



Korespondenční Seminář Inspirovaný Chemickou Tematikou

Ročník 13 (2014/2015)

Série 4



Chemie je všude: je ve vodě, je v půdě, je ve vzduchu a je i v nás samotných. Veškeré materiály jsou tvořeny chemickými látkami, chemické reakce nám každodenně pomáhají s tvarováním světa kolem sebe a biochemické reakce nás vlastně utvářejí: katalytické reakce umožňují každodenní běh našich těl, neurotransmitery jsou nositeli našich emocí a naše DNA může dát vzniknout novým generacím. Avšak bez porozumění tajemným nebezpečnostvům s chemií spojených jsme jí vydáni napospas, proto stojí za to ji poznat blíže a hlouběji, aby se stala naším dobrým sluhou a ne obávaným pánem.

**Termín pro odeslání řešení 4. série:
27. 4. 2015**

Elektronicky (PDF)	Papírově
http://ksicht.natur.cuni.cz/odeslani-reseni	KSICHT Přírodovědecká fakulta UK Hlavova 2030 128 43, Praha 2

Anketa

Milí řešitelé, jsme rádi, že se účastníte KSICHTu. Snažíme se, aby vám řešení úloh nepřineslo jen pochvalu vyučujícího chemie, protože jste řešili úlohy zrovna z jeho předmětu, ale aby vám seminář přinášel co nejvíce znalostí, možností k zamyšlení a snad i trochu zábavy. Potřebujeme proto znát váš názor. Byli bychom velmi rádi, kdybyste si našli chvílku na zodpovězení několika málo otázek¹. Předem vám děkujeme za pomoc a přejeme vám hodně úspěchů nejen při řešení úloh KSICHTu.

Závěrečné soustředění KSICHTu

Od 14. do 19. června se v Praze na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy uskuteční soustředění KSICHTu. Na programu budou přednášky z různých oblastí chemie a práce v laboratoři. Laboratorní úlohy se budeme snažit sestavit tak, aby si na své přišel jak začátečník, tak i zkušený chemik. Samozřejmě nebudou chybět ani hry na odregování. Ubytování a strava budou hrazeny. Máme kapacitu pro 30 účastníků, pokud se vás přihlásí víc, bude rozhodovat počet bodů. Máte-li zájem, neváhejte se přihlásit bez ohledu na to, jak si ve výsledkové listině stojíte. Pokud se chcete soustředění zúčastnit, vyplňte prosím formulář² na webových stránkách KSICHTu nejpozději do **6. května**. Podrobnosti o soustředění zveřejníme na odkazované stránce v květnu, kdy vás rovněž budeme informovat e-mailem.

¹ <http://ksicht.natur.cuni.cz/anketa>

² <http://ksicht.natur.cuni.cz/akce-ksichtu>

Úvodníček

Drahé Ksicht'ačky, draží Ksicht'áci,

velmi nám záleží na popularitě našich úloh, a proto bedlivě sledujeme aktuální trendy. Nedávný mimořádný prodejní úspěch kuchařky „Vaříme s Láďou Hruškou“ nás proto notně inspiroval. Po prostudování odborné literatury s podobnou tematikou, konkrétně publikací „Jak si pejsek s kočičkou dělali k svátku dort“ a „Babicovy dobroty“, se nám podoba úloh v této sérii začala sama rýsovat před očima. Zjistili jsme, že je především nezbytné, aby v úlohách bylo od všeho něco a bylo toho hodně. Na konkrétní náplni ani její kvalitě nezáleží. Pokud tedy nějakému názvu přesně nerozumíme, můžeme se inspirovat fantazií a použijeme něco, co zní podobně. Případná špatná požitelnost také dle odborné literatury není vůbec na závadu. Bohatě postačí, aby vše vypadalo jedle alespoň na první pohled. Inu, nebudu vás dál napínat a dovolím si vám představit naše pětichodové menu.

Vaše chuťové buňky si na úplném začátku rozehrějeme papírově tenkým plátkem dírkosměrky. Tento jedinečný předkrm v sobě obsahuje 32 aromatických přísad důkladně promíchaných do jedinečného písmenkového guláše. Jako druhý chod jsme si pro vás nachystali trochu organické exotiky. Jména použitých surovin byla i na nás tak neobvyklá, že jsme místo nich raději použili jen jejich obrázky. Pokud se vám je podaří identifikovat, budeme rádi, když se s námi podělíte o jejich české názvy. Po přívalu exotiky nazrál čas na zklidnění žaludku tradičním tajemstvím české kuchyně – dřevěnými pilinami. Tento bohatý zdroj vlákniny se v rukou odborníků umí proměnit ve žhavou delikatesu s výrazným kouřovým aroma. V našem menu je pokrm originálně servírován s ledovou polevou. Pokud vám doposud připadala naše jídla poněkud nezvyklá, ze čtvrtého chodu se posadíte na zadek. Něco takového jste totiž ještě neviděli. Chutná to, jako by to stvořil někdo z jiné galaxie. Zkrátka, zkuste sami a uvidíte. Svě rozbouřené zažívání pak můžete na závěr podpořit analyticky vyváženým destilátem. Věříme, že vám naše všehochoť půjde k duhu a vaše zažívací ústrojí se zvládne před další sérií zregenerovat na použitelnou úroveň.

Honza Havlík

Zadání úloh 4. série 13. ročníku KSICHTu

Úloha č. 1: Aromatická bilaterální dírkosměčka

(8 bodů)

Autor: Luděk Míka

Jak už se stalo dobrým zvykem posledních 12 ročníků KSICHTu, i tentokrát se vám pokusili autoři ve 4. sérii podstrčit k vyřešení osmisměrku. Bohužel jde ale převážně o chemiky experimentální, přípravu osmisměrky si proto vzali do laboratoře. Laboratorní stůl zrovna neoplýval čistotou a tak se stalo to, co se stát muselo, z osmisměrky byla najednou dírkosměčka. A nejen to, že se v papíře objevily proleptané díry, ale slova se začala dírami přesouvat i na druhou stranu papíru...



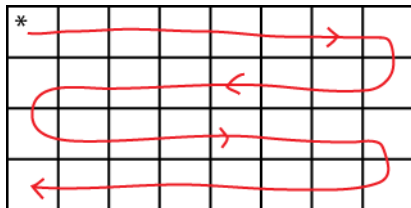
Abyste dospěli ke zbytku textu kresleného vtípu, musíte vyřešit naši bilaterální dírkosměčku.

Tu si ale nejprve budete muset připravit. Papír s dírkosměčkou přehněte podle čerchované čáry (dejte si pozor na to, aby na sebe nasedala jednotlivá políčka. Poté obě poloviny papíru slepte lepidlem. Pak přijde ta nejnebezpečnější práce při výrobě: vezměte si ostrý nůž (nejlepší je odlamovací nůž na koberce nebo skalpel) a prkénko (abyste neřezali na stole) a vyřízněte z dírkosměčky všechna černá políčka. Lze je také vystříhnout ostrými nůžkami z manikúry. Tímto je dírkosměčka připravena.

Jak se taková dírkosměrka řeší? Princip je stejný jako u obyčejné osmisměrky – hledáte slova ukrytá ve změní písmenek. Slova mohou být psaná celkem osmi směry – