu (kovaletního komplexu), která je vlastní aktivní složkou léčiva (elipticin) nehrála dominantní úlohu v transportu konjugátu. V případě konjugátů elipticinů s enkefaliny je pravděpodobné, že ztratil vlastnosti nezbytné pro rozpoznání receptorem. Elipticinová část molekuly převažuje z hlediska významu pro transport konjugátu do buněk, který je právě touto složkou zprostředkován pasivní difuzí (hydrofobní povaha molekuly léčiva)^{41,46}. Uvedené konjugáty tedy nemohou být využity jako cíleně směřovaná cancerostatika.

3.3. Konjugáty eliptictinu s estradiolem

Růst endometria a téměř 30 % nádorů prsu je stimulován estrogény. Z klinických studií vyplývá, že antagonisté estrogenů, antiestrogeny, mohou být užity k léčení nádorů závislých na estrogenech. Buněk některých nádorů prsu (např. karcinomu prsu) obsahují receptory pro estrogény (jsou estrogen-receptor pozitivní) a významně koncentrují estrogény v buněčném jádře^{47,48}. Mechanismus působení estrogenů a ev. také antiestrogenů je vysvětlován především jejich interakcí s celulárními receptory, které jsou pravděpodobně lokalizované v cytoplazmě i jádře buněk. Jak vyplývá z výše uvedeného, estrogény a jejich antagonisté, antiestrogeny, by mohly být rovněž potenciálně dobrými přenašeči cancerostatik do buněk a dále do jader bohatých na receptory. Konkrétně cancerostatik, jejichž cílem jsou molekuly DNA.

K syntéze konjugátů eliptictinů s estrogény a antiestrogeny bylo použito antiestrogenu (*E*)-clomifenu [1-[4-[2-(diethylamino)ethoxy]-phenyl]-1,2-diphenyl-2-chloroethylen], obr. 5] a estrogenního hormonu estradiolu^{47,48} (obr. 5). Z mnoha syntetizovaných konjugátů pouze jediný (obr. 6) vykazoval stejnou cytotoxickou aktivitu jako elipticin⁴⁸. Jeho využití jako cíleně směřovaného léčiva na bázi eliptictinu je však omezené. Transport uvedeného aktivního derivátu do nádorových buněk totiž není zprostředkován receptory pro estrogény⁴⁸.

Dalšími konjugáty eliptictinů s estrogény jsou tři sloučeniny, které byly syntetizovány z eliptictinu a estradiolu Devrajem



Obr. 7. Struktura konjugátů elipticinu s estradiolem

se spolupracovníky⁴⁷ (obr. 7). Ani v tomto případě nebyly připravené konjugáty úspěšnými cíleně směřovanými kancerostatiky. I když jeden z konjugátů (sloučenina I na obrázku 7) je dobrým inhibítorem topoisomerasy II a jeho cytotoxicita vůči nádorovým buňkám je vysoká, tento konjugát nevykazuje selektivitu k estrogen-pozitivním buněčným liniím. Uvedená skutečnost pravděpodobně vyplývá ze slabé afinity konjugátu k estrogenním receptorům, která je způsobena modifikací molekuly estradiolu derivátem elipticinu⁴⁷.

3.4. Konjugáty elipticinu se sacharidy

Podrobná studie konjugátů velké skupiny monosacharidů s elipticinu (elipticin, 9-hydroxyelipticin, 9-methoxyelipticin) (49 konjugátů) provedená Hondou se spolupracovníky⁴⁹ prokázala, že cukerná složka zvýšila terapeutickou účinnost léčiva. Všechny studované konjugáty mají cukernou složku vázanou na atom dusíku v poloze 2 elipticinového skeletu, jde tedy o kvarterní glykosidy. Dva ze studovaných glykosidů (L-arabinopyranosid a D-xylofuranosid 9-hydroxyelipticinu) jsou velmi slibnými kancerostatiky, jejichž účinnost vůči některým modelovým buněčným nádorovým liniím (L1210 leukemické linie, P388 leukemické linie, buňky B16 melanomu) je několikanásobně vyšší, než je účinnost elipticinu samotných⁴⁹. Mechanismus zvýšené účinnosti syntetizovaných glykosidů ani selektivita sorpce těchto látek nádorovými buňkami (cílové receptory) nebyly dosud studovány. O dalších preklinických studiích s uvedenými glykosidy, které byly autory v citované literatuře⁴⁹ slibovány, však dodnes nejsou informace.

3.5. Komplexy esterů elipticinů s lipoproteiny

Příprava dalších cílově směřovaných léčiv na bázi elipticinu vychází ze zcela jiného principu, než jsou principy výše popsané. Nádorové buňky, které se rychle replikují a nekontrolovaně proliferují, vyžadují pro syntézu buněčné membrány značná množství cholesterolu. Cholesterol musí být buď syntetizován z dvouhlíkatých jednotek *de novo* nebo může být dodán z degradovaných plazmatických lipoproteinů (low-density lipoprotein, LDL), jejichž je součástí. Nádorové buňky přitom obsahují receptory pro LDL a metabolizují tyto lipoproteiny daleko rychleji, než jsou lipoproteiny metabolizovány buňkami zdravými⁵⁰⁻⁵². LDL tedy mohou být využity jako nosič protirakovinných léčiv. Částice LDL s léčivými jsou komplexy, do kterých jsou léčiva inkorporována nekovalentními (hydrofobními) interakcemi. Hydrofobicita léčiva musí tedy být výrazná. Samotné komplexy LDL s léčivem jsou značně stabilní při transportu organismem, a dosahují tak cílové buňky v nezměněné podobě.

Derivát elipticinu (9-hydroxy-2-methylelipticinium-acetát) byl použit jako kancerostatická součást komplexů s LDL. Jeho polarita však neumožňovala inkorporaci do LDL. Proto byly z této sloučeniny syntetizovány estery s kyselinou stearovou, palmitovou a oleovou (estery kyselin s hydroxylovou skupinou v poloze 9 elipticinového skeletu). Jejich hydrofobicita pak již byla pro inkorporaci do LDL dostatečná. Z připravených esterů se do LDL nelépe inkorporoval oleát. Jeho komplex s LDL byl efektivně transportován po interakci s re-

ceptorem do nádorových buněk endocytosou, jeho cytotoxicita byla vyšší, než byla cytotoxicita volného léčiva⁵¹. Rovněž experimenty *in vivo* na myších melanomech B16 byly úspěšné⁵².

3.6. Konjugát elipticinu s lidským sérovým albuminem

Strategickým postupem ve zvýšení protirakovinné selektivity kancerostatik je využití transportních proteinů. Vhodným proteinem pro cíleně směřovanou kancerostatika se jeví sérový albumin. Lidský sérový albumin je vysokomolekulární látka o molekulové hmotnosti 66500. Již sama skutečnost, že jde o sloučeninu o vysoké molekulové hmotnosti, má určitý význam pro její využití jako nosiče kancerostatik. U konjugátů kancerostatik s vysokomolekulárním nosičem má totiž již samotná vysoká molekulová hmotnost proteinového nosiče pozitivní vliv na distribuci léčiva v organismu. Vede k až několikanásobnému zvýšení koncentrace konjugovaného léčiva v pevných nádorech ve srovnání s volným léčivem. Jde o tzv. pasivní směřování (passive tumor targeting) v důsledku EPR efektu (enhanced permeability and retention effect)⁵³. Vedle toho je lidský sérový albumin (HSA) vhodný jako proteinový přenašeč ještě z dalších důvodů.

- 1) Je pohlcován (absorbován) nádorovými buňkami specificky, zatímco k buňkám zdravých tkání má tento protein afinitu mnohonásobně nižší^{53,54}.
- 2) Je snadno dostupný protein, v organismu optimálně biologicky stabilní.
- 3) V nádorových buňkách je snadno degradován⁵³.
- 4) Pro lidský organismus je netoxický a neimunogenní⁵³.

Konjugát lidského sérového albuminu s elipticinem (HSA-elipticin) byl připraven teprve nedávno⁵⁵. Nádorovými buňkami (linie leukemických buněk Nalm6) je selektivně a efektivně přijímán a v buňkách pak hydrolyzován na volné léčivo a proteinový nosič⁵⁵. Vykazuje vysokou cytotoxicitu vůči testovaným nádorovým buňkám, obdobnou jako volný elipticin ($IC_{50} = 2 \mu M$). Ačkoliv jeho účinnost v experimentech *in vivo* nebyla prozatím studována, z testování na buněčných liniích *in vitro* se jeví jako nadějně cíleně směřované léčivo⁵⁶.

4. Závěr

Předkládaný článek ukazuje nové směry vývoje a přípravy cíleně směřovaných léčiv na bázi elipticinu a zobecňuje poznatky o vlastnostech, které taková léčiva musí splňovat. Zhodnocení kvality cíleně směřovaných derivátů elipticinu jako kancerostatik s cíleným účinkem je však v současnosti ještě poněkud obtížné. Z výše uvedených poznatků vyplývá, že nově syntetizovaných derivátů, které vykazují zvýšený protinádorový efekt a selektivitu, je doposud malý počet. Navíc, řada těchto derivátů nebyla ještě dostatečně testována ani v klinických studiích, ba ani v experimentech *in vivo*, na živočišných modelech. Nicméně terapeuticky slibné se zdají být především konjugáty elipticinu s heptagastrinem a elipticinu s lidským sérovým albuminem. Proto je příprava obou typů léčiv také předmětem patentních řízení^{42,56}. Vedle potenciálního terapeutického využití, předpokládáme jejich použití i k osvětlení mechanismu protinádorového účinku elipticinu, jehož podstatu v našich laboratorních detailně studujeme.

Autorky děkují za podporu Německému centru výzkumu rakoviny a grantům GA ČR (203/01/0996) a MŠMT ČR (MSM 1131 00001).

LITERATURA

1. Dalton L. K., Demerac S., Elmes B. C., Loder J. W., Swan J. M., Teitei T.: *Aust. J. Chem.* 20, 2715 (1967).
2. Le Pecq J. B., Dat Xuong N., Gosse C., Paoletti C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71, 5078 (1974).
3. Rouesse J. G., Le Chevalier T., Caille F., Mondesir J. M., Sancho-Ganier H., May-Levin E., Spielman M., DeJager R., Amiel J. L.: *Cancer Treat. Rep.* 69, 707 (1985).
4. Mathé G., Triana K., Pontiggia P., Blanquet D., Hallard M., Morette C.: *Biomed. Pharmacother.* 52, 391 (1998).
5. Juret P., Tanguy A., Girard A.: *Nouv. Presse Med.* 8, 1495 (1979).
6. Juret P., Heron J. F., Couette J. E., Delozier T., Letalae J. Y.: *Cancer Treat. Rep.* 66, 1909 (1982).
7. Mathé G., Hayat M., De Vassal F., Schwarzenberg L., Schneider M., Schlumberger J. R., Jasmin C., Rosenfeld C.: *Rev. Eur. Etud. Clin. Biol.* 15, 541 (1970).
8. Caillé P., Monesir J. M., Droz J. P., Kebrt P., Goodman A., Ducret J. P., Theodore C., Spelman M., Rouesse J., Amiel J. L.: *Cancer Treat. Rep.* 69, 901 (1985).
9. Klener P.: *Protinádorová chemoterapie*. Galén, Praha 1996.
10. Arguello F., Alexander M. A., Greene J. F. Jr., Stinson S. F., Jordan J. L., Smith E. M., Kalavar N. T., Alword W. G., Klabansky R. L., Sausville E. A.: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 124, 19 (1998).
11. Diop B., Toure P., Sow M. T., Toure M., Halliez M. L., Castaigner J. P., Monesir J. M., DeJaeger R.: *Med. Afr. Noire* 31, 107 (1984).
12. Lesca P., Monsarrat B., Cros S., Paoletti C.: *J. Natl. Cancer Inst.* 67, 871 (1981).
13. Auclair C.: *Arch. Biochem. Biophys.* 259, 1 (1985).
14. Stiborová M., Hudeček J., Hodek P., Frei E.: *Chem. Listy* 93, 229 (1999).
15. Lesca P., Beauner P., Monsarrat B.: *Chem.-Biol. Interactions* 36, 299 (1981).
16. Tassaneeyakul W., Birkett D. J., Veronese M. E., McManus M. E., Tukey R. H., Gelboin H. V., Miners J. O.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265, 401 (1993).
17. Gasiewicz T. A., Kende R. S., Rucci G., Whitney B., Willey J. J.: *Biochem. Pharmacol.* 52, 1787 (1996).
18. Chang C.-Y., Puga A.: *Mol. Cell. Biol.* 18, 525 (1998).
19. De Marini D. M., Abu-Shakra A., Gupta R., Hender L. J., Levine J. E.: *Environ. Mol. Mutagen.* 20, 12 (1992).
20. Singh M. P., Hill G. C., Peoc'h D., Rayner B., Imbach J. L., Lown J. W.: *Biochemistry* 33, 10271 (1994).
21. Chu Y., Hsu M. T.: *Nucleic Acid Res.* 20, 4033 (1992).
22. Monnot M., Mauffret O., Simon V., Lescot E., Psaume B., Saucier J. M., Charra M., Belehradek J. Jr., Fermandjian S.: *J. Biol. Chem.* 25, 1820 (1991).
23. Fosse P., Rene B., Chrra M., Paoletti C., Saucier J. M.: *Mol. Pharmacol.* 42, 590 (1992).
24. Froelich-Ammon S. J., Patchan M. W., Osheroff N., Thopson R. B.: *J. Biol. Chem.* 270, 14998 (1995).
25. Ohashi M., Sugikawa E., Nakanishi N.: *Jpn J. Cancer Res.* 86, 819 (1995).

26. Schwaler M. A., Allard B., Lescot E., Moreau F.: *J. Biol. Chem.* **270**, 22709 (1995).
27. Sriram K., Boyd M. R., Vistica D. T., Ravindranath V.: *Neurotoxicology* **18**, 97 (1997).
28. Auclair C., Voisin E., Banoun H., Paoletti C., Bernadou J., Meunier B.: *J. Med. Chem.* **27**, 1161 (1984).
29. Larsen A. K., Paoletti J., Belehradek J. Jr., Paoletti C.: *Cancer Res.* **46**, 5236 (1986).
30. Sbai M., Ait Lyazidi S., Lerner D. A., de Castillo B., Martin M. A.: *Biomed. Chromatogr.* **11**, 89 (1997).
31. Ulbrich K.: *Chem. Listy* **89**, 30 (1995).
32. Gregoriadis G., Senior J., Trouet A.: *Targeting of Drugs*. Plenum Press, New York 1981.
33. Frucht H., Gazdar A. F., Park J.-A., Olie H., Jensen R. T.: *Cancer Res.* **52**, 1114 (1992).
34. Kibara A., Pastau I.: *Cancer Res.* **55**, 71 (1995).
35. Carpenter G.: *Curr. Opin. Cell Biol.* **5**, 261 (1993).
36. Lemaistre C. F., Meneghetti C., Howes L., Osborne C. K.: *Breast Cancer Res. Treat.* **32**, 97 (1994).
37. Strom T. B., Kelley V. R., Murphy J. R., Nichols J., Woodworth T. G.: *Annu. Rev. Med.* **44**, 343 (1993).
38. Waldmann T. A., Pastau I. H., Gansow O. A., Junhans R. P.: *Ann. Intern. Med.* **116**, 148 (1992).
39. Roth T., Tang W., Eisenbrand G.: *Anticancer Drug Des.* **10**, 655 (1995).
40. Rink S. M., Yarema K. J., Solomon M. S., Paige L. A., Tadayoni-Rebek B. M., Essigmann J. M., Croy R. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93**, 15063 (1996).
41. Rigaudy R., Garbay-Jaureguiberry Ch., Jacquemin-Sablon A., Le Pecq J.-B., Roques B. P.: *Int. J. Pept. Protein Res.* **30**, 347 (1987).
42. Czerwinski G., Tarasova N. I., Michejda J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**, 11520 (1998).
43. Alumets J., Falkmer S., Grimelius L., Hakanson R., Lundberg O., Sundler F., Wilander B.: *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **88**, 103 (1980).
44. Davis W. G., Torney W. C., Kelaney C. W.: *Gut* **20**, 865 (1980).
45. Roth K. A., Barchas J. D.: *Cancer* **57**, 769 (1985).
46. Rigaudy P., Charcosset J.-Y., Garbay-Jaureguiberry Ch., Jacquemin-Sablon A., Roques B. P.: *Cancer Res.* **49**, 1836 (1989).
47. Devraj R., Barret J. F., Fernandez J. A., Katzenellenbogen J. A., Cuzhman J.: *J. Med. Chem.* **38**, 3367 (1996).
48. Debarre A., Oberlin R., Roques B. P., Borgna J.-L., Rocheford H., Le Pecq J.-B., Jacquemin-Sablon A.: *J. Med. Chem.* **28**, 752 (1985).
49. Honda T., Kato M., Inoue M., Shimamoto T., Shima K., Nakanishi T., Yoshida T., Noguchi T.: *J. Med. Chem.* **31**, 1295 (1988).
50. Gal D., MacDonald P. C., Porter J., Simpson E. R.: *Int. J. Cancer* **28**, 315 (1981).
51. Samadi-Baboli M., Favre G., Bernadou J., Berg D., Soula G.: *Biochem. Pharmacol.* **40**, 203 (1980).
52. Favre G.: *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* **186**, 73 (1992).
53. Kratz F., Beyer U., Collery P., Lechenault F., Cazabat A., Schumacher P., Falken U., Unger C.: *Biol. Pharm. Bull.* **21**, 56 (1998).
54. Sinn H., Schrenk H. H., Friedrich A., Schilling U., Maier-Borst W.: *Int. J. Rad. Appl. Instrum.* **17**, 819 (1990).
55. Bieler C. A., Stiborová M., Breuer A., Sinn H., Schrenk H.-H., Frei E.: *7th Internat. Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy, Gdańsk 1999*, Abstract str. 49.
56. Frei E., Bieler C. A., Stiborová M., Breuer A., Wiessler M., Sinn H.: *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **41**, 765 (2000).

M. Stiborová^a and E. Frei^b (^a*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague,* ^b*Department of Molecular Toxicology, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany*): **Targeting of Ellipticine Drugs on Tumor Cells**

Ellipticines are potent antitumor agents whose mechanism of action is considered to be based mainly on DNA intercalation and/or inhibition of topoisomerase II. Targeting of the ellipticine drugs specifically on tumor cells has been the goal of many studies. A survey of such targeting of ellipticines on tumor cells and definition of the structural requirements for receptor-targeted drugs are given in the present article. Targeted cytotoxic drugs consisting of heptagastrin, modified enkephalin, estradiol, saccharides, lipoproteins and human serum albumin linked to ellipticines, designed and prepared by many authors, are shown and their efficiencies in tumors are discussed.

TURBULENTNÍ FLUIDACE

MILOSLAV HARTMAN, OTAKAR TRNKA,
KAREL SVOBODA a VÁCLAV VESELY

Ústav chemických procesů, Akademie věd České republiky,
Rozvojová 135, 165 02 Praha 6

Došlo dne 13.II.2001

Klíčová slova: turbulentní fluidní vrstva, vícefázové reaktory,
systém plyn–tuhé částice

Obsah

1. Úvod a historie
2. Fyzický obraz turbulentní fluidace
3. Přechod od bublinové k turbulentní fluidaci
 - 3.1. Faktory ovlivňující přechodovou rychlost U_c
 - 3.2. Regresní vztahy pro U_c
4. Přechod od turbulentní k rychlé fluidaci
 - 4.1. Regresní vztahy pro U_{tr}
5. Charakteristika turbulence, přestup hmoty a tepla
6. Míchání plynu a částic
7. Modelování reaktorů s turbulentní fluidní vrstvou
8. Závěr

1. Úvod a historie

Necháme-li vrstvou tuhých částic protékat směrem vzhůru plyn, jehož průtok se postupně zvětšuje, vrstva expanduje (řídne) a prochází několika tokovými (kontaktními) režimy. Původně nehybná vrstva se stane pohyblivou fluidní vrstvou bublinovou, případně pístující, ta potom vrstvou turbulentní a posléze vrstvou rychlou, až se dostane do závěrečné fáze pneumotransportu, kdy je materiál rychle vynášen z fluidní kolony^{1,2}.

Koncept turbulentní fluidní vrstvy (turbulentní fluidace) se pravděpodobně poprvé objevil koncem čtyřicátých let^{3,4}. Lze dovést jeho věcnou i časovou souvislost s tehdy vyvinutou technologií krakování uhlovodíkových frakcí⁵ ve fluidní vrstvě katalyzátoru u tehdejší Standard Oil Co. (nyní Exxon). Pojem turbulentní fluidace byl zaveden na základě vizuálních pozorování chování vrstvy. Bublinová vrstva může být zpodobněna pohyblivou viskózní kapalinou (emulzní, hustá fáze), již protékají diskrétní bubliny (bublinová, řídká fáze). Potom hovoříme o tzv. dvoufázové teorii fluidace, jak ji původně navrhli Twoomy a Johnstone⁶. Když se u malého zařízení přiblíží velikost bublin (kapes plynu) průměru nádoby, dochází k tzv. pístování vrstvy. Pro tento režim je charakteristické zhoršení promíchávání vrstvy a silně snížená kvalita kontaktu mezi plynem a částicemi.

Rozpad režimu pístování při zvýšených rychlostech plynu

sledovali Kehoe a Davidson⁷ ve vrstvě jemných částic. Od určitého průtoku plynu přešla pístující vrstva do stavu nepřetržité koalescence a dispergace, ve kterém se diskrétní bubliny či kapsy ve vrstvě již nevyskytovaly. S použitím kapacitní sondy Lanneau⁸ zjistil, že při vyšších rychlostech plynu je heterogenní charakter fluidní vrstvy potlačen a mezifázový kontakt je lepší.

Ačkoliv turbulentní fluidní vrstva našla své uplatnění v průmyslových operacích již před několika desítkami let (např. ve výrobě akrylonitrilu, anhydridů kyseliny maleinové a ftalové, pražení sulfidu zinečnatého, sušení aj.), byla výzkumníky dlouho opomíjena. Až přibližně do konce sedmdesátých let směřoval výzkum fluidace převážně k bublinové vrstvě. Jedním z důvodů této orientace mohla být i ta skutečnost, že již od prostého pohledu je chování turbulentní vrstvy mnohem méně uspořádané, a tím složitější, než je chování vrstvy bublinové.

Zhruba od osmdesátých let se turbulentní fluidace těší značnému výzkumnému zájmu. Ten nepochybně souvisí s úspěšným vývojem a širokou aplikací reaktorů a zejména kotlů s cirkulační fluidní vrstvou⁹.

Smyslem této práce je podat aktuální informaci o různých aspektech turbulentní fluidace.

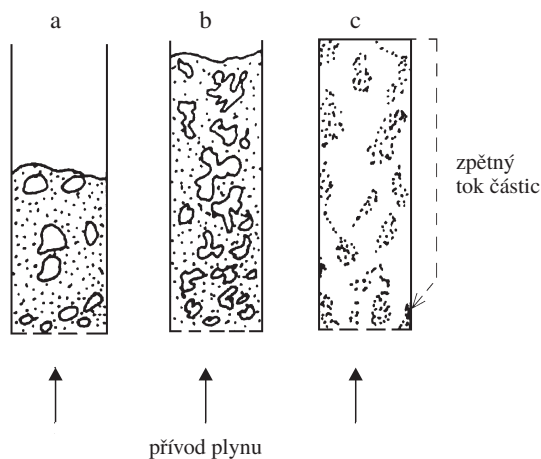
2. Fyzický obraz turbulentní fluidace

Stav turbulentní fluidace je vyvoláván vyššími rychlostmi fluidačního plynu (obvykle kolem $0,7\text{--}1,8\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) a je obvykle spojován s dobře fluidovatelnými drobnými částicemi skupiny A ($d_p = 0,05\text{--}0,15\text{ mm}$; $\rho_s < 1500\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) dle Geldartovy klasifikace¹⁰. Částice typu B ($d_p = 0,15\text{--}0,50\text{ mm}$; $1500 < \rho_s < 4000\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$), jež se dostávají do vznosu (fluidují) obtížněji, se v turbulentních vrstvách vyskytují méně často.

Při dostatečně velkém průtoku plynu se povrch vrstvy stává velmi nerovnoměrným a členitým a výška vrstvy se dá těžko definovat. Do prostoru nad vrstvou jsou ve značné míře vrhány shluky částic, jež se poté rychle rozpadají a většina částic se vrací zpět do vrstvy. Nicméně jejich jistý – menší – podíl je proudem plynu unášen dále a je nutno jej vracet zpět. Protože jde o malá množství částic, stačí k jejich separaci malý cyklon zabudovaný obvykle uvnitř kolony.

Tímto řešením navrácení částic se liší kolony s turbulentní vrstvou od zařízení s rychlou fluidní vrstvou, pracující při vyšší rychlosti plynu, kdy je již rychlost úletu částic z vrstvy značná. Separace částic z plynu je náročnější a vyžaduje rozměrný cyklon, který je umístěn vně fluidační nádoby.

Namísto bublin se v turbulentní vrstvě vyskytují protáhlé kapsy (jazyky) plynu nepravidelných tvarů, jež se pohybují značnou rychlostí. Jemné částice vytváří tvarově velice pestré a velmi pohyblivé shluky, připomínající rychle vlající řídké záclony. Není tedy dost dobře možné v tomto režimu rozlišovat, která z fází je spojitá a která dispergovaná. Celkový obraz se vyznačuje rychlou dynamikou tvorby a zániku jak jazyků plynu, tak i agregátů částic. Jak naše zkušenosti ukazují, při bublinové fluidaci jsou střední (časově zprůměrněné)

Obr. 1. **Bublinová (a), turbulentní (b) a rychlá fluidace (c)**

Tabulka I

Charakteristické veličiny tokových režimů fluidní vrstvy^{11,12} (střední mezerovitost ϵ , skluzová rychlost U_{sl} a skluzový faktor F_{sl})

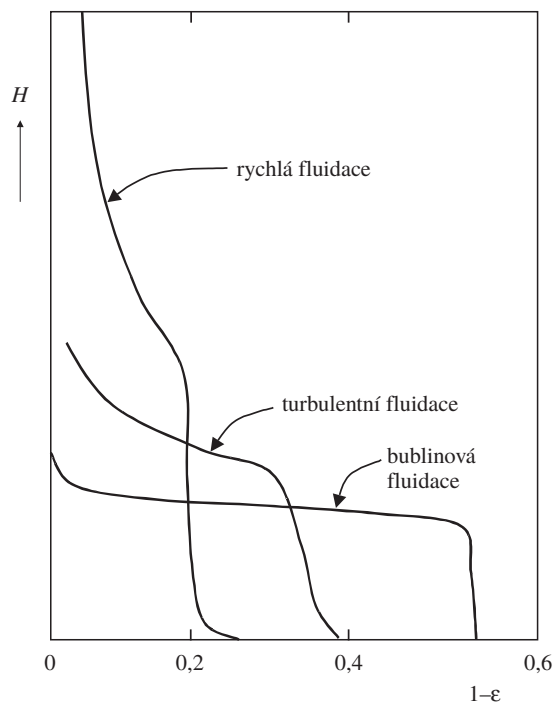
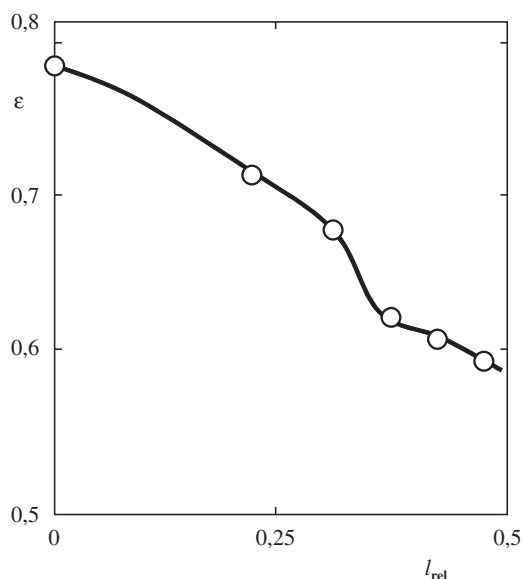
Režim	Částice dle Geldarta ¹⁰	ϵ	U_{sl} [m.s ⁻¹]	F_{sl}
Bublinový	B,D	0,45–0,60	0,1–0,8	$\rightarrow \infty$
Turbulentní	A,B	0,65–0,75	0,5–1,5	>100
Rychlá fluidace	B	0,8 – 0,95	2–6	1,6–5

polohy částic poměrně stálé nebo vykonávají velmi mírný periodický pohyb. Při fluidaci turbulentní se střední polohy částic dostávají do nahodilého pohybu v celém prostoru vymezeném vrstvou.

Některé z rozdílů mezi bublinovou a turbulentní fluidací jsou patrné z obr. 1. Výše nastíněný obraz turbulentní fluidní vrstvy se vztahuje k jemným a lehkým, tedy dobře fluidovatelným materiálům skupiny A. Vrstvy částic větších nebo těžších (skupina B, příp. D) vykazují při turbulentní fluidaci odlišné chování. Nevznikají rychle se pohybující shluky částic, ale dochází k celkové cirkulaci materiálu a k silnému kanálování ve vrstvě. Tento kontaktní režim hrubých částic se často označuje jako fluidace vířivá nebo chrlivá. Termín turbulentní fluidace je obecnější a používá se především pro systémy s jemnými částicemi.

Ve srovnání s bublinovou vrstvou je objemová koncentrace částic v turbulentní vrstvě nižší. Zatímco v prvním případě je střední mezerovitost vrstvy kolem 0,45–0,60, v případě turbulentní fluidace se střední hodnota mezerovitosti pohybuje přibližně mezi 0,65 a 0,75. Střední (časově zprůměrněná) mezerovitost vrstvy se zvyšuje s rostoucí vzdáleností od distributoru a vzrůstá se vzdáleností od stěny nádoby, jak je naznačeno na obr. 2 a 3.

Vedle střední mezerovitosti je možno základní tokové režimy fluidní vrstvy charakterizovat dalšími veličinami jako jsou skluzová rychlost U_{sl} mezi plynem a částicemi

Obr. 2. **Axiální profily koncentrací částic** (H výška nad distributorem, $1 - \epsilon$ objemový podíl částic)Obr. 3. **Radikální profil mezerovitosti ϵ při turbulentní fluidaci** (l_{rel} – rel. vzdálenost od osy)

$$U_{sl} = U/\epsilon - U_s = U/\epsilon - G_s/[\rho_s(1 - \epsilon)] \quad (1)$$

a skluzový faktor F_{sl}

$$F_{sl} = U\rho_s(1 - \epsilon)/(G_s\epsilon) \quad (2)$$

Obvyklé hodnoty výše uvedených veličin pro bublinovou, turbulentní a rychlou fluidaci jsou shrnuty v tabulce I. Je

zřejmé, že turbulentní fluidace je přechodovým stavem mezi režimem bublinovým, příp. pístovým a stavem rychlé fluidace. Zatímco bublinová vrstva je uspokojivě popsána dvoufázovou teorií a rychlá fluidní vrstva (cirkulační) je adekvátně vystižena modelem jádro–prstencem^{9,13}, adekvátní popis či teorie turbulentní vrstvy dosud chybí.

3. Přechod od bublinové k turbulentní fluidaci

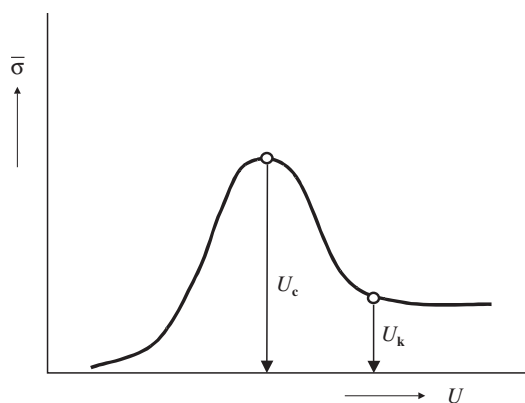
K určení přechodu mezi bublinovou nebo pístující vrstvou a turbulentní vrstvou je možno použít některou z metod, zakládajících se na vizuálním sledování, tlakových fluktuacích a na místní a celkové mezerovitosti vrstvy. Rozličná kritéria pak vycházejí ze zpracování signálů tlakových sond, kapacitních čidel, sond s optickými vlákny, rentgenových aparátů a manometrů.

Kehoe a Davidson⁷ definovali nástup turbulentní fluidace jako počátek nepřetržité koalescence, kdy jazyky plynu klikatě prokmitávají řídkou vrstvou. Pozdější práce (např. cit.¹⁴) ukázaly, že tento přechod je dostatečně ostrý a je postřehnutelný pouhým okem pouze v případě částic skupiny A dle Geldartovy klasifikace¹⁰.

Fluktuace lokální mezerovitosti měřené kapacitními sondami a sondami s optickými vlákny mohou být tak použity ke stanovení přechodu do turbulentní fluidace. Crescitelli a spol.¹⁵ definovali práh turbulentní fluidace jako stav, kdy již není možné identifikovat jednotlivé písky plynu ze signálů kapacitní sondy. Ukazuje se, že se průměrná odchylka místní mezerovitosti od její střední hodnoty zvětšuje s rostoucí rychlostí plynu až k jisté maximální hodnotě a potom dále klesá.

Avidan a Yerushalmi¹⁶ zjistili, že při jistém zvýšení průtoku plynu celková mezerovitost vrstvy (expanze) náhle a výrazně stoupne. Tento zlomový bod na křivce ϵ vs. U potom autoři¹⁶ označili za přechod od bublinové fluidace k turbulentní.

Byli to pravděpodobně Yerushalmi a Cankurt¹⁷, kteří jako první vymezovali přechod k turbulentní fluidaci na základě tlakových fluktuací ve vrstvě. Když zaznamenané tlakové signály jednoduše interpretovali pomocí směrodatné odchylky od střední hodnoty tlaku, dostali křivku znázorněnou na obr. 4. Jak je vidět na tomto obrázku, intenzita fluktuací tlaku s rychlostí plynu nejprve roste, potom po dosažení maxima při $U = U_c$ rychle klesá a ustálí se na jisté nízké hodnotě.



Obr. 4. Definice rychlosti plynu, při které dochází k nástupu turbulentní fluidace, založená na směrodatné odchylce amplitud tlakových fluktuací σ

Autoři nebyli a nejsou dosud jednotni ve vymezení turbulentního režimu. Zpočátku byl za nástup turbulentní fluidace považován stav odpovídající rychlosti plynu U_k vyznačené na obr. 4. Nyní převládá názor, že je to U_c , která vystihuje nástup turbulentní vrstvy.

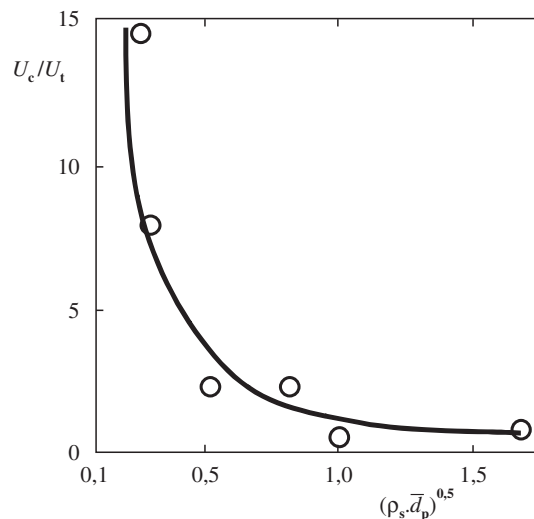
Ve své nedávné práci¹⁸ zabývající se pracovními režimy fluidních vrstev jsme navrhli nový postup k vyhodnocování výkonových spekter tlakových fluktuací ve vrstvě. Na základě studia chování mnoha materiálů jsme dospěli k názoru, že stav bublinové či pístové fluidace končí, tedy nastupuje fluidace turbulentní, dříve než při $U = U_c$. Máme za to, že přechod k turbulentní vrstvě již začíná v oblasti mezi maximem a inflexním bodem na vzestupné větvi křivky na obr. 4. Při těchto rychlostech plynu nejsou ještě částice vynášeny ven z fluidační kolony.

3.1. Faktory ovlivňující přechodovou rychlost U_c

U malých zařízení ($D < 0,2$ m) jsou poznatky o vlivu průměru zařízení na U_c rozporné, u zařízení o $D > 0,2$ m se vliv průměru nádoby neuplatňuje. U mělkých vrstev ($H_{mf}/D < 2$) roste U_c s výškou nehybné vrstvy H_{mf} (cit.¹⁹). Lze očekávat, že všechny typy vestaveb široce užívané ve fluidních reaktorech pro výměnu tepla nebo zlepšení kontaktní účinnosti obecně snižují U_c .

Je známo, že materiál s širokou distribucí velikostí částic vykazuje nižší fluktuace tlaku a nižší U_c než materiál s úzkou distribucí. U široce polydisperzních materiálů jsou přechody mezi jednotlivými režimy fluidace difuzní. Pro fluidaci za zvýšené teploty a tlaku je charakteristická tvorba menších plynových kapes a hladké cirkulace zvláště u jemných částic v koloně^{20,21}.

Zajímavá je relace mezi poměrem U_c/U_t , kde U_t je pádová rychlost izolované částice a velikostí (a měrnou hmotností) této částice. Na základě literárních dat^{17,22} byla tato závislost vyšetřena a je uvedena na obr. 5. Je patrné, že k nástupu turbulentní fluidace u malých (a lehkých) částic dochází při rychlosti o více než jeden řád větší, než je jejich pádová



Obr. 5. Poměr rychlostí U_c/U_t jako funkce velikosti částic \bar{d}_p a jejich měrné hmotnosti ρ_s

rychlost. Tato skutečnost je dána zřetelnou tendencí jemných částic tvořit shluky (agregáty), které se chovají jako velké částice. U větších a velkých skleněných částic o velikostech $\bar{d}_p = 0,65$ a $2,5$ mm, které shluky nevytvářejí, činí poměr U_c/U_t pouze $0,55$ a $0,32$.

Pádová rychlost izolované částice U_t je dobře definovaná veličina a lze ji s velmi dobrou přesností predikovat i pro nesférické částice^{23,24}. Spokojíme-li se s přesností kolem 10 %, můžeme k výpočtu použít např. jednoduchého explicitního vztahu Turtona a Clarka^{25,26}

$$Re_t = \frac{Ar^{1/3}}{(10,82 / Ar^{0,549} + 0,6262 / Ar^{0,137})^{1,214}} \quad (3)$$

Z křivky na obr. 5 a rovnice (3) potom můžeme činit první odhady o U_c .

3.2. Regresní vztahy pro U_c

Rovnic, založených na regresi experimentálních dat, pro výpočet počátku turbulentní fluidace je řada. Jako první byla pravděpodobně relace (4) navržena Yerushalmim a Cankurtem¹⁷

$$U_c = 3,0 \cdot (\rho_s \bar{d}_p)^{0,5} - 0,77 \quad (4)$$

Dosti početnou skupinu regresních rovnic tvoří jednoduché vztahy typu

$$Re_c = a \cdot Ar^b \quad (5)$$

ve kterých se hodnoty konstant a a b více či méně liší podle autorů (viz tabulka II).

Tabulka II

Hodnoty konstant a a b v rovnici (5)

Autoři	a	b
Lee a Kim ²⁷	0,700	0,485
Horio ²⁸	0,936	0,472
Nakajima a spol. ²⁹	0,663	0,467
Bi a Grace ³⁰	0,565	0,461

Chehbouni a spol.³¹ navrhli vztah poněkud odlišného typu

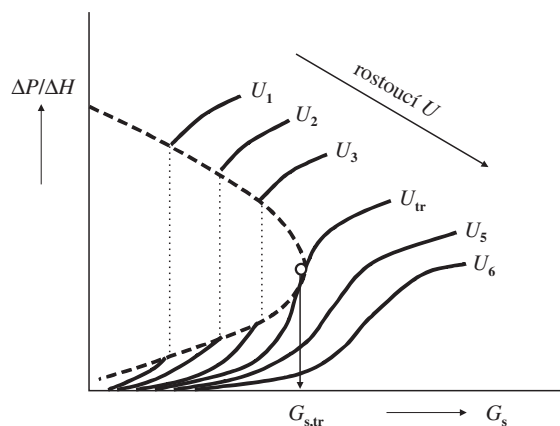
$$Fr_c = U_c / (g \cdot D)^{0,5} = 0,463 \cdot Ar^{0,145} \quad (6)$$

$$0,080 \leq D \leq 0,200 \text{ m.}$$

Tato závislost vyjadřuje mírný nárůst U_c s průměrem zařízení.

4. Přechod od turbulentní k rychlé fluidaci

Přechod od turbulentní fluidace k rychlé fluidaci je především charakterizován významným růstem únosu částic z kolony. Rychlost plynu v tomto přechodovém stavu představuje



Obr. 6. Definice transportní rychlosti U_{tr} , založená na gradientu tlaku $\Delta P/\Delta H$, intenzitě toku částic G_s a rychlosti plynu U (cit.¹⁷)

tedy horní mez pro vsádkovou operaci ze zřetele tuhé fáze. O ustáleném stavu rychlé fluidní vrstvy je možno uvažovat jen tehdy, je-li kolona opatřena zařízením pro vracení částic.

Když se ve vzestupné větvi cirkulační fluidní vrstvy při daném průtoku plynu postupně zvyšuje recirkulační rychlost částic, G_s , může podle Yerushalmiho a Cankurta¹⁷ dojít k ostrému (skokovému) růstu tlakového gradientu, $\Delta P/\Delta H$ (viz obr. 6). Jakmile rychlost plynu dosáhne jisté vyšší hodnoty, ke skokové změně tlakového gradientu již nedochází a tato rychlost plynu je definována jako rychlost transportní, U_{tr} .

Rychlá fluidní vrstva se obvykle skládá ze spodní hustší zóny ($\epsilon = 0,80-0,95$), která postupně přechází do horní řidší zóny ($\epsilon = 0,95-0,98$). Axiální profil mezerovitosti zejména v horních partiích kolony je ovlivňován rychlostí přívodu (recirkulace) částic. Při rychlé fluidaci jsou částice intenzivně promíchávány a jejich skluzová rychlost je řádově vyšší než pádová rychlost jednotlivých částic. Vztah mezi intenzitou toku částic, rychlostí plynu, mezerovitostí a skluzovou rychlostí je vyjádřen rovnicí (1).

Obvyklý postup určování transportní rychlosti, U_{tr} , vychází z fázových diagramů $\Delta P/\Delta H - U - G_s$. Jiní autoři (např. Bi a Fan³²) zjistili, že transportní rychlost je více či méně táž veličina jako rychlost U_k vyznačená na obr. 4, a může být tedy určována na základě tlakových fluktuací. Jiná metoda je založena na měření dob potřebných k vnesení vsádky materiálu z kolony při různých rychlostech plynu.

4.1. Regresní vztahy pro U_{tr}

Výpočtových vztahů pro předpověď transportní rychlosti je řada a jsou, podobně jako rovnice pro výpočet U_c , zcela empirické. Většina z nich je ve tvaru

$$Re_{tr} = c \cdot Ar^d \quad (7)$$

Hodnoty konstant c a d v rovnici (7) nalezené různými autory jsou uvedeny v tabulce III. Vliv průměru nádoby je zahrnut v rovnici (8) autorů Chehbouniho a spol.³¹

$$Re_{tr} = 0,169 \cdot Ar^{0,545} \cdot (D/\bar{d}_p)^{0,3} \quad (8)$$

Tabulka III
Hodnoty konstant c a d v rovnici (7)

Autoři	c	d
Lee a Kim ²⁷	2,92	0,354
Bi a Fan ³²	2,28	0,419
Adanez a spol. ³³	2,08	0,458

5. Charakteristika turbulence, přestup hmoty a tepla

Přesto, že tento režim nese ve svém názvu „turbulentní“, je dosud o turbulenci v těchto fluidních vrstvách známo jen velmi málo. Jako míra intenzity turbulence může být uvažována např. směrodatná odchylka fluktuací mezerovitosti nebo výkonová spektra tlakových fluktuací. Makroměřítka turbulence nepochybně souvisí s velikostí a pohybem nepravidelných plynových jazyků a protáhlých shluků částic, které se nepřetržitě a velmi rychle tvoří a zase zanikají. Naše dosavadní zkušenosti s turbulentní fluidací naznačují, že fluidní vrstva v tomto režimu vykazuje prvky chaotického chování.

Hlavní předností turbulentní vrstvy před vrstvou bublinovou je lepší kontakt mezi fázemi. Zatímco u fluidních reaktorů, provozovaných v bublinovém nebo pístovém režimu, je odpor při přestupu hmoty z bublinové do emulzní fáze většinou velmi významný, je tato bariéra při turbulentní fluidaci téměř eliminována. Takto účinný kontakt mezi plynem a částicemi se realizuje díky mžikové životnosti plynových kapes i částicových shluků opět se tvořících a rozpadajících v turbulentní vrstvě.

Ve fluidních vrstvách lze uvažovat tři typy přestupu tepla: plyn–částice, částice–částice a vrstva (suspenze)–povrch (stěna či vestavba). V důsledku velikého povrchu drobných částic se obvykle dosáhne tepelné rovnováhy mezi plynem a částicemi ve vrstvě velmi rychle – obvykle již ve výšce několika centimetrů nad distributorem, pokud rychlost plynu není extrémně vysoká. Teplo sdílené vedením při kolizích částic je většinou zanedbatelné. Prakticky nejvýznamnější je tedy přestup tepla vrstva (suspenze)–teplosměnný povrch (stěny nádoby, trubkové vestavby).

Na přestupu tepla mezi vrstvou a teplosměnným povrchem se hlavně podílí konvektivní toky částic a plynu a radiace. O těchto třech složkách lze předpokládat, že jsou na sobě nezávislé a jejich relativní význam závisí na velikostech částic a pracovních podmínkách. Podíl radiace je např. zanedbatelný při teplotách nižších než 500 °C, při 900 °C je již vyšší než 30 % (cit.³⁴). Konvekce částicemi je většinou převažující, její podíl se zmenšuje s rostoucí velikostí částic.

Závislost koeficientu přestupu tepla mezi fluidní vrstvou a povrchem na rychlosti plynu vykazuje extrémální průběh s maximem kolem U_c . Podle Moleruse a spol.³⁵ klesají maximální hodnoty s rostoucí velikostí částic od 550 ($\bar{d}_p = 0,1$ mm) k 250 $W \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$ ($\bar{d}_p = 0,6$ mm).

6. Míchání plynu a částic

Již Yerushalmi a Cankurt¹⁷ zjistili, že axiální promíchávání plynné fáze se zřetelně zmenší, když bublinová vrstva přejde do režimu turbulentního. Informací o promíchávání při turbulentní fluidaci mnoho není a jsou většinou interpretovány jako efektivní disperzní koeficienty nebo bezrozměrná Pecletova kritéria. Experimentální poznatky se shodují, že axiální disperzní koeficient pro plynnou fázi klesá s rostoucí rychlostí plynu a dále se rychle zmenšuje s rostoucí mezerovitostí suspenze. Axiální promíchávání je silnější u nádob většího průměru. Podobně jako u bublinové fluidace, je i u turbulentní fluidace radiální disperze přibližně o řád menší, než je disperze axiální.

Míchání částic silně ovlivňuje kontakt mezi oběma fázemi, přestup tepla, rovnoměrnost teplotních polí a promíchávání plynu. Ukazuje se, že míchání částic je intenzivnější ve větších zařízeních, kde se vytváří silnější cirkulační okruhy. Jemné částice vykazují větší disperzní koeficienty než částice hrubé v důsledku rychlého pohybu jejich shluků. S rostoucí rychlostí plynu intenzita míchání částic roste. Existuje zřetelná korelace mezi axiálním disperzním koeficientem pro částice a radiálním disperzním koeficientem pro plyn.

7. Modelování reaktorů s turbulentní fluidní vrstvou

I přes zřetelné výhody a komerční aplikace turbulentního režimu, poznatků o výkonu a modelování reaktorů s turbulentní vrstvou je dostupných jen velmi málo. Nejjednodušší modely vycházejí z představy o jednofázovém systému s píستovým tokem či s ideálním mícháním. Konverzi methanu při spalování v turbulentní vrstvě katalyzátoru uspokojivě popsali Foka a spol.³⁶ pomocí jednofázového disperzního modelu. Pokročilejší modely jsou dvoufázové; vedle konvekce, reakce a disperze též zahrnují přestup plynu mezi hustou a řídkou fází.

Potíže s modelováním turbulentní vrstvy plynou z jejího nejednoznačného fyzikálního stavu / obrazu. Zatímco bublinová vrstva je zřetelně dvoufázová a režim rychlé vrstvy dobře odpovídá relativně jednoduché a zřetelně patrné struktuře, řídké jádro – hustý prsteneč⁹, představuje turbulentní vrstva přechod mezi těmito stavy. Jako jednu z možných cest se tedy jeví vhodná kombinace účelných modelů pro bublinovou a rychlou vrstvu. Realistický model turbulentní vrstvy by měl reflektovat mj. tak významnou skutečnost, jako je profil mezerovitosti po výšce vrstvy, příp. i její změny ve směru radiálním. Ukazuje se, že i na výkon reaktoru s turbulentní vrstvou má velmi příznivý vliv přítomnost podílu (>15 %) velmi jemné frakce částic/katalyzátoru³⁷ ($\bar{d}_p < 0,050$ mm).

8. Závěr

Režim turbulentní fluidace poskytuje účinný kontakt mezi plynem a tuhými částicemi, intenzivní sdílení tepla mezi vrstvou a stěnami/vestavbami při velmi omezeném axiálním míchání plynné fáze. Těchto příznivých vlastností turbulentní fluidní vrstvy se využívá v řadě důležitých katalytických procesů v průmyslu.

Aktuální stav znalostí o turbulentní fluidní vrstvě však neodpovídá jejímu praktickému významu. Není jasné, zda by na nepravdělné kapsy plynu mělo být pohlíženo jako na bubliny ve spojité emulzní fázi, nebo jde o fluktuace mezerovitosti v suspenzi plyn – částice. Tím otázka adekvátnosti dvou- nebo jednofázového modelu turbulentní vrstvy zůstává otevřená.

Zatímco poznatky o vymezení oblasti turbulentní fluidace, expanze vrstvy, gradientech mezerovitosti dostupné jsou, informace o únosu částic, vlivu velikosti zařízení a typu distributoru na chování vrstvy aj. chybí. Tokový režim turbulentní fluidace vykazuje prvky chaotického chování systému.

Seznam symbolů

\bar{d}_p	střední velikost částic, m, mm
D	průměr zařízení, m
F_{sl}	skluzový faktor podle rovnice (2)
g	tíhové zrychlení ($= 9,807$), $m \cdot s^{-2}$
G_s	čistý cirkulační tok částic, $kg \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$
H	výška vrstvy, podélná souřadnice, m
H_{mf}	výška nehybné vrstvy, m
ΔP	tlaková ztráta vrstvy, Pa
U	mimovrstvová rychlost plynu, $m \cdot s^{-1}$
U_c	rychlost plynu, při které směrodatná odchylna amplitud tlakových fluktuací ve vrstvě dosahuje maxima, $m \cdot s^{-1}$
U_{sl}	skluzová rychlost mezi plynem a částicemi podle rovnice (1), $m \cdot s^{-1}$
U_t	pádová rychlost izolované částice, $m \cdot s^{-1}$
U_{tr}	transportní rychlost, $m \cdot s^{-1}$

Bezrozměrná kritéria

$Ar = \bar{d}_p \cdot g \cdot \rho_f \cdot (\rho_s - \rho_c) / \mu_f^2$	– Archimedovo kritérium
$Fr_c = U_c / (g \cdot D)^{0.5}$	– Froudeho kritérium při nástupu turbulentní fluidace
$Re_c = U_c \bar{d}_p \rho_f / \mu_f$	– Reynoldsovo kritérium při přechodu z bublinové do turbulentní fluidace
$Re_t = U_t \bar{d}_p \rho_f / \mu_f$	– Reynoldsovo kritérium při pádové rychlosti izolované částice
$Re_{tr} = U_{tr} \bar{d}_p \rho_f / \mu_f$	– Reynoldsovo kritérium při transportní rychlosti

Řecké symboly

ε	střední mezerovitost vrstvy (suspenze)
μ_f	viskozita fluidační tekutiny (plynu), Pa.s, $kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$
ρ_f	měrná hmotnost fluidační tekutiny (plynu), $kg \cdot m^{-3}$
ρ_s	měrná hmotnost částic, $kg \cdot m^{-3}$
σ	směrodatná odchylna tlakových fluktuací, Pa

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou AV ČR (granty č. 4072711 a 4072001).

LITERATURA

- Hartman M., Svoboda K., Veselý V., Ziolkowski D.: Chem. Listy 81, 1233 (1987).
- Hartman M., Beran Z., Svoboda K., Veselý V.: Collect. Czech. Chem. Commun. 60, 1 (1995).
- Matheson G. L., Herbst W. A., Holt P. H.: Ind. Eng. Chem. 41, 1099 (1949).
- Zenz F.A.: Ind. Eng. Chem. 41, 2801 (1949).
- Yates J. G.: *Fundamentals of Fluidized-Bed Chemical Processes*. Butterworths, London 1983.
- Twoomy R. D., Johnstone H. F.: Chem. Eng. Prog. 48, 220 (1952).
- Kehoe P. W. K., Davidson J. F.: *Continuously Fluidized Beds*, Symp. Ser. 33, str. 17. Inst. Chem. Eng., London 1971.
- Lanneau K. P.: Trans. Inst. Chem. Eng. 38, 125 (1960).
- Hartman M., Svoboda K., Trnka O., Beran Z.: Chem. Listy 93, 788 (1999).
- Geldart D.: Powder Technol. 7, 285 (1973).
- Bi H. T., Ellis N., Abba I. A., Grace J. R.: Chem. Eng. Sci. 55, 4789 (2000).
- Grace J. R.: Powder Technol. 113, 242 (2000).
- Kunii D., Levenspiel O.: Chem. Eng. Sci. 55, 4563 (2000).
- Yang W. C., Chitester D. C.: AIChE Symp. Ser. 84 (262), 10 (1988).
- Crescitelli S., Donsi G., Russo G., Clift R.: *Proceedings of the 6th Int. Congress CHISA, Prague 1978*.
- Avidan A. A., Yerushalmi J.: Powder Technol. 32, 223 (1982).
- Yerushalmi J., Cankurt N. T.: Powder Technol. 24, 187 (1979).
- Trnka O., Veselý V., Hartman M., Beran Z.: AIChE J. 46, 509 (2000).
- Canada G. S., McLaughlin M. H.: AIChE Symp. Ser. 74 (174), 27 (1978).
- Hartman M., Svoboda K.: Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev. 25, 649 (1986).
- Hartman M., Svoboda K., Kocurek J., Ziolkowski D., Machorin K. E.: Chem. Listy 83, 57 (1989).
- Staub F. W., Canada G. S., v knize: *Fluidization* (Davidson J. F., Keairns D. L., ed.), str. 339. Cambridge Univ. Press, Cambridge 1978.
- Hartman M., Yates J. G.: Collect. Czech. Chem. Commun. 58, 961 (1993).
- Hartman M., Trnka O., Svoboda K.: Ind. Eng. Chem. Res. 33, 1979 (1994).
- Turton R., Clark N. N.: Powder Technol. 53, 127 (1987).
- Hartman M., Veselý V., Svoboda K., Havlín V.: Collect. Czech. Chem. Commun. 55, 403 (1990).
- Lee G. S., Kim S. D.: J. Chem. Eng. Jpn. 21, 515 (1988).
- Horio M., v knize: *Circulating Fluidized Bed Technology III* (Basu P., Horio M., Hasatani M., ed.), str. 3. Pergamon Press, Oxford 1991.
- Nakajima M., Harada M., Asai M., Yamazaki R., Jimbo G., v knize: *Circulating Fluidized Bed Technology III* (Basu P., Horio M., Hasatani M., ed.), str. 79. Pergamon Press, Oxford 1991.
- Bi H. T., Grace J. R.: Chem. Eng. J. 57, 261 (1995).
- Chebouni A., Chaouki J., Guy C., Klvana D.: Can. J. Chem. Eng. 73, 41 (1995).
- Bi H. T., Fan L. S.: AIChE J. 38, 297 (1992).
- Adanez J., de Diego L. F., Gayan P.: Powder Technol. 77, 61 (1993).
- Flamant G., Bergeron A.: Int. Chem. Eng. 32, 409 (1992).
- Molerus O., Burschka A., Dietz S.: Chem. Eng. Sci. 50, 879 (1995).

36. Foka M., Chaouki J., Guy C., Klvana D.: Chem. Eng. Sci. 55, 713 (1996).
37. Sun G. L., Grace J. R.: AIChE J. 38, 716 (1992).

M. Hartman, O. Trnka, K. Svoboda, and V. Veselý
(*Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Turbulent Fluidization**

In the flow regime of turbulent fluidization, pockets of gas (bubbles or slugs) no longer appear distinct. Clusters and strands of fine particles as well as voids of elongated and distorted shapes move rapidly in a zigzag manner through the bed. The solids hold-up is quite high (25–35 % by volume) and at the indistinct bed surface, aggregates of particles are

continuously ejected into the freeboard. Turbulent fluidization is often employed in industrial fluidized-bed reactors because of efficient gas-solid contact, rapid heat and mass transfer and limited axial mixing of gas. Although it accounts for most commercial applications of gas-solid fluidization, the turbulent fluidization has received far less attention than the adjacent flow regimes of bubbling (or slugging) and fast fluidization. A number of empirical correlations are presented for prediction of the range of turbulent fluidization. Turbulent beds exhibit non-uniform distributions of voidage/solids hold-up in both axial and radial directions. Some reactor models treat the turbulent bed as a single-phase homogeneous system, others assume the existence of two phases. Such aspects as energy dissipation, turbulence and chaos need to be explored to improve the knowledge of this turbulent fluidization regime.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

ELEKTROCHEMICKÁ GENERACE OXIDU DUSIČITÉHO PRO TESTOVÁNÍ SENZORŮ PLYNŮ

MARTIN NOVOTNÝ a FRANTIŠEK OPEKAR

UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
e-mail: opekar@natur.cuni.cz

Došlo dne 8.VI.2001

Klíčová slova: oxid dusičitý, oxid dusnatý, elektrochemická generace, kalibrace, senzory plynů

Chemické senzory plynných (a nejen plynných) látek jsou důležitým a perspektivním nástrojem soudobé analytické chemie. Poskytují přímo informace o chemickém složení svého okolí a jejich použití je v mnoha případech vhodnou alternativou složitější analytického postupu či drahé analytické aparatury.

Vývoj nových senzorů, jejich kalibrace a testování se neobejde bez zdrojů testovaných plynů, umožňujících přípravu plynných směsí o známé koncentraci testované složky a tuto koncentraci v dostatečně širokém oboru měnit. Pro dynamickou přípravu plynných směsí jsou velice užitečnými zdroje, které využívají elektrochemické generace testované komponenty (viz tabulka I). Hlavní přednosti tohoto způsobu

generace jsou: plyn je generován pouze v době jeho potřeby, produkci lze řídit změnami podmínek elektrolyzy (zpravidla velikostí generačního proudu) a generovat lze i plyny obtížně dostupné (AsH_3 , SbH_3) či jedovaté (CO , H_2S). V případě generace některých plynů, kdy je známa proudová účinnost elektrolyzy, není zapotřebí zdroj kalibrovat, produkci je možno vypočítat z Faradayova zákona.

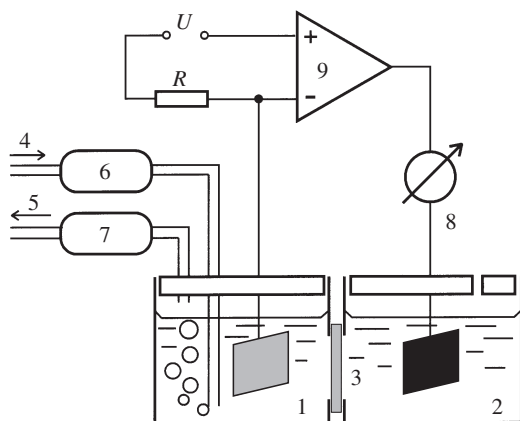
Oxid dusičitý případně dusnatý jsou v praxi často stanovovanými plyny. Jsou považovány za jeden z indikátorů znečištění atmosféry a potřeba jejich stanovení roste s rozvojem automobilové dopravy. Pro testování senzorů NO_2 a NO jsou v literatuře popsány dva způsoby elektrochemické generace potřebných plynů. Při jednom z nich vzniká NO_2 elektrolyzou taveniny směsi dusičnanu sodného a draselného při $250\text{ }^\circ\text{C}$ v atmosféře suchého argonu¹. Při druhém způsobu vzniká NO elektrolyzou nasyceného roztoku kyseliny nitrosylsírové v koncentrované kyselině sírové; na NO_2 je vznikající NO převáděn následnou oxidací např. kyslíkem též elektrolyticky generovaným². I v tomto případě musí být nosný plyn zbaven stop vlhkosti. V obou metodách je elektrolytická generace prováděna v experimentálně i bezpečnostně velice náročných podmínkách, používané aparatury jsou komplikované a příslušné sloučeniny a nosné plyny musí být dokonale suché.

V této práci jsou popsány výsledky generace NO_2 probíhající za normálních laboratorních podmínek, z látek stálých v běžném vzdušném prostředí a ve vodných roztocích, které nekladou mimořádné nároky na konstrukční materiály aparatury. Generace je založena na galvanostatické redukci vodného roztoku dusičnanu draselného na dusitan, který je chemicky

Tabulka I

Přehled elektrolyticky generovaných plynů pro testování plynových senzorů

Generovaný plyn	Generační reakce	Experimentální podmínky	Lit.
AsH_3 CO	$\text{AsO}_3^{3-} + 9\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{AsH}_3 + 3\text{H}_2\text{O}$ na elektrodě: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$ v plynné fázi: $\text{O}_2 + 2\text{C} \rightarrow 2\text{CO}$	Pt katoda, 0,01 M- Na_3AsO_3 v H_2SO_4 Pt/Pt (čern) anoda, 1 M- HClO_4 , konverze $\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}$ v koloně s uhlíkem ($1000\text{ }^\circ\text{C}$), nosný plyn N_2 , He, Ar	11 12
CO_2 C_2H_6	$\text{C}_2\text{O}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 2\text{e}^-$ $2\text{CH}_3\text{COO}^- \rightarrow \text{C}_2\text{H}_6 + 2\text{CO}_2 + 2\text{e}^-$	Pt anoda, koncentrovaný roztok kyseliny šťavelové Pt anoda, okyselený koncentrovaný roztok CH_3COOK	13 14
Cl_2 HCN	$2\text{Cl}^- \rightarrow \text{Cl}_2 + 2\text{e}^-$ $\text{SCN}^- + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCN} + \text{SO}_4^{2-} + 7\text{H}^+ + 6\text{e}^-$	Pt anoda, 3–4 M- HCl Pt anoda, 0,1 M- KSCN + 0,01 M- K_2SO_4 (pH 6,5), nosný plyn N_2	15 16
H_2 H_2S	$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ $\text{S}_3(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}) + 4\text{H}_2\text{SO}_4 + 4\text{e}^- \rightarrow$ $\text{H}_2\text{S} + 2\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} + 4\text{HSO}_4^-$	Pt/Pt (čern) katoda, elektrolyt 1 M- H_2SO_4 Pt katoda, 0,75 g bis(2-ethylkarboxyl)trisulfanu ve 100 ml 0,05 M- H_2SO_4 , nosný plyn vzduch	17 18
NO	$\text{NO}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{NO}$	nasycený roztok NOHSO_4 v koncentrované H_2SO_4 , nosný plyn – dokonale vysušený N_2 nebo vzduch	2
NO_2	$2\text{NO}_3^- \rightarrow 2\text{NO}_2 + \text{O}_2 + 2\text{e}^-$	Pt anoda, tavenina eutektické směsi $\text{NaNO}_3 + \text{KNO}_3$ ($200\text{--}300\text{ }^\circ\text{C}$), nosný plyn – dokonale vysušený N_2	1
SbH_3	$\text{Sb}^{3+} + 3\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{SbH}_3$	Pt katoda, 0,01 M vinan antimonyl draselný v koncentrovaném roztoku kyseliny vinné	11



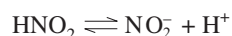
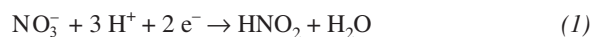
Obr. 1. Schéma generátoru oxidu dusičitého; 1 – katodická část generátoru s generačním roztokem a stříbrnou katodou, 2 – anodická část generátoru s platinovou anodou, 3 – Nafionová membrána, 4, 5 – přívod a odvod plynu (vzduchu), 6 – čistící kolona s aktivním uhlím, 7 – oxidační kolona s oxidem chromovým, 8 – ampérmetr, 9 – galvanostat ($R = 500 \Omega$, $U = 1$ až $5 V$)

zredukován hydrochinonem na oxid dusnatý. Oxid dusnatý je z roztoku vyublán do proudu vzduchu a v něm oxidován na NO_2 oxidem chromovým.

Experimentální část

Schéma generátoru je na obr. 1. Jádrem je elektrolyzér tvořený dvouprostorovou nádobkou vyrobenou z plexiskla o objemu 2×20 ml. V jedné její části je umístěna generační katoda a plynotěsným víčkem do ní vstupují teflonové trubičky pro přívod a odvod nosného plynu. Katodou je stříbrný plíšek o geometrickém povrchu $6,1 \text{ cm}^2$. Generačním roztokem v katodovém prostoru je vodný roztok o složení 1 M-NaNO_3 , $0,35 \text{ M}$ hydrochinon a $0,55 \text{ M-H}_3\text{PO}_4$.

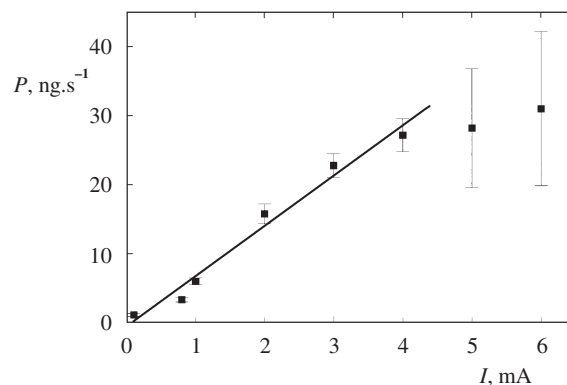
Vznik dusitanu elektrochemickou redukcí dusičnanu lze popsat rovnicí, viz např.^{3,4}



Dusitanový anion je poté přímo v generačním roztoku kvantitativně zredukován hydrochinonem (H_2Q) v prostředí kyseliny fosforečné na oxid dusnatý⁵



Oxid dusnatý je z generačního roztoku převeden do nosného plynu–vzduchu. Vzduch, čistěný průchodem přes filtr s aktivním uhlím, je veden ke dnu generační nádoby, probublává roztokem, čímž ho promíchává a obohaceny oxidem dusnatým je odváděn z prostoru nad generačním roztokem. Oxid dusnatý v nosném plynu je zoxidován na oxid dusičitý průchodem skleněnou kolonou o vnitřním průměru 15 mm naplněnou v délce asi 8 cm skelnou vatou impregnovanou oxidem chromovým zvlhčeným koncentrovanou kyselinou sírovou⁶ (bylo zjištěno, že k úplné oxidaci NO v dané koloně



Obr. 2. Závislost produkce PNO_2 na generačním proudu I (zakreslené intervaly spolehlivosti jsou určeny pro hladinu významnosti $0,95$; do regresní přímky nejsou zahrnuty produkce při dvou nejvyšších generačních proudech)

postačila již délka oxidačního lože 5 cm). Průtoková rychlost nosného plynu byla při všech měřeních 1 ml.s^{-1} .

V druhé části nádoby je počerněná platinová anoda (plíšek o geometrickém povrchu 3 cm^2) ponořená v roztoku $1 \text{ M-H}_2\text{SO}_4$. Oba prostory nádoby jsou odděleny membránou z Nafionu, která mezi anodou a katodou zajišťuje vodivé spojení, ale zabraňuje smísení roztoků.

Elektrody jsou připojeny k jednoduchému galvanostatu tvořenému neinvertujícím zapojením operačního zesilovače (MAA725); pro generační proud platí $I = U/R$ (pokud není dosaženo saturačního napětí zesilovače).

Produkce generátoru byla zjišťována spektrofotometricky. Oxid dusičitý generovaný při určitém generačním proudu byl definovanou dobu absorbován v alkalickém roztoku guajakolu (*o*-methoxyfenol)⁷. Diazotací *p*-nitroanilinu následovanou kopulací vzniklé diazoniové soli s guajakolem vzniká barevný produkt, jehož intenzita je úměrná obsahu NO_2 v absorpčním roztoku⁸.

Výsledky a diskuse

Na obr. 2 je závislost produkce NO_2 na velikosti generačního proudu. Jednotlivé produkce jsou průměrem z minimálně 12 hodnot změřených při daném generačním proudu, v různou dobu od zahájení generace (v intervalu od 15 do 500 minut) a v různých dnech používání generátoru. Produkce závisela lineárně na generačním proudu do hodnoty asi 4 mA . Ze směrnice lineární závislosti platí pro produkci P

$$P = (7,28 \pm 0,43) I$$

(nulová hodnota úseku leží uvnitř intervalu spolehlivosti). Protéká-li generátorem nosný plyn konstantní rychlostí v [ml.s^{-1}], pak lze koncentraci NO_2 , c [ppm (v/v)], vypočítat ze vztahu

$$c = [(3,87 \pm 0,23) I]/v$$

(vztah platí pro teplotu $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a tlak $101,3 \text{ kPa}$). Při průtoku nosného plynu 1 ml.s^{-1} lze pouze volbou generačního proudu $0,1$ až 4 mA připravit testovací plyn o koncentracích NO_2

Tabulka II

Test dlouhodobé stálosti produkce NO₂ (intervaly spolehlivosti odpovídají hladině významnosti 0,95)

Proud [mA]	Produkce [ng.s ⁻¹]	Celková doba generace [min]	Počet bodů
0,1	1,12±0,09	300	5
0,8	3,30±0,19	300	6
1,0	5,95±0,24	330	8
2,0	15,75±0,33	400	9
4,0	27,02±1,00	500	9

v oboru asi 0,4 až 15 ppm. Změnou průtokové rychlosti lze koncentraci dále měnit.

Dlouhodobá produkce generátoru byla testována vždy po dobu několika hodin při různých generačních proudcích z oblasti lineární závislosti produkce na proudu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce II. Z uvedených údajů je zřejmé, že produkce je dostatečně stabilní po dobu testování, tj. minimálně 5 hodin. Čerstvý generační roztok umožnil celodenní použití generátoru. Konstantní produkce bylo dosaženo po asi 10 minutách od zahájení generace.

Jak je zřejmé z obr. 2, při vyšších generačních proudcích přestává produkce záviset lineárně na generačním proudu a stává se nereprodukovatelnou. Bylo zjištěno, že oblast lineární závislosti produkce na proudu závisí na geometrickém povrchu generační katody. Např. při použití drátkové katody o geometrickém povrchu asi 0,2 cm² (Ag drátek o průměru 0,4 mm ponořené do generačního roztoku v délce asi 1,5 cm) došlo k odklonu od linearit již při proudcích řádu desetin mA. Tato závislost nebyla blíže zkoumána. Příčinou je zřejmě pasivace elektrody při vyšších proudových hustotách spojená s poměrně komplikovaným mechanismem elektrochemické redukce dusičnanového (případně dusitanového) aniontu, který vede k mnoha různým reakčním produktům^{3,4,9}.

Velké množství reakčních produktů vznikajících při redukci dusičnanového aniontu je zřejmě příčinou i nízké proudové účinnosti elektrolyzy vzhledem k produkci NO (a poté k NO₂). Za předpokladu, že NO je produkován dle rovnic 1 a 2, je proudová účinnost elektrolyzy pouze asi 4,5 %.

V generátoru nelze použít platinovou katodu. Při elektrolyze s touto elektrodou (ať již lesklou nebo pokrytou Pt černí) nebyl NO v nosném plynu detegován. Lze předpokládat, že v důsledku vysoké katalytické aktivity platinové elektrody je dusitan vzniklý redukcí dusičnanu na elektrodě elektrochemicky zredukován na další produkty (hydroxylamin, hydrazin atp.) tak rychle, že redukce hydrochinonem na NO nestačí proběhnout. Nízká katalytická aktivita stříbra je zde výhodou. Stříbrná katoda je pro redukci dusičnanu na dusitan doporučována i při stanovení dusičnanů a dusitanů v průtoku založeném na detekci vznikajícího NO pokovenou membránovou elektrodou¹⁰.

Závěr

Popsaný generátor je levným zdrojem oxidu dusičitého (případně dusnatého, není-li v proudu plynu zařazena oxidační

kolona), který lze snadno v laboratoři sestavit a provozovat za nenáročných provozních a bezpečnostních podmínek. Problémem je nízká proudová účinnost, takže produkci plynu nelze vypočítat z Faradayova zákona, ale generátor je zapotřebí okalibrovat, např. některou z mnoha spektrofotometrických metod. Rovněž je zapotřebí zjistit pracovní oblast generátoru, kdy je produkce lineárně závislá na generačním proudu a dostatečně reprodukovatelná; tato oblast bude záviset na velikosti generační katody. Poté generátor poskytuje konstantní, dostatečně dlouhodobě stabilní produkci oxidu dusičitého.

Práce vznikla za finanční podpory MŠMT České republiky – FRVŠ, grant 2060/2001.

LITERATURA

1. Yoshimori T., Kawahara H., Hara T., Ikeeda A.: *Anal. Chim. Acta* 98, 171 (1978).
2. Hersch P. A., Deuringer R.: *J. Air Pollut. Control Assoc.* 13, 538 (1963).
3. Gadde R. R., Bruckenstein S.: *J. Electroanal. Chem.* 50, 163 (1974).
4. Horányi G., Rizmayer E. M.: *J. Electroanal. Chem.* 140, 347 (1982).
5. Cox R. D.: *Anal. Chem.* 52, 332 (1980).
6. Levaggi D. A., Kothny E. L., Belsky T., De Vera E. R., Mueller P. K.: *Environ. Sci. Technol.* 8, 348 (1974).
7. Nash T.: *Atmos. Environ.* 4, 661 (1970).
8. Baveja A. K., Chaube A., Gupta V. K.: *Atmos. Environ.* 18, 989 (1984).
9. Wang E., Xiangqin L.: *J. Electroanal. Chem.* 136, 311 (1982).
10. Trojánek A., Opekar F.: *J. Electroanal. Chem.* 214, 125 (1986).
11. Saltzman B. E.: *Anal. Chem.* 33, 1100 (1961).
12. Opekar F., Langmaier J.: *Talanta* 39, 367 (1992).
13. Příbyl Z.: *Z. Anal. Chem.* 217, 7 (1966).
14. Weedon B. C. L.: *Quart. Review (London)* 6, 38 (1952).
15. Hersch P. A.: *J. Air Pollut. Control Assoc.* 19, 165 (1969).
16. Tocksteinová Z., Opekar F.: *Talanta* 33, 688 (1986).
17. Opekar F.: *Chem. Listy* 88, 258 (1994).
18. Walendziak L., Wronski M.: *Chem. Anal. (Warsaw)* 22, 55 (1977).

M. Novotný and F. Opekar (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Electrochemical Generation of Nitrogen Dioxide for Testing of Gas Sensors**

The generation of NO₂ in a simple generator is based on galvanostatic reduction of nitrate anion to nitrite on silver cathode. Nitrite anion is chemically reduced directly in the generation solution with hydroquinone to nitrogen oxide. NO is oxidized in a stream of air to NO₂ by passing of through an oxidation column containing CrO₃. The NO₂ production is linearly dependent on generation current in a certain range of currents which depends on the cathode surface area. The production is stable for at least six hours. Due to a low electrolytic efficiency (about 4.5 %), the NO₂ production cannot be calculated from Faraday law but must be determined experimentally.

STANOVENÍ TĚŽKÝCH A TOXICKÝCH KOVŮ V DEHTECH

PAVEL STRAKA, VOJTĚCH CHALUPSKÝ
a VLASTIMIL KRÍŽ

Ústav struktury a mechaniky hornin, Akademie věd České republiky, V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8
e-mail: Straka@irms.cas.cz

Došlo dne 27.III.2000

Klíčová slova: dehty, mineralizace, těžké kovy

Úvod

Stanovení těžkých a toxických kovů v dehtech úzce souvisí s využitím odpadních plastů. Jednou z možností zpracování je tepelný rozklad těchto plastů v přítomnosti uhlí, tj. společná pyrolýza, kopyrolýza, která poskytuje významný kapalný produkt – dehet s nízkým obsahem popela a síry, použitelný jako topný olej¹. Problematikou těžkých kovů a toxických prvků v surovinách a palivech se zabývá sdělení², obsahy stopových prvků a ekologicky závadných prvků v uhlí jsou diskutovány v pracích^{3–5}. Analýzu toxických prvků v koksech a dehtech z kopyrolýzy zmiňuje práce⁶.

Výnos dehtu může být posuzován jako hlavní kritérium účinnosti kopyrolýzy při zpracování odpadních plastů. Je však třeba znát obsah těžkých a toxických kovů v těchto dehtech pro posouzení dopadu jejich spalování jako topných olejů na životní prostředí.

Cílem této práce je popsat metodu rozkladu vzorků dehtů pro stanovení těžkých a toxických kovů a posoudit obsah těchto kovů v dehtech.

Experimentální část

Ke kopyrolýze bylo použito černé uhlí z ostravsko-karvinského revíru (OKR) s obsahem popela 4,4 hm.%, 0,3 hm.% celkové síry (vztaženo na suché uhlí) a 1,1 hm.% vody. S tímto uhlím byl společně pyrolýzován jednak kopolymer akrylonitril-butadien-styren, ABS, (obchodní označení Forsan, Kaučuk Kralupy, a.s.), jednak lehká frakce komunálního směsného odpadu s převládajícím podílem polyolefinů (zdánlivá hustota γ pod $1,0 \text{ g.cm}^{-3}$, z produkce Transform Lázně Bohdaneč, a.s.).

Uhlí bylo mletím upraveno na zrnitost pod 3 mm a vysušeno v teplovzdušné sušárně při $105 \text{ }^\circ\text{C}$. Zrnitost pod 3 mm měl i použitý plast ABS. Směsný komunální odpad byl rozplavením ve vodě rozdělen na lehkou ($\gamma < 1 \text{ g.cm}^{-3}$) a těžkou frakci ($\gamma > 1 \text{ g.cm}^{-3}$). Ke kopyrolýze byla použita lehká polyolefinová frakce, která byla upravena na zrnitost pod 5 mm. Lehká polyolefinová frakce (LPF) obsahovala polyethylen o vysoké hustotě, dále o nízké hustotě, a málo PVC. Nejvíce byly zastoupeny polyethylen o vysoké hustotě a polypropylen, jak prokázala diferenciální skenovací kalorimetrie (přístroj Pyris DSC 7, Perkin-Elmer).

Kopyrolýzy byly prováděny v ocelové retortě umístěné v elektrické odporové peci s programovatelnou regulací ohřevu⁷. Vždy 5 kg směsi bylo zahříváno rychlostí ohřevu $5 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$ do konečné teploty $900 \text{ }^\circ\text{C}$. Časová prodleva na této teplotě byla 30 min. Kopyrolýzovaná vsázka obsahovala 15, 30 a 60 hm.% odpadního plastu.

Těkavé produkty pyrolýzy byly po odchodu z retorty chlazeny vzdušným chladičem. Dehet byl odlučován z proudu surového plynu ve vodou chlazeném chladiči a jímáči kapalných produktů. Takto bylo získáno 7 vzorků dehtu pro uvažovaná stanovení. Složení kopyrolýzovaných směsí a výtěžky dehtu uvádí tab. I.

U získaných vzorků dehtů byly stanoveny těžké kovy, a to jednak emisní spektrografií, jednak atomovou absorpční spektrometrií (AAS). Emisní spektrografií byl v dehtech řádově stanoven obsah Cu, Zn, Fe, Mg, Al a Ca. V případě stanovení AAS byly vzorky dehtu nejprve mineralizovány. Protože tyto vzorky byly za laboratorní teploty příliš viskózní, provedli jsme nejprve jejich ohřev na asi $40\text{--}50 \text{ }^\circ\text{C}$. Při této teplotě bylo možné vzorky dobře homogenizovat promícháním platinovou tyčkou a poté odvážit. Pro vysoký obsah organických látek nemohl být použit rozklad podle Proctera-Smitha kyselinou fluorovodíkovou a chloristou. Byl proto vypracován následující, vlastní postup rozkladu.

Do teflonových kelímků jsme odvážili 300–400 mg vzorku a přidali asi 5 ml konc. HF a stejné množství konc. HNO_3 .

Tabulka I

Výtěžky dehtu při kopyrolýze odpadních polyolefinů a kopolymeru ABS s černým uhlím

Vzorek	Složení kopyrolýzované směsi [hm.%]	Výtěžek dehtu [hm.%]
1	100 % uhlí	4,2
2	15 % LPF, 85 % uhlí	7,0
3	30 % LPF, 70 % uhlí	9,9
4	60 % LPF, 40 % uhlí	12,4
5	15 % ABS, 85 % uhlí	9,6
6	30 % ABS, 70 % uhlí	16,4
7	60 % ABS, 40 % uhlí	25,5

Tabulka II

Výsledky stanovení As, Be, Pb a Cd v dehtech z kopyrolýzy atomovou absorpční spektrometrií (v ppm, bezplamenová technika s grafitovou kyvetou)

Vzorek	As	Be	Pb	Cd
1	4,2	0,03	2,3	5,1
2	1,4	0,01	0,3	1,8
3	0,8	0,02	0,4	0,2
4	0,7	0,02	2,0	1,3
5	1,8	0,03	0,5	13,3
6	1,5	0,03	0,0	0,8
7	2,1	0,03	0,7	0,2

Tabulka III
Obsahy toxických a těžkých kovů v uhlích OKR (v ppm)

Starší stanovení			Nová stanovení		
As	Be	Pb	Cd	As	Pb
2,9±0,7	0,3	5,4±2,9	0,2–0,5	22±10	19±4
1,4±0,9	–	8,1±5,5	–	15±2	23±4
1,9±1,1	–	7,2±4,4	–	19,0±6,8	21±4

Tabulka IV

Výsledky stanovení Cu, Mn a Zn v kopyrolýzních dehtech metodou AAS (v ppm, plamenová technika). V závorce jsou uvedeny výsledky stanovení Cu, Zn a dalších kovů emisní spektrografii (v hm.%)

Vzorek	Cu	Mn	Zn	Fe	Mg	Al	Ca	Li
1	4,1 (10 ⁻⁴ –10 ⁻⁵)	1,1	22,1 (10 ⁻²)	(10 ⁻²)	(10 ⁻³)	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	0
2	0,3 (10 ⁻⁵)	0,4	1,7	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻³)	(10 ⁻³)	(0)	0
3	0,3	0,2	3,0	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	(0)	(0)	0
4	0,3 (10 ⁻⁵)	1,1	2,9	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	0
5	0,8 (10 ⁻⁵)	2,6	9,6	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	0
6	0,0	3,2	2,8	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻³)	(10 ⁻⁴)	0
7	0,0	2,2	8,8	(0)	(10 ⁻⁴)	(10 ⁻³)	(0)	0

Po odpaření do sucha jsme přidali asi 5 ml 100% dýmavé kyseliny dusičné (fa Merck). Po jejím velmi opatrném odpaření byl přidán roztok HCl (35 %) a HNO₃ (65 %) v obj. poměru 1:1. Po odkouření směsi jsme přidali 30% peroxid vodíku a po povareň a odpaření do sucha následoval přírůvek 20 ml konc. HNO₃. Roztok jsme dokonale provařili pod hodinovým sklem. Nakonec jsme získaný vzorek převedli do 100 ml odměrné baňky a doplnili destilovanou vodu. Rozklad dehtů uvedeným postupem byl velmi úspěšný. Při použití klasických lučavek – Lefortovy a královské⁸ – nebyl nikdy tento rozklad tak dokonalý.

V získaných roztocích byl stanoven obsah As, Be, Pb, Cd, dále pak Cu, Mn, Zn a Li metodou AAS. Byl použit přístroj Varian 300. Stanovení As, Be, Pb a Cd bylo provedeno standardní bezplamenovou technikou pomocí grafitové kyvety, stanovení Cu, Mn, Zn a Li pak běžnou plamenovou technikou. Dále byly emisní spektrografii (přístroj Q-39, Carl Zeiss Jena) určeny obsahy Cu, Zn, Fe, Mg, Al a Ca.

Přesnost stanovení AAS bezplamenovou technikou byla testována u vzorku 5, tabulka I, měřením obsahu As. Při 5 stanoveních byl nalezen průměr 1,8 ppm a směrodatná odchylka 0,4. Přesnost stanovení AAS plamenovou technikou byla testována u téhož vzorku měřením obsahu Cu. Pro 5 stanovení byl nalezen průměr 0,8 ppm a směrodatná odchylka 0,4. Přesnost uvažovaných stanovení je tedy srovnatelná s ob-

dobnými stanoveními těžkých kovů v uhlí (viz dále, tabulka III) a lze ji hodnotit jako přijatelnou.

Správnost stanovení bezplamenovou technikou byla ověřena standardním přírůvkem As. Ke 250,0 g dehtu (vzorek 5, tabulka I) se zjištěným obsahem As 1,8 ppm (vzorek 5, tabulka II) bylo přidáno 1,6 mg práškového As₂O₃. Směs byla homogenizována třepáním po dobu 5 hodin a ultrazvukem po dobu 30 min při teplotě 40 °C. Koncentrace As byla tak upravena na hodnotu 4,2 ppm, která byla uvažována jako správná, resp. očekávaná. Po rozkladu 400 mg směsi popsáním způsobem byla provedena 3 stanovení AAS. Zjištěná hodnota průměru byla 5,3 ppm, směrodatná odchylka průměru 0,6. Vypočtená hodnota charakteristiky *t* Studentova *t*-testu byla pak 1,84, což je hodnota menší než tabelovaná kritická hodnota na hladině významnosti 0,05 pro daný případ (4,303). Metoda tedy poskytuje správné výsledky.

Správnost stanovení plamenovou technikou byla ověřena obdobným způsobem na Cu, avšak nejprve byla stanovena koncentrace Cu emisní spektrografii. Toto stanovení prokázalo řádovou shodu se stanovením AAS (vzorek 5, tabulka IV). Vlastní ověření bylo provedeno tak, že ke 250,0 g vzorku dehtu 5 bylo přidáno 1,0 mg práškového CuO. Směs byla pak podrobena stejné proceduře jako v případě As. Koncentrace Cu tak byla upravena na 4,1 ppm, přičemž tato hodnota byla uvažována jako správná, resp. očekávaná. Ze 3 stanovení AAS byl zjištěn průměr 3,7 ppm a směrodatná odchylka průměru 0,3. Vypočtená hodnota charakteristiky *t* Studentova *t*-testu byla pak 1,34, což je hodnota menší než uvedená tabelovaná kritická hodnota na hladině významnosti 0,05. Metoda tedy poskytuje správné výsledky.

Výsledky získané u dehtů z kopyrolýzy byly porovnávány s obsahy kovů ve srovnávacím vzorku dehtu (vzorek 1, tabulka II a IV), pořízeném pyrolýzou samotného černého uhlí za uvedených podmínek, a s obsahy kovů v ostravsko-karvinských uhlích³ (tabulka III a V). Výsledky shrnují tabulky II a IV.

Výsledky a diskuse

Z toxických kovů byly stanoveny As, Be, Pb a Cd. Výsledky stanovení těchto kovů metodou AAS shrnuje tab. II.

Obsah uvažovaných toxických kovů v získaných dehtech byl ve všech případech velmi nízký – pohyboval se, s jedinou výjimkou, v setinách až jednotkách ppm. Protože se toxicita jednotlivých kovů liší, je třeba probrat jejich obsahy odděleně a porovnat je s hodnotami srovnávacího vzorku a ostravsko-karvinských uhlí, používaných ke spalování v lokálních topeništích a elektrárnách (tabulka III)³.

Arsen. Obsahy arsenu byly ve všech případech u kopyrolýzních dehtů nižší než u srovnávacího vzorku 1 (tabulka II) a nižší nebo obdobné jako u uhlí OKR (tabulka III). Je zřejmé, že nositelem arsenu je uhlí a přírůvek odpadního polyolefinu či polymeru ABS snižuje jeho obsah ve směsi a rezultujícím dehtu, v daném případě 2 až 6x. Pro spalování kopyrolýzních dehtů je tato skutečnost velmi příznivá, protože sloučeniny arsenu jsou vysoce toxické.

Berylium. Obsahy berylia byly ve všech případech dehtů velmi nízké a podstatně nižší než v uhlích OKR, a lze je kvalifikovat jako zanedbatelné. Je zřejmé, že při spalování kopyrolýzních dehtů nebude berylium uvolňováno v koncen-

tracích ohrožujících čistotu ovzduší. Zanedbatelný obsah berylia v dehtech je dán jednak jeho nízkým obsahem v ostravsko-karvinských uhlích, jednak jeho absencí v uvažovaných polymerních materiálech.

Olovo. Obsahy olova byly, podobně jako u arsenu, ve všech případech sledovaných dehtů nižší než u srovnávacího vzorku a uhlí OKR. Přídatky odpadních polyolefinů nebo kopolymeru ABS snížily jeho obsah v dehtech až 7× (nulový obsah Pb ve vzorku 6, tabulka II je atypický). Pro spalování kopyrolýzních dehtů je tato skutečnost velmi příznivá.

Kadmium. Pozorované obsahy kadmia byly oproti srovnávacímu vzorku nízké, avšak většinou vyšší než u uhlí OKR. Výjimkou byl vzorek 5 (15 % ABS, tabulka I a II), kde bylo oproti srovnávacímu vzorku dehtu pozorováno řádové zvýšení obsahu (tabulka II). U dalších vzorků pořízených s týmž kopyrolýzovaným kopolymerem ABS (6 a 7, tabulka II, 30 a 60 % ABS) však byly pozorovány obsahy Cd naopak o řád nižší než u srovnávacího vzorku. Vysoký obsah Cd u vzorku 5 a naopak nízké obsahy Cd u vzorků 6 a 7 lze připsat heterogennímu charakteru uhlí. V ostravsko-karvinských uhlích je obsah kadmia nízký, jak ukazuje tabulka III. Je zřejmé, že při pyrolýze a kopyrolýze se kadmium může koncentrovat v dehtu. S touto možností je tedy třeba při spalování počítat.

Tabulka V

Obsahy těžkých kovů v uhlích ostravsko-karvinského revíru (v ppm)

Starší stanovení			Nová stanovení		
Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn
26,2±5,6	63,0±52,0	8,9±4,1	34±5	213±92	15±7
22,6±22,2	100±77	182±563	27±4	127±115	65±52
24±16	87±68	121±419	30,5±4,5	170±131	40±30

Dále byla věnována pozornost některým těžkým kovům (Cu, Mn, Zn, Fe a Mg), doplňkově také hliníku, vápníku a lithiu. Výsledky shrnuje tabulka IV. Výsledky pro vzorky 2–7 uvedené v tabulce IV byly porovnány opět se vzorkem 1 a dále s obsahy těžkých kovů v uhlích OKR (tabulka V)³. V případě Cu a Zn byly obsahy těžkých a dalších sledovaných kovů v kopyrolýzních dehtech nižší než u srovnávacího vzorku nebo obdobné a výrazně nižší než u uhlí OKR. V případě Mn byly jeho obsahy u vzorků 5, 6 a 7 (kopolymer ABS s uhlím) 2–3× vyšší než u srovnávacího vzorku, avšak výrazně nižší než u uhlí OKR.

Na základě uvedených výsledků lze říci, že využití kopyrolýzních dehtů pro spalování, tj. jako náhražkové topné oleje, je po stránce obsahu toxických a těžkých kovů schůdné.

Závěr

Dehty z kopyrolýzy odpadních polyolefinů a kopolymerů ABS s uhlím lze použít jako náhražkové nízkosírné topné oleje, obsahující méně toxických a těžkých kovů než černo-uhelný dehet a ke spalování používaná uhlí ostravsko-karvinského revíru. Vzhledem k nízkým obsahům těžkých a toxických kovů lze předpokládat, že při jejich spalování budou dodrženy emisní limity (I. skupina – Hg, Tl, Cd – $\Sigma 0,2 \text{ mg.m}^{-3}$, II. skupina – As, Ni, Cr, Co – $\Sigma 2 \text{ mg.m}^{-3}$, III. skupina – Pb, Cu, Mn – $\Sigma 5 \text{ mg.m}^{-3}$) Tyto topné oleje by mohly nahradit topné oleje vyráběné z ropy.

Tato práce byla podporována Radou programu podpory cíleného výzkumu a vývoje Akademie věd České republiky jako grantový projekt č. S3046004.

LITERATURA

1. Kozubek E., Buchtele J., Roubíček V.: Ropa Uhlíe 39, 43 (1997).
2. Houdek M.: *Plastové odpady, recyklace, zneškodnění, Seč 2000*, str. 27.
3. Klika Z., Mrozek S., Weiss Z., Kolomazník I., Tomášek V.: Acta Montana, B 98(5), 7 (1995).
4. Klika Z., Kolomazník I.: Fuel 79, 659 (2000).
5. Bouška V., Pešek J., Sýkorová I.: Acta Montana, B 117(10), 53 (2000).
6. Straka P., Buchtele J., Kříž V., Kovářová J.: Proc. 1st Int. Conf. Polymer Modification, Degradation and Stabilization, Palermo 2000, str. 1145.
7. Buchtele J., Šrogl J.: Acta Montana, B 94(4), 21 (1994).
8. Doležal J., Povondra P., Šulcek Z.: *Rozklady základních anorganických surovin*, str. 10 a 114. SNTL, Praha 1966.

P. Straka, V. Chalupský, and V. Kříž (Institute of Rock Structure and Mechanics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Determination of Trace Elements in Tars**

Tars from co-pyrolysis of waste polyolefins and ABS polymers with coal, prepared on laboratory macroscale were investigated from the viewpoint of trace element contents, because the tars can be used as substitutes for low-sulfur heating oils. In tars, the contents of toxic elements determined by AAS were as follows: As 0.7–2.1, Be 0.01–0.03, Pb 0.3–2.0, Cd 0.2–1.8 (exceptionally 13.3), Cu 0.3–0.8, Mn 0.2–3.2, and Zn 1.7–9.6 ppm. In comparison with coals used for combustion, the trace element contents in the tars are lower or significantly lower. Therefore, the co-pyrolysis tars are suitable for combustion and can substitute oils produced from crude oil.

SEPARACE A KVANTIFIKACE NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH THIODERIVÁTŮ AKRIDINU POMOCÍ KAPILÁRNÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE

ZUZANA BOSÁKOVÁ^a, EVA TESAŘOVÁ^b,
PAVEL COUFAL^a, BOŽENA KAFKOVÁ^a
a JACQUES BARBE^c

^aKatedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, e-mail: bosakova@natur.cuni.cz, ^bKatedra fyzikální a makromolekulární chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 43 Praha 2, ^cGERCTOP UPRES A CNRS 6009, Faculty of Pharmacy, 27 Bd Jean-Moulin, 133 85 Marseille, France

Došlo dne 6.II.2001

Klíčová slova: kapilární kapalinová chromatografie, CLC, thioderiváty akridinu, separace, optimalizace, kvantifikace

Úvod

Deriváty akridinu patří do skupiny farmaceuticky významných chemoterapeutik, u nichž byl prokázán antibakteriální, antimykotický, a především antimalarický účinek¹. Řadu let se používají k léčbě protozoálního onemocnění, vyvolaného různými druhy mikroorganismů rodu *Plasmodium*². V posledních letech nabývají na významu i deriváty s antineoplastickými účinky³. Narůstající rezistence patogenů vůči dnes používaným chemoterapeutikům vede ke snaze produkovat nové deriváty se specifitějšími účinky. Současně roste i poptávka po citlivých a selektivních metodách určených k ověření čistoty léčiv a pro jejich detekci a stanovení v biologických matricích.

Z chemického hlediska jsou akridiny látky odvozené od struktury dibenzopyridinu, nesoucí ve své molekule minimálně jeden dusíkový atom jako součást aromatického cyklu. Vlastní akridin se chová ve vodném roztoku jako slabá báze (pK_b 8,4). Zachování bazických vlastností lze předpokládat i u syntetických derivátů a jejich degradačních produktů, s pouze malou změnou disociační konstanty, danou povahou a polohou substituentů⁴.

Při analýze akridinových derivátů se nejčastěji využívá technika vysokoučinné kapalinové chromatografie, zejména pro zkoušky totožnosti a kontrolu čistoty akridinových substancí⁵ a pro farmakologické a farmakokinetické studie⁶. Díky zmíněné bazicitě těchto látek byla úspěšně provedena jejich separace i metodou kapilární elektroforézy⁷. Elektrochemicky byl oxidován pouze nesubstituovaný akridin⁸. Metodou kapilární kapalinové chromatografie (CLC) nebyly deriváty akridinu dosud analyzovány.

Výhodou CLC oproti klasické HPLC je menší spotřeba organických rozpouštědel (velmi malý průtok mobilní fáze ~ jednotky $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$) a mnohem menší nároky na množství požadovaného vzorku⁹⁻¹⁰ (desítky nl). To je důležité např. při sledování metabolických produktů v tělních tekutinách nebo při určování obsahu hlavní komponenty a doprovodných nečistot

ze syntézy. Má-li se navíc zabezpečit věrohodnost analytických výsledků a dostát pravidlům správné laboratorní praxe (GLP), je třeba analýzu několikrát opakovat. Nezanedbatelnou výhodou CLC je i snazší spojení s detekcí hmotovou spektrometrií.

Z výše uvedených důvodů byla v této práci věnována pozornost vypracování analytické metody pro separaci a kvantifikaci nově syntetizovaných thioderivátů akridinu pomocí metody kapilární kapalinové chromatografie. Současně byla posouzena i možnost uplatnění této techniky pro kontrolu čistoty připravených substancí.

Experimentální část

Použité přístroje a chemikálie

Měření byla provedena na přístroji sestávajícím z ISCO pumpy 100 DM (Lincoln, NE, USA), LINEAR UV/VIS 205 fotometrického detektoru (San Jose, CA, USA) s CE detekční celou a dávkovacího ventilu Valco se 60 nl smyčkou (Schenkon, Švýcarsko). Získaná experimentální data byla zpracována na počítači Pentium III s CSW 1.7 programem se čtyřkanálovou kartou pro sběr dat od fy DataApex (Praha, Česká republika).

Látky byly separovány na křemenné kapilární koloně (vnitřní průměr 320 μm) naplněné v délce 360 μm stacionární fází Nucleosil 100-5 C18 o průměru zrna 5 μm . Kolona byla na výstupním konci opatřena fritou ze skelné vaty, kterou uvnitř kolony držela křemenná kapilára o vnitřním průměru 75 μm a vnějším průměru 280 μm a délce 55 μm , která byla vlepena epoxidovým lepidlem do kapilární kolony se stacionární fází. Druhý konec této křemenné kapiláry byl napojen pomocí převlečné teflonové trubičky na křemennou kapiláru o vnitřním průměru 220 μm a vnějším průměru 340 μm , na níž bylo vypáleno detekční okénko ve vzdálenosti 70 mm od spoje obou kapilár.

K měření pH vodné složky mobilní fáze byl použit pH-metr PHM 64 Radiometer (Copenhagen, Dánsko) s kombinovanou skleněnou elektrodou. Detekce probíhala současně při dvou vlnových délkách 214 nm a 230 nm, vybraných na základě proměřených UV spekter jednotlivých derivátů. Pracovalo se za laboratorní teploty 22 °C. Mrtvý čas byl určen pomocí vodného roztoku uracilu o koncentraci $1\cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} a činil 5,1 min.

Pro přípravu mobilní fáze byly použity tyto chemikálie: acetonitril LiChrosolv, čistota pro gradientovou eluci, Merck (Darmstadt, SRN), kyselina octová a hydroxid sodný, čistota p.a. Lachema (Brno, Česká republika), deionizovaná voda (Milli-Q). Složení binární mobilní fáze bylo: acetonitril/deionizovaná voda s proměnlivým obsahem acetonitrilu nebo acetonitril/0,2 mol. dm^{-3} octanový pufr o pH 3,5 (90:10 v/v). Mobilní fáze byly odplyněny pomocí ultrazvuku.

Strukturální vzorce a kódová označení pěti analyzovaných derivátů akridinu, syntetizovaných v miligramových množstvích na Farmaceutické fakultě v Marseille (Francie), jsou uvedeny na obr. 1. Zásobní roztoky všech studovaných látek o koncentraci $1\cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} , byly připraveny rozpuštěním příslušného množství látky v acetonitrilu.

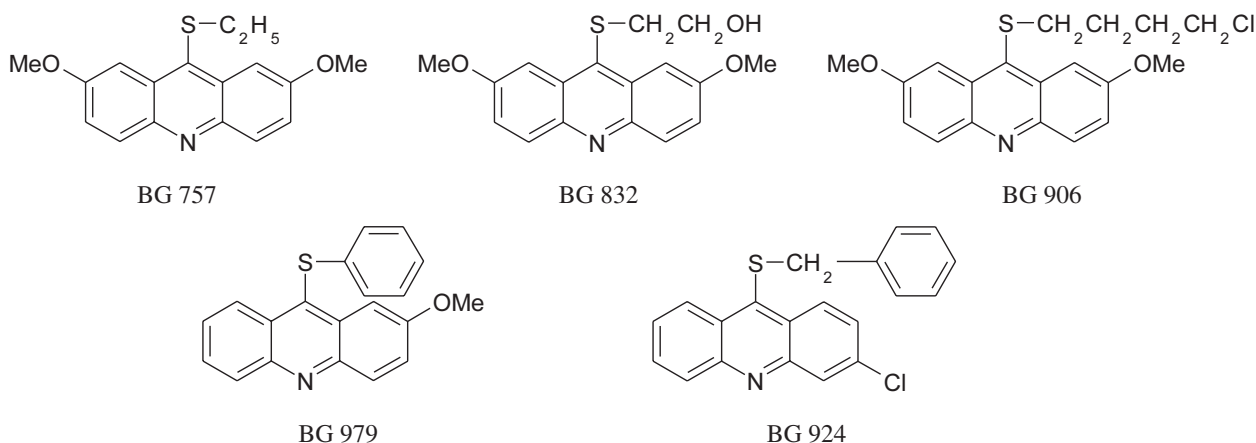
Všechny studované thioderiváty byly připraveny analogickým způsobem na Farmaceutické fakultě v Marseille v od-

dělení prof. J. Barbeho¹¹⁻¹³. Prvním krokem je příprava difenylaminokarboxylové kyseliny z aromatické halogenkarboxylové kyseliny a anilinu metodou podle Ullmanna¹¹. Ta se pomocí oxychloridu fosforečného zcyklizuje a získá se akridon. Ten se pomocí sulfidu fosforečného v pyridinu převede na thioakridon¹². Alkylací (arylací)¹³ thioakridonu se získá akridinový thioderivát (obr. 2).

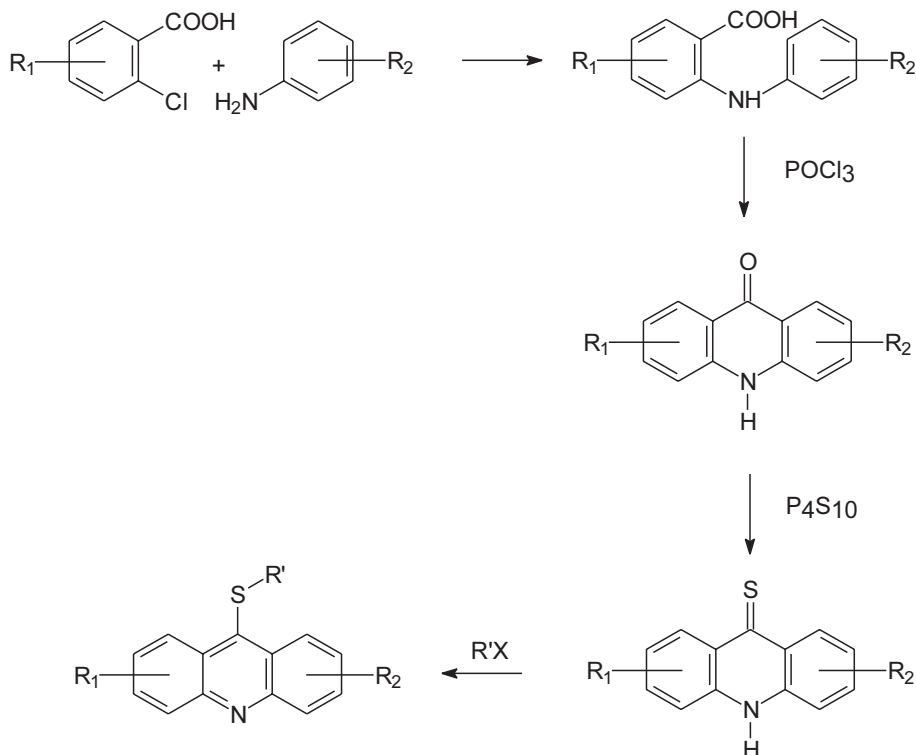
Výsledky a diskuse

Vzhledem k tomu, že studované thioderiváty akridinu

neměly deklarovanou čistotu, hledaly se nejprve vhodné separační podmínky pro získání dostatečného rozlišení mezi hlavní složkou a doprovodnými nečistotami ze syntézy. Byl proměřen vliv obsahu acetonitrilu na retenční chování jednotlivých derivátů v mobilní fázi acetonitril/voda s proměnlivým obsahem acetonitrilu v rozmezí 100 % až 60 % (v/v). Na obr. 3 je patrné, že už v mobilní fázi s 90 % acetonitrilem došlo téměř u všech derivátů k separaci hlavní složky od doprovodných nečistot. Další snižování obsahu acetonitrilu mělo za následek zvyšování hodnot retenčního (*k*) a asymetrického (*As*) faktoru a ani při nejnižším proměřovaném obsahu acetonitrilu nedošlo k oddělení dalších nečistot od majoritního píku. Účinnost se-



Obr. 1. Strukturální vzorce a kódová označení analyzovaných derivátů akridinu



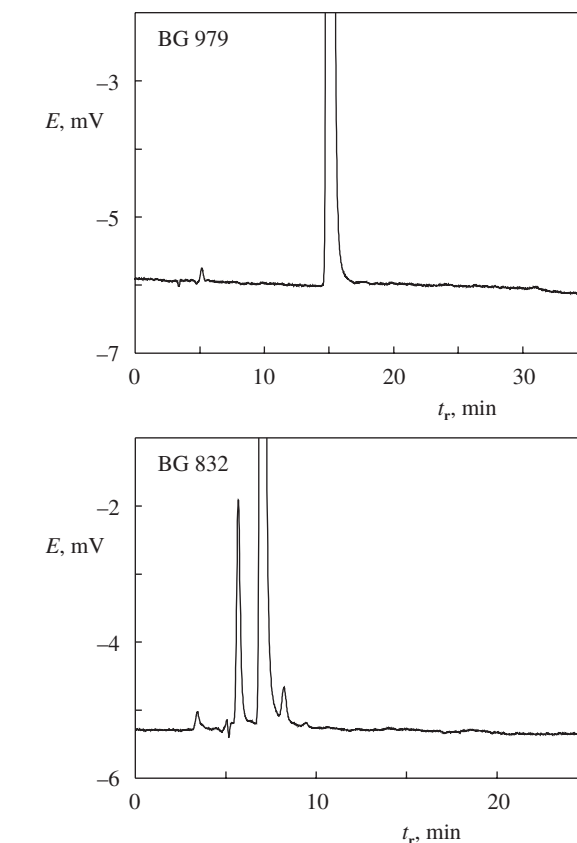
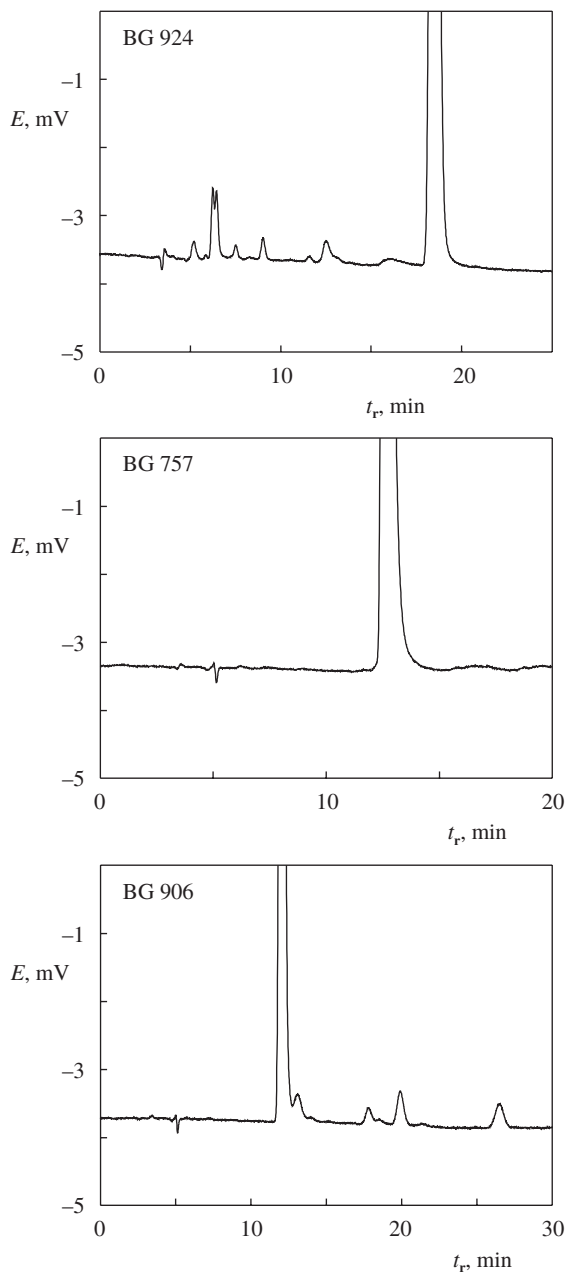
Obr. 2. Postup přípravy thioderivátů akridinu

Tabulka I

Retenční faktory (k), asymetrické faktory (As) a počet teoretických pater (N) studovaných derivátů v binární mobilní fázi acetonitril/voda s různým obsahem acetonitrilu, průtoková rychlost $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, detekce při 230 nm

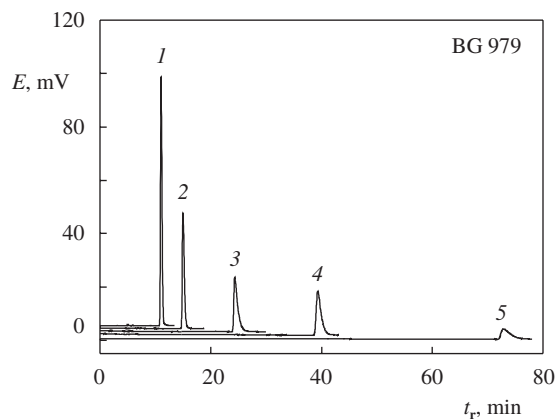
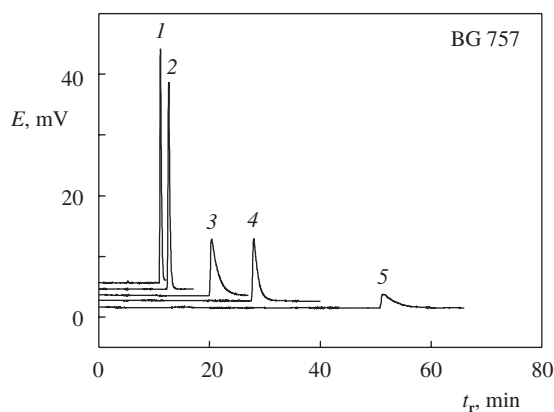
Derivát	90 %			80 %			70 %			60 %		
	k	As	N	k	As	N	k	As	N	k	As	N
BG 757	1,4	2,22	18800	2,8	7,9	4400	4,4	5,15	17100	8,8	8,23	8500
BG 832	0,3	1,63	12100	0,5	2,65	5600	0,7	1,88	10200	1,2	2,93	7700
BG 906	1,3	1,46	20400	2,8	3,72	14700	5,2	2,51	24200	10,9	5,56	21200
BG 924	2,5	1,36	29800	5,2	1,60	29200	11,6	1,51	26900	– ^a	– ^a	– ^a
BG 979	1,8	1,74	22800	3,5	3,77	17100	6,6	2,67	26900	13,0	3,75	26400

^a Neeluoval do 100 min



Obr. 3. Chromatogramy studovaných derivátů akridinu v mobilní fázi acetonitril/voda (90:10, v/v); průtok mobilní fáze $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, detekce při 214 nm pro BG 924 a BG 979 a při 230 nm pro BG 757, BG 832 a BG 906 (E = odezva detektoru v mV, t_r = retenční čas v min)

parace, vyjádřená jako počet teoretických pater na metr délky kolony (N), byla s výjimkou derivátů BG 906 a BG 979 nejvyšší při 90% obsahu acetonitrilu (tab. I). V mobilní fázi s 80% obsahem acetonitrilu došlo u všech derivátů k výraznému zhoršení symetrie píků a ke snížení účinnosti separace; nejvíce u derivátu BG 757 (obr. 4), nejméně u derivátů BG 924 a BG 979 (obr. 4), jež obsahují v postranním řetězci fenylový substituent. Toto anomální chování bylo pozorováno i při 80% obsahu acetonitrilu v pufované mobilní fázi (viz kap. 3.1.).



Obr. 4. Vliv obsahu organického modifikátoru v binární mobilní fázi acetonitril/voda na retenční chování vybraných derivátů BG 757 a BG 979; průtok mobilní fáze $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, detekce při 230 nm, obsah acetonitrilu v mobilní fázi 1 – 100 %, 2 – 90 %, 3 – 80 %, 4 – 70 % a 5 – 60 % (E a t_r viz obr. 3)

Tabulka II

Retenční faktory (k), asymetrické faktory (A_s) a počet teoretických pater (N) studovaných derivátů v binární mobilní fázi (90:10 v/v) acetonitril/voda, průtoková rychlost $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ a acetonitril/0,2 mol. dm^{-3} octanový pufr o pH 3,5, průtoková rychlost $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, detekce 230 nm

Derivát	Mobilní fáze					
	nepufrovaná ^a			pufrovaná ^b		
	k	A_s	$N\cdot\text{m}^{-1}$	k	A_s	$N\cdot\text{m}^{-1}$
BG757	1,4	2,22	18800	1,5	1,86	25138
BG832	0,3	1,63	12100	0,4	1,33	16422
BG906	1,3	1,46	20400	1,5	1,30	26162
BG924	2,5	1,36	29800	2,5	1,19	36683
BG979	1,8	1,74	22800	2,3	1,37	33041

Průtok ^a $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, ^b $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$

Z tabulky I je zřejmé, že změna obsahu acetonitrilu měla podstatně menší vliv na retenční chování derivátu BG 832 než na ostatní deriváty, což je důsledek přítomnosti polární hydroxyskupiny v postranním alkylovém řetězci derivátu BG 832.

Nízké hodnoty retenčních faktorů doprovodných nečistot (s výjimkou nečistot u derivátu BG 906) ukazují na jejich značně polární charakter, patrně odpovídající výchozím složkám syntézy derivátu 9-(alkylthio)akridinu (obr. 1). Ze získaných experimentálních dat je patrné, že separace v mobilní fázi acetonitril/voda (90:10 v/v) z hlediska kontroly čistoty jednotlivých derivátů byla dostačující. Vzhledem k absenci standardů (pro majoritní složky i pro doprovodné nečistoty) byla čistota jednotlivých derivátů (prekurzorů léčiv) určena metodou vnitřní normalizace. Za daných experimentálních podmínek (detekce při 230 nm, průtoková rychlost $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$) byla stanovena čistota 100,0 % pro derivát BG 757, 90,2 % pro derivát BG 832, 92,9 % pro derivát BG 906, 92,3 % pro derivát 924 a 100,0 % pro derivát 979.

Optimalizace separačních podmínek za účelem kvantitativní analýzy

Z důvodu zvýšení citlivosti (zlepšení symetrie píků) při stanovení thioakridinových derivátů byl proměřen vliv acetátového pufru o pH 3,5 na separační chování jednotlivých derivátů. V mobilních fázích – acetonitril/0,2 mol. dm^{-3} octanový pufr o pH 3,5 s proměnlivým obsahem acetonitrilu došlo oproti vodně-acetonitrilovým mobilním fázím pouze k velmi malým změnám retence. Srovnávací měření byla prováděna při stejném průtoku mobilní fáze – tj. $4 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Proměřením van Deemterovy křivky (2–5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$) v pufrované mobilní fázi s 90% obsahem acetonitrilu pro všechny deriváty bylo zjištěno, že účinnost kolony roste s klesajícím průtokem mobilní fáze. Pro měření kalibračních křivek byla tedy zvolena průtoková rychlost $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ jako výsledek kompromisu mezi vyšší účinností a únosností doby analýzy, která nepřesáhla u žádného derivátu dobu 22 min (tab. II).

V mobilní fázi (90:10 v/v) acetonitril/0,2 mol. dm^{-3} octanový pufr o pH 3,5 a průtokové rychlosti $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ byly pro všechny deriváty proměřeny kalibrační křivky při dvou vlnových délkách (214 a 230 nm) v koncentračním rozsahu $1\cdot 10^{-6}$ mol. dm^{-3} až $1\cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} . Metodou lineární regrese byla vyhodnocována závislost jak plochy píku vs. molární koncentrace, tak výšky píku vs. molární koncentrace. Každá koncentrace příslušného derivátu byla proměřena 4x. Do kalibračních grafů byla vynášena průměrná hodnota plochy a výšky ze čtyř měření. V tabulce III a IV jsou uvedeny získané úseky, směrnice, korelační koeficienty (r) a lineární rozsahy kalibračních přímků (plocha vs. koncentrace) pro obě vlnové délky. Na obr. 5 je pro názornost uveden průběh závislosti log plochy píku na log molární koncentrace pro derivát BG 924 pro detekci při 214 nm.

Ze získaných parametrů kalibračních přímků je patrné, že detekce pro deriváty BG 757, BG 832 a BG 906 je citlivější při 230 nm, zatímco pro deriváty BG 924 a BG 979 je citlivější při 214 nm, což je v souladu s jejich strukturou. Nejvyšší hodnota směrnice, a tedy největší citlivost byla pozorována pro derivát BG 979 při 214 nm (viz tab. III). Úseky všech kalibračních přímků se neliší statisticky významně od nuly, a tudíž všechny tyto kalibrační přímků prochází nulou. U všech získa-

Tabulka III

Parametry kalibračních přímk a lineární rozsahy studovaných derivátů detegovaných při vlnové délce 214 nm

Derivát	Úsek ^a (SD ^b)	Směrnice ^c (SD ^b)	<i>r</i>	Lin. rozsah ^d
BG 757	0,034 (0,512)	280167 (1465)	0,9998	1.10 ⁻⁵ –8.10 ⁻⁴
BG 832	-0,001 (0,661)	182613 (2072)	0,9993	6.10 ⁻⁶ –8.10 ⁻⁴
BG 906	0,466 (1,738)	231656 (4973)	0,9981	1.10 ⁻⁵ –8.10 ⁻⁴
BG 924	1,306 (1,515)	447871 (3520)	0,9996	8.10 ⁻⁶ –1.10 ⁻³
BG 979	-1,351 (2,141)	600936 (5374)	0,9995	4.10 ⁻⁶ –1.10 ⁻³

^a mV.s, ^b SD – odhad směrodatné odchylky, ^c mV.s.dm³.mol⁻¹, ^d mol.dm⁻³

Tabulka IV

Parametry kalibračních přímk a lineární rozsahy studovaných derivátů detegovaných při vlnové délce 230 nm

Derivát	Úsek ^a (SD ^b)	Směrnice ^c (SD ^b)	<i>r</i>	Lin. rozsah ^d
BG 757	0,096 (0,725)	491191 (2074)	0,9999	1.10 ⁻⁵ –8.10 ⁻⁴
BG 832	-0,044 (0,838)	322043 (2626)	0,9996	6.10 ⁻⁶ –8.10 ⁻⁴
BG 906	0,658 (1,375)	405172 (4124)	0,9995	8.10 ⁻⁶ –8.10 ⁻⁴
BG 924	0,683 (1,198)	322749 (2784)	0,9996	8.10 ⁻⁶ –1.10 ⁻³
BG 979	-0,920 (1,629)	540494 (4089)	0,9996	4.10 ⁻⁶ –1.10 ⁻³

^a mV.s, ^b SD – odhad směrodatné odchylky, ^c mV.s.dm³.mol⁻¹, ^d mol.dm⁻³

Tabulka V

Hodnoty detekčních limitů (LOD) a limitů stanovení (LOS) měřených derivátů

Derivát	214 nm		230 nm	
	LOD (M) ^a	LOS (M) ^a	LOD (M) ^a	LOS (M) ^a
BG 757	7,8.10 ⁻⁶	2,6.10 ⁻⁵	5,9.10 ⁻⁶	2,0.10 ⁻⁵
BG 832	9,5.10 ⁻⁶	3,2.10 ⁻⁵	7,1.10 ⁻⁶	2,4.10 ⁻⁵
BG 906	7,6.10 ⁻⁶	2,5.10 ⁻⁵	5,4.10 ⁻⁶	1,8.10 ⁻⁵
BG 924	6,3.10 ⁻⁶	2,1.10 ⁻⁵	8,6.10 ⁻⁶	2,9.10 ⁻⁵
BG 979	5,3.10 ⁻⁶	1,8.10 ⁻⁵	6,0.10 ⁻⁶	2,0.10 ⁻⁵

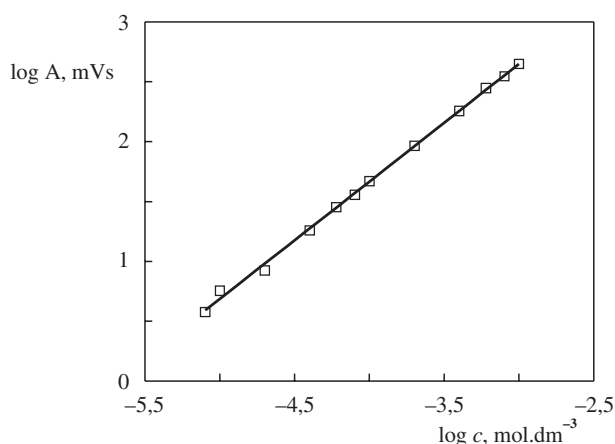
^a M – mol.dm⁻³

ných kalibračních přímk byl pozorován korelační koeficient velmi blízký 1,0000.

Detekční limit a limit stanovení byl vyhodnocován z regresních parametrů kalibračních přímk závislostí výšky píku na koncentraci. Pro detekci při 214 nm i při 230 nm se korelační koeficienty, získané pro jednotlivé deriváty, pohybovaly v rozsahu 0,9997 až 0,9998. Detekční limity (LOD) byly vypočítány jako trojnásobek absolutní hodnoty šumu, limity stanovení (LOS) byly vypočítány jako desetinásobek absolutní hodnoty šumu a jejich hodnoty jsou uvedeny v tabulce V.

Závěr

Byla vyvinuta metoda pro separaci a kvantifikaci pěti nových, farmaceuticky významných thioderivátů akridinu

Obr. 5. Závislost logaritmu plochy píku na logaritmu molární koncentrace derivátu BG 924 v koncentračním rozsahu 8.10⁻⁶–1.10⁻³ mol.dm⁻³ při 214 nm

pomocí kapilární kapalinové chromatografie. Byly nalezeny experimentální podmínky, zajišťující dobrou separaci vlastních látek a doprovodných nečistot. Pro všechny deriváty byly proměřeny kalibrační křivky při dvou vlnových délkách (214 a 230 nm). Lineární rozsah kalibračních přímk se pohyboval v oblasti 10⁻⁶ až 10⁻³ mol.dm⁻³ a detekční limity se pro jednotlivé deriváty pohybovaly v jednotkách až desítkách μmol.dm⁻³.

Práce na tomto projektu byla finančně podporována grantem GA ČR 203/00/1569 a byla součástí projektu COST Action

B 16. Autoři děkují paní Marcelé Aussenbergové za pomoc při experimentální práci na tomto projektu.

LITERATURA

1. Modr Z.: *Remedia* 2, 821 (1994).
2. Barbe J.: *Bulletin 1st Acrival Meeting on Chemotherapy of Trypanosomatidae*, str. 63. Marseille 1992.
3. Schofield P. C., Robertson I. G. C., Paxton J. W.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 44, 51 (1999).
4. Kováč J., Kováč Š.: *Organická chemia*. SNTL, Praha 1977.
5. Jurlina J. L., Paxton J. W.: *J. Chromatogr.* 342, 431 (1985).
6. Jayewardene A. L., Santoro J. E., Gambertoglio J. G.: *J. Chromatogr., B* 702, 203 (1997).
7. Košťálová I., Jelínek I., Zimová N., Barbe J.: *Chem. Listy* 91, 369 (1997).
8. Yakosouchi K., Taniguchi I., Yamaguchi H., Aekawa K.: *J. Electroanal. Chem.* 121, 230 (1981).
9. Vissers J. P. C., Claessens H. A., Cramers C. A.: *J. Chromatogr., A* 779, 1 (1997).
10. Vissers J. P. C.: *J. Chromatogr., A* 856, 117 (1999).
11. Ulmann F.: *Liebigs Ann. Chem.* 355, 327 (1907).
12. Smolders R. R., Hanuise J., Coonians R., Proietto V., Voglet N., Waefelaer A.: *Synthesis* 1982, 493.
13. Bisiri N., Johnos C., Kayiréné M.: *Ann. Pharm. Fr.* 54, 27 (1996).

Z. Bosáková^a, E. Tesařová^b, P. Coufal^a, B. Kafková^a, and J. Barbe^c (^a*Department of Analytical Chemistry, ^bDepartment of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, ^cFaculty of Pharmacy, Méditerranée Université, Marseilles, France*): **Separation and Quantification of Acridine Thio Derivatives by Capillary Liquid Chromatography**

An analytical method for separation and quantification of five acridine thio derivatives by capillary liquid chromatography has been developed. A capillary column, 320 μm I.D., filled with the Nucleosil 100-5 C 18 stationary phase, particle size 5 μm , was used. The mobile-phase composition was optimized in order to obtain a reasonable separation of the main component of each reaction mixture from impurities from the synthesis and a good quantification. It was shown that all the derivatives studied were well separated in binary mobile phases, acetonitrile/water or acetonitrile/0.2 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ acetate buffer of pH 3.5, with high acetonitrile contents (90 %). Calibration curves for all the derivatives were measured at wavelengths of 214 and 230 nm in the mobile phase composed of acetonitrile/0.2 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ acetate buffer of pH 3.5 (90:10, v/v). The linear dynamic ranges of the calibration curves were between 1.0×10^{-6} and 1.0×10^{-3} $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ and the detection limits for the compounds were in the $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ range.

**REGIOSELEKTIVNÍ SYNTÉZA
2,3-DICHLORPROP-1-ENU
Z 1,2,3-TRICHLORPROPANU
A JEHO SYNTETICKÉ PŘEMĚNY**

**JANA ŠAULIOVÁ, BRONISLAVA HIKLOVÁ
a PETRA ZUŠŤÁKOVÁ**

*Katedra chemie, Pedagogická fakulta, Univerzita J. E. Purkyně,
České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem
e-mail: sauliova@pf.ujep.cz*

Došlo dne 29.III.2001

Klíčová slova: 2,3-dichlorprop-1-en, 1,2,3-trichlorpropan

Úvod

1,2,3-Trichlorpropan (dále TCP) je nežádoucím vedlejším produktem při výrobě epichlorhydrinu, který se vyrábí ve velkém měřítku, protože je základní surovinou pro výrobu epoxidových pryskyřic. TCP je značně toxický a v současné době u nás nemá prakticky žádné využití; většinou se likviduje spalováním. Nalezení vhodného způsobu přeměny TCP na produkty využitelné v praxi není zřejmě příliš snadným cílem. Svědčí o tom řada prací, vesměs patentů (např. zaměřených na využití v oblasti polymerů¹⁻⁶), a skutečnost, že využití TCP v praxi je stále problematickou otázkou.

V minulých letech jsme se na katedře chemie PF UJEP zabývali studiem hydrolytických a dehydrochloračních reakcí TCP. Při sledovaných reakcích TCP s vodnými roztoky alkalických uhličitánů nebo hydroxidů byl selektivně získán 2,3-dichlorprop-1-en a jeho další přeměnou 2-chlorprop-2-en-1-ol, případně bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether nebo v nízkém výtěžku prop-2-yn-1-ol. Tyto látky byly připraveny níže uvedenými způsoby již v minulosti a my jsme se pokusili o jejich získání z TCP s vyšší selektivitou, v co nejvyšších výtěžcích a jednodušším způsobem.

TCP byl připraven již v polovině 19. století⁷ a 2,3-dichlorprop-1-en z něho získali v roce 1872 A. Claus⁸ a ve stejné době i L. Henry⁹ zahříváním s koncentrovanými roztoky hydroxidu draselného na pískové lázni. Autoři v práci neuvádějí výtěžky ani podrobnější podmínky reakcí. Později byl 2,3-dichlorprop-1-en připraven z TCP reakcí s 40% ethanolickým nebo 30% vodným roztokem hydroxidu sodného¹⁰.

Příprava 2-chlorprop-2-en-1-olu byla v minulosti patentována postupem, při kterém reagoval TCP s hydrogenuhličitánem sodným za zvýšeného tlaku při 150 °C (cit.¹¹). Dále byl popsán ještě dvoustupňový postup, při kterém byl reakcí TCP s octanem sodným nejprve připraven 2-chlorallyl-acetát a jeho následnou hydrolyzou byl pak získán 2-chlorprop-2-en-1-ol (cit.¹²).

Třetí sloučeninou, kterou jsme při studiu reakcí TCP zachytili, byl prop-2-yn-1-ol. V literatuře jsme nenalezli přípravu prop-2-yn-1-olu vycházející přímo z TCP. Působením ethanolického roztoku hydroxidu draselného na TCP byl připraven pouze jeho derivát ethyl(propargyl)ether¹³.

Se vznikem prop-2-yn-1-olu z TCP pak úzce souvisí jeho příprava dehydrochlorací 2-chlorprop-2-en-1-olu působením různě koncentrovaných roztoků (10–40 %) hydroxidu sodného¹⁴, protože 2-chlorprop-2-en-1-ol je zřejmým meziproduktem při vzniku prop-2-yn-1-olu. Výtěžek prop-2-yn-1-olu uvedený v experimentální části citované práce byl 30 %.

Poslední látka, jejíž přípravou jsme se zabývali, byl bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether. Ten byl dosud připraven ve směsi s 2,3-dichlorprop-1-enem a 2-chlorprop-2-en-1-olem reakcí TCP s roztoky hydroxidu sodného nebo draselného¹¹ (15–35 %) nebo reakcí TCP s roztoky hydroxidu sodného za přítomnosti katalyzátoru fázového přenosu¹⁷. Dále byl bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether připraven z 2,3-dichlorprop-1-enu reakcí s roztoky alkalických hydroxidů¹¹ nebo reakcí s alkoholickým roztokem octanu sodného, kdy vznikl spolu s 2-chlorallyl-acetátem⁹.

Experimentální část

Při optimalizaci reakčních podmínek přípravy 2,3-dichlorprop-1-enu, 2-chlorprop-2-en-1-olu, prop-2-yn-1-olu a bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)etheru jsme systematicky měnili reakční podmínky a dále pak uvádíme pouze postupy, které poskytly nejvyšší výtěžky požadovaných produktů.

K analýze směsí získaných produktů byla použita plynová chromatografie (GC) s detekcí TCD nebo FID (pro směsi sledovaných látek byla provedena kalibrace, složení směsí je uvedeno v hm.%). Standardy byly získány z analytického oddělení Spolchemie v Ústí n. L., pouze v případě bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)etheru jsme připravili vlastní standard.

2,3-Dichlorprop-1-en

Směs 0,1 mol 1,2,3-trichlorpropanu (TCP) a vodného roztoku hydroxidu sodného ($c = 5$ hm.%, množství NaOH viz tabulka I) byla zahřívána při teplotě 50 °C za současného míchání na vodní lázni. Po ukončení reakce byla směs zneutralizována koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, vodná fáze byla nasycena chloridem sodným a z vysoleného roztoku byly produkty extrahovány chloroformem nebo etherem. Extrakt byl vysušen bezvodným chloridem vápenatým. Reakční doby a složení látek v extraktu u pokusů s nejvyššími podíly (86,5– 88,6 %) 2,3-dichlorprop-1-enu jsou uvedeny v tabulce I. Produkt byl z roztoku oddělen rektifikací na kolonci s vpichy. Hlavní frakce o teplotě varu 94–96 °C obsahovala 99 % 2,3-dichlorprop-1-enu.

2-Chlorprop-2-en-1-ol

Směsí 0,2 mol TCP a vodného roztoku obsahujícího 0,5 mol uhličitánu sodného ($c = 15$ hm.%) nebo uhličitánu draselného ($c = 25$ hm.%) byly zahřívány za míchání při teplotě varu. V některých případech byla reakce provedena za přítomnosti katalyzátoru fázového přenosu – benzyl(triethyl)amoniumchloridu, nebo byl místo klasického ohřevu použit mikrovlnný ohřev (viz tabulka II).

V průběhu reakce byl sledován úbytek uhličitánu titrací vzorku odebíraného z vodné fáze reakční směsí standardním roztokem kyseliny chlorovodíkové a reakce byla ukončena, když se koncentrace uhličitánu již prakticky neměnila. Konec

Tabulka I

Množství NaOH, reakční doby (*t*) a složení směsi po reakci 0,1 mol TCP

NaOH [mol]	<i>t</i> [h]	Složení reakční směsi [hm.%] ^a		
		DCP	TCP	CP
0,15	10	88,1	10,7	1,2
0,20	6	86,5	10,1	3,4
0,24	6	88,6	4,8	6,6

^a DCP – 2,3-dichlorprop-1-en, TCP – 1,2,3-trichlorpropan, CP – 2-chlorprop-2-en-1-ol

reakce byl také ověřen pomocí GC (reakce nebyla ukončena, dokud obsah TCP nebo 2,3-dichlorprop-1-enu v etherickém extraktu vzorku reakční směsi byl vyšší než 1–2 % z celkového množství látek rozpuštěných v etheru). Reakční doby pro jednotlivé pokusy jsou uvedeny v tabulce II. Směs pak byla opatrně zneutralizována roztokem kyseliny chlorovodíkové, po vysolení chloridem sodným extrahována etherem a extrakt byl vysušen chloridem vápenatým. Obsah 2-chlorprop-2-en-1-olu u jednotlivých příprav byl v rozmezí 97,5–98,5 % (1–2 % tvořil nezreagovaný TCP a 2,3-dichlorprop-1-en, zbytek tvořila směs látek, jejichž obsah se pohyboval v desetinách procenta). Z extraktu byl oddestilován ether a surový 2-chlorprop-2-en-1-ol byl přečištěn destilací za sníženého tlaku. Byla jímána hlavní frakce při teplotě varu 47–48 °C/2,7 kPa. Destilací bylo obvykle získáno 16–17 g čistého 2-chlorprop-2-en-1-olu, což odpovídá teoretickému výtěžku 86–92 %.

Prop-2-yn-1-ol

Z 1,2,3-trichlorpanu byl nejprve výše uvedeným postupem připraven 2-chlorprop-2-en-1-ol, a ten byl podroben následující dehydrochloraci:

Směs 0,1 mol 2-chlorprop-2-en-1-olu a 94 g 12 % vodného roztoku hydroxidu draselného (obsah 0,2 mol KOH) byla zahřívána za refluxu a míchání na olejové lázni o teplotě 125 °C. Úbytek hydroxidu v průběhu reakce byl orientačně sledován titrací vzorku reakční směsi kyselinou chlorovodíkovou. Reakce byla ukončena po 7,5 hod, když se koncentrace hydroxidu již významně neměnila.

Reakční směs pak byla zneutralizována koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a kapalný podíl byl oddestilován. Z vodného roztoku byl produkt spolu s nezreagovaným 2-chlorprop-2-en-1-olem izolován vysolením (uhličitanem draselným nebo síranem amonným) a extrakcí do etheru. Vzhledem k vysoké rozpustnosti prop-2-yn-1-olu ve vodě je nutno použít při vysolování dostatečné množství soli. (Postup lze zjednodušit a provést vysolení reakční směsi přímo po neutralizaci a pak ji extrahovat etherem. Podíl prop-2-yn-1-olu ve směsi s nezreagovaným 2-chlorprop-2-en-1-olem byl v tomto případě o cca 3 % nižší.)

Vysušené etherické extrakty z opakovaných pokusů obsahovaly směs 52–54% prop-2-yn-1-olu, a 45–47 % nezreagovaného 2-chlorprop-2-en-1-olu. Zbytek tvořila směs tří látek, z nichž byla pomocí hmotnostní spektrometrie identifikována nejvíce zastoupená látka (tj. cca 1 %) jako (2-chlorprop-2-

Tabulka II

Reakční doby *t* potřebné k dosažení 97,5–98,5 % konverze TCP na 2-chlorprop-2-en-1-ol

Činidlo ^a	Katalyzátor	Ohřev	<i>t</i> [h]
Na ₂ CO ₃	–	klasický	20
Na ₂ CO ₃	TEBA ^b (3 g)	klasický	12
Na ₂ CO ₃	–	mikrovlnný ^c	10
Na ₂ CO ₃	TEBA ^b (3 g)	mikrovlnný ^c	5
K ₂ CO ₃	–	klasický	14
K ₂ CO ₃	–	mikrovlnný ^b	7

^a Za varu nasycené vodné roztoky (15 hm.% Na₂CO₃ nebo 25 hm.% K₂CO₃), ^b benzyl(triethyl)amoniumchlorid, ^c v promíchávaném reaktoru získaném úpravou mikrovlnné pece Whirlpool s nastavením výkonu 900 W

-en-1-yl)prop-2-ynylether. Podíl prop-2-yn-1-olu odpovídá výtěžku 64–66 % (vztaženo na výchozí 2-chlorprop-2-en-1-ol).

Bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether

Bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether (dále BCE) byl získáván reakcí TCP (0,2 mol) s 8–10 hm.% roztoky hydroxidu sodného (obsahujícími 0,5 mol NaOH) při teplotách 80–100 °C. Doby potřebné na zreagování výchozího TCP a přechodně vzniklého 2,3-dichlorprop-1-enu byly stanoveny pomocí GC analýzy etherických extraktů vzorků odebíraných z reakční směsi a pohybovaly se v rozmezí 4–7 hodin (v závislosti na zvolené teplotě a koncentraci hydroxidu).

Po ukončení reakce byla směs zneutralizována koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a extrahována do etheru. Obsah BCE u různých reakcí provedených v rozmezí uvedených podmínek byl vždy kolem 50 %, zbytek tvořil 2-chlorprop-2-en-1-ol (45–48 %) a prop-2-yn-1-ol, jehož podíl byl při uvedených horních hodnotách teplot a koncentrací NaOH až 4 % (případně byly přítomny další 1–3 neznámé látky, jejichž obsah byl v desetinách procent).

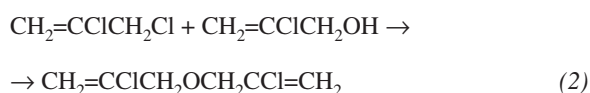
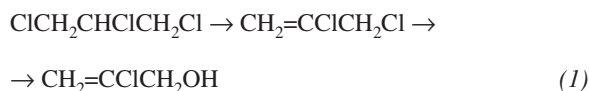
Po vysušení extraktu a oddělení etheru destilací byl BCE ze získané směsi izolován rektifikací za sníženého tlaku. Pro malá množství směsi bylo použito také dělení extrakcí – v tom případě byla směs emulgována ve 20 násobném hmotnostním nadbytku vody a BCE byl extrahován do cyklohexanu. Následnou destilací, v konečné fázi za sníženého tlaku, byl získán čistý BCE (teplota varu 85 °C/4 kPa) s výtěžkem 40 % (vztaženo na výchozí TCP).

Diskuse výsledků

Při reakcích 1,2,3-trichlorpropanu (TCP) s bazickými roztoky alkalických uhličitanů a hydroxidů probíhá nejprve eliminační reakce – dehydrochlorace, za vzniku 2,3-dichlorprop-1-enu. Přednostní průběh eliminační reakce je zřejmě způsoben polárními vlivy dvou chlormethylových skupin a atomu chloru, které usnadňují eliminaci vodíku na sekundárním uhlíku TCP působením báze. Obtížnějším přístupem nukleofilu k sekundárnímu atomu uhlíku je naopak spíše potlačena substituční reakce.

Pro přípravu 2,3-dichlorprop-1-enu považujeme (na základě sledování vlivu teploty, koncentrace a množství činidla) za nejvhodnější reakci TCP s nadbytkem roztoku hydroxidu sodného (1,5–2,5 mol NaOH/1 mol TCP) o koncentraci do 5 hm.% při teplotách do 50 °C. 2,3-Dichlorprop-1-en se tak podařilo získat z TCP s téměř 90 % konverzí za podstatně mírnějších podmínek než v minulosti^{8–10}.

Při vyšších teplotách (60–100 °C) se již uplatňuje ve významnější míře následná hydrolyza 2,3-dichlorprop-1-enu na 2-chlorprop-2-en-1-ol (1) a dále i jejich vzájemná reakce za vzniku bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)etheru (2).



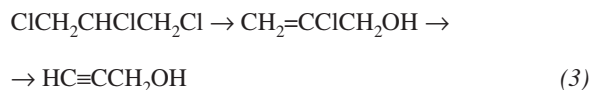
Pro přípravu 2-chlorprop-2-en-1-olu je proto výhodnější reakce TCP s vodnými roztoky uhličitánů. Při reakci jsme použili za varu nasycené roztoky uhličitánu sodného nebo draselného a 2-chlorprop-2-en-1-ol byl tímto způsobem získán opět za mírnějších podmínek a s vyšší selektivitou ve srovnání s dříve popsaným patentovaným postupem¹¹.

Při reakcích TCP s roztoky uhličitánů vzniká opět nejprve 2,3-dichlorprop-1-en, který se pak dále hydrolyzuje na 2-chlorprop-2-en-1-ol, nedochází však k jejich vzájemné reakci. Hydrolyze podléhá přednostně halogen na primárním uhlíku u 2,3-dichlorprop-1-enu.

Reakce TCP s roztokem uhličitánu draselného probíhá výrazně rychleji než reakce s roztokem uhličitánu sodného. Hlavním důvodem bude zřejmě vyšší koncentrace roztoku vzhledem k vyšší rozpustnosti uhličitánu draselného. Heterogenní reakce TCP s roztoky uhličitánů vyžaduje účinné míchání a lze ji výrazně urychlit použitím katalyzátoru fázového přenosu (benzyl(triethyl)amonium-chloridu). Dalšího významného zkrácení reakční doby, jak u reakce bez katalyzátoru, tak i u reakce s katalyzátorem fázového přenosu, se podařilo dosáhnout použitím mikrovlnného ohřevu (viz tabulka II).

Pro přípravu bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)etheru z TCP jsou na základě našich zkušeností nejvhodnějším činidlem roztoky hydroxidu sodného (8–10 hm.%) a reakční teploty 80–100 °C. Uvedeným postupem vzniká bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether ve směsi s 2-chlorprop-2-en-1-olem, a z té ho lze oddělit rektifikací za sníženého tlaku nebo i extrakcí z vodné emulze směsi do cyklohexanu.

Při reakcích TCP s koncentrovanějšími roztoky hydroxidů (nad 10 %) za varu se ve větší míře uplatňuje dehydrochlorační reakce 2-chlorprop-2-en-1-olu za vzniku prop-2-yn-1-olu. Ten se však přímo z TCP nepodařilo připravit jako hlavní produkt. S rostoucí koncentrací hydroxidu (15–30 hm.%) zůstávaly stále hlavními produkty 2-chlorprop-2-en-1-ol a bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether a kromě prop-2-yn-1-olu vznikaly další 4 látky (identifikovány byly pomocí hmotnostní spektrometrie nebo GC pouze dvě – hydroxyaceton a (2-chlorprop-2-en-1-yl)prop-2-yn-1-ylether). Pro získání prop-2-yn-1-olu je proto vhodnější převést TCP nejprve na 2-chlor-2-propenol, a ten pak podrobit dehydrochloraci (3).



První reakce probíhá s vysokým výtěžkem (98 %), u druhé jsme dosáhli konverze maximálně 66 % při použití 12 % roztoků alkalických hydroxidů. Při koncentracích roztoku hydroxidu nad 12 % a případně delších reakčních dobách dochází k významnějším ztrátám produktu, a to v důsledku jeho nižší stability^{15,16}. Nižší stabilitu při zahřívání vykazují všechny uvedené produkty získané z TCP, které obsahují násobnou vazbu v molekule.

Závěr

Optimalizací reakčních podmínek byly připraveny z 1,2,3-trichlorpropanu (TCP) následující sloučeniny:

2,3-Dichlorprop-1-en byl získán z TCP s konverzí 88 % při reakcích TCP se zředěnými roztoky hydroxidu sodného při teplotách 50 °C.

2-Chlorprop-2-en-1-ol byl získán s konverzí 97–98 % reakcí TCP s nasycenými roztoky uhličitánu sodného nebo draselného za varu. Reakční doby se výrazně zkrátily použitím katalyzátoru fázového přenosu a využitím mikrovlnného ohřevu.

Následnou dehydrochlorací 2-chlorprop-2-en-1-olu působením roztoků hydroxidu draselného (s konverzí 64–66 %) byl získán prop-2-yn-1-ol.

Bis(2-chlorprop-2-en-1-yl)ether byl získán reakcí TCP s roztoky hydroxidu sodného při teplotách 80–100 °C. Při reakci současně vznikal i 2-chlorprop-2-en-1-ol, který byl oddělen destilací nebo extrakcí.

Uvedená práce byla vykonána díky podpoře Fondu rozvoje vysokých škol. Za provedení GC analýz a identifikaci některých produktů pomocí hmotnostní spektrometrie bychom chtěli poděkovat pracovníkům analytického oddělení Spolku pro chemickou a hutní výrobu v Ústí nad Labem, Mgr. J. Škodovi z PF UJEP a dále studentovi PF UJEP M. Černému za provedení kalibrací a další spolupráci.

LITERATURA

1. Micheloti F. W., Jordan J. M., Cook N. P. (Baker J. T., Chemical Co.): US 3728400; Chem. Abstr. 79, 54332 (1973).
2. Smaardijk A. A., Fennis P. J., Van Reijendam J. W. (Shell Internationale Research Maatschappij B. V.) EP 366205; Chem. Abstr. 113, 173439 (1990).
3. Hiroswa F. N., Lee M. H. (Furane Plastic, Inc.): US 3920617; Chem. Abstr. 84, 136996 (1976).
4. D'Alelio G. F.: US 3985835; Chem. Abstr. 86, 56146 (1977).
5. Szlezynwier W. (Polytechnika Rzeszowska): PL 114854 B2; Chem. Abstr. 98, 127102 (1983).
6. Hiroswa F. N., Lee M. H. (Furane Plastic, Inc.): DE 2517804; Chem. Abstr. 84, 7540 (1976).
7. Bethelot M., Luca J.: Jahresber. Fortschr. Chem. 1857, 477.
8. Claus A.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 5, 353 (1872).

9. Henry L.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 5, 453 (1872).
10. Henne A. L., Haeckl F.: J. Am. Chem. Soc. 63, 2692 (1941).
11. Coleman G. H., Sapp R. W.: US 2 285 329; Chem. Abstr. 36, 6548 (1942).
12. Sharafutdinov V. M., Zalimova M. M., Morozov Y. D.: Izobreteniya 34, 104 (1992); Chem. Abstr. 119, 116790 (1993).
13. Baeyer A.: Justus Liebigs Ann. Chem. 138, 196 (1866).
14. Hatch L. F., Alexander H. E., Randolph J. D.: J. Org. Chem. 15, 654 (1950).
15. Hatch L. F., Moore A. C.: J. Am. Chem. Soc. 66, 285 (1944).
16. Thompson A. F., Jr., Margnetti C.: J. Am. Chem. Soc. 64, 573 (1942).
17. Kurginyan K. A., Rostomyan L. M., Kalaidzhyan A. E., Chukhadzhyan G. A.: Arm. Khim. Zh. 32, 945, 950 (1979); Chem. Abstr. 93, 132 000 (1980).

J. Šauliová, B. Hiklová, and P. Zušáková (*Department of Chemistry, Pedagogical Faculty, J. E. Purkyně University, Ústí nad Labem*): **Regioselective Synthesis of 2,3-Dichloroprop-1-ene from 1,2,3-Trichloropropane and Its Synthetic Transformations**

From 1,2,3-trichloropropane (TCP), 2,3-dichloroprop-1-ene was obtained by the optimized reaction with dilute aqueous NaOH at 50 °C (yield 88 %) and 2-chloroprop-2-en-1-ol by the reaction with a boiling saturated solution of Na₂CO₃ or K₂CO₃ (yield 97–98 %). Reaction times markedly decreased using a phase-transfer catalyst or microwave heating. Prop-2-yn-1-ol was obtained from the 2-chloroprop-2-en-1-ol by dehydrochlorination with a KOH solution (yield 64–66 %). Bis(2-chloroprop-2-en-1-yl) ether, besides 2-chloroprop-2-en-1-ol, was a product of the reaction of TCP with a NaOH solution at 80–100 °C.

RECENZE

Hall N. (ed.):

The New Chemistry (A showcase for modern chemistry and its applications)

Cambridge University Press, Cambridge 2000.

Stran 500, obrázků 500, grafů 46; cena 30,- GBP,

ISBN 0-521-45224-4.

Kniha se skládá z 17 naprosto samostatných kapitol napsaných špičkovými světovými odborníky, mezi nimiž nechybí laureáti Nobelovy ceny.

Kniha je čímsi, co mi připomíná knížku z mého mládí, která se jmenovala „Krása a velikost technické chemie“. Je to soubor 17 esejí na téma „Čím a jak je současná nejvyspělejší výspa chemického výzkumu a praktického použití jeho výstupů krásná, užitečná a skutečně pokroková“. Soubor esejí, který by neměl chybět v knihovně žádného člověka, který má za to, že je užitečné přesvědčit své okolí o tom, že chemie není „říší zla“, jak by byl mohl poznamenat Ronald Reagan.

Kniha popisuje téměř všechny frontové linie současné chemie od syntézy nových prvků, léků, vývoje syntetického myšlení a designérských možností, molekularity života, elektroniky a vesmíru až k materiálové vědě a supramolekulám, a to v jazyce, který není o nic složitější, než jazyk vědeckých příloh časopisu National Geographic.

Po předmluvě od nobelisty Roalda Hoffmana následuje strhující detektivka o sedmácti obrazech z kuchyně vědy dneška a budoucna, občas se ohlížející a hodnotící posledních několik málo desítek let v oboru.

The New Chemistry ilustruje úspěšně genialitu a vnitřní inteligenci moderní „molekulární vědy“ s vědomím, že nelze popsat vše, ale že lze vybrat to, co zaujme čtenáře, i kdyby snad sám ani chemik nebyl. Liší se tím od většiny napsaných knih o chemii, které se zaměřily na konkrétní vědecké výsledky či postupy. Kniha je až volnomyšlenkářsky mezioborová a málem by se chtělo říci, že její titulky by měl nahradit slovo chemie slovem pokrok, nebo dokonce umění. Jak říká Roald Hoffman, dříve než bylo vysloveno ono počáteční slovo, byla tu chemie. Chemie je tu, a chemici jsou tudíž podřízeni více a více kategorickému či obsedantnímu imperativu tvoření, který přichází ruku v ruce s tím, který velí zabývat se důsledky svého konání pro okolí.

Nicméně i v té nejlepší knize se najdou chybičky. VÍ to každý, kdo sám něco psal. Některé jsou mi tak blízko, že jsem je zaznamenal pouhým okem. Cholesterol nemá konfiguraci 3- α ale 3- β . Estran nemůže mít v poloze 3 za normálních okolností pětivazný uhlík.

Kniha je dobrá obsahem i formou. Je dobrá asi proto, že Nina Hall dokázala seskupit legii nejlepších, které vedla (troufám si říci donutila) k tomu, aby napsali dohromady ojedinelou ódu na radost tvoření, řemesla a odpovědnosti. Nina Hall to dokázala s úspěchem už proto, že je sama chemičkou (ex University of Oxford), která se stala uznávanou vědeckou žurnalistkou, redaktorkou a spisovatelkou. Ve volném čase se věnuje čemusi, co bychom mohli nazvat úsilím o obecné pochopení vědy.

Pavel Drašar

Farmacie – chemie přírodních látek

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

katedra farmaceutické botaniky a ekologie

přijme

absolventa bakalářského studia chemie

se zaměřením na analytickou chemii

nebo

absolventa střední odborné školy

se stejným zaměřením

pro práci na kapalinových chromatogramech, přípravě vzorků
z rostlin a hub pro různé analýzy, případně izolaci látek.

Nástup možný k 1.10.2001.

Požadavky: zájem o práci, smysl pro práci v týmu, znalost angličtiny (alespoň střední).

Informace: prof. RNDr. L. Jahodář, CSc. (049-5067403),
případně doc. RNDr. L. Opletal, CSc. (049-5067248).

OBSAH

ÚVODNÍK	517
REFERÁTY	
Elektrochemické eliminační metody L. Trnková	518
Dávkovanie veľkých objemov v kapilárnej plynovej chromatografii E. Korenková, J. Slobodník a E. Matisová	528
Aromatické nukleofilní denitrocyclizační reakce S. Rádl	540
Deriváty elipticinu s cíleným protinádorovým účinkem M. Stiborová a E. Frei	549
Turbulentní fluidace M. Hartman, O. Trnka, K. Svoboda a V. Veselý	556
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Elektrochemická generace oxidu dusičitého pro testování senzorů plynů M. Novotný a F. Opekar	563
Stanovení těžkých a toxických kovů v dehtech P. Straka, V. Chalupský a V. Kříž	566
Separace a kvantifikace nově syntetizovaných thioderivátů akridinu pomocí kapilární kapalínové chromatografie Z. Bosáková, E. Tesařová, P. Coufal, B. Kafková a J. Barbe	569
Regioselektivní syntéza 2,3-dichlorprop-1-enu z 1,2,3-trichloropropanu a jeho syntetické přeměny J. Šauliová, B. Hiklová a P. Zušťáková	575
RECENZE	579

CONTENTS

EDITORIAL	517
REVIEW ARTICLES	
Electrochemical Elimination Methods L. Trnková	518
Large-Volume Injection in Capillary Gas Chromatography E. Korenková, J. Slobodník, and E. Matisová	528
Aromatic Nucleophilic Denitrocyclization Reactions S. Rádl	540
Targeting of Ellipticine Drugs on Tumor Cells M. Stiborová and E. Frei	549
Turbulent Fluidization M. Hartman, O. Trnka, K. Svoboda, and V. Veselý	556
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Electrochemical Generation of Nitrogen Dioxide for Testing of Gas Sensors M. Novotný and F. Opekar	563
Determination of Trace Elements in Tars P. Straka, V. Chalupský, and V. Kříž	566
Separation and Quantification of Acridine Thio Derivatives by Capillary Liquid Chromatography Z. Bosáková, E. Tesařová, P. Coufal, B. Kafková, and J. Barbe	569
Regioselective Synthesis of 2,3-Dichlorprop-1-ene from 1,2,3-Trichloropropane and Its Synthetic Transformations J. Šauliová, B. Hiklová, and P. Zušťáková	575
BOOK REVIEWS	579

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 95 (2001), čís./no. 9 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 125, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 111 • ČASOPIS ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ • Bulletin roč./vol. 32 • Vydává Česká společnost chemická ve spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt LP 0001), Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Gut, J. Hetflejš, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámotný (webové stránky) • ZAHRAŇIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), J. Soušek (Olomouc), J. Šibor (Brno) • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: C. Jirátořová • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, M. Drdák, J. Hanika, J. Churáček, Č. Jech, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Mišek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ, INZERCI, INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY A PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420(2) 2108 2370, fax +420(2) 2222 0184, e-mail: jiratova@csvts.cz, IČO 444715 • SOUHRNÝ NA INTERNETU/PREPUBLISHED ABSTRACTS ON URL: http://staff.vscht.cz/chem_listy/index.html • TISK: PORS 052, Školní náměstí 11, 537 33 Chrudim; SAZBA: SF SOFT, Jinoňická 329, 158 00 Praha 5 • Copyright © 2001 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 100 Kč, roční předplatné 2001 (12 čísel) 1034 Kč. Předplatné ve Slovenské republice 2310 Kč. Pro členy ČSCH je sleva 50 %, pro studenty 70 % • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2001 (12 issues) DEM 440 • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PP/I 5333/95 • 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 7/97 na straně 492, nebo budou zaslány na požádání, zkratky odb. časopisů viz 10/97 str. 911 • Instructions for authors will be sent on request. • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zaslány 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. SAZBA BULLETINU: B. Valter, SEKRETARIÁT ČSCH: Novotného lávka 5, tel., fax +420(2) 2222 0184, e-mail: mblahova@csvts.cz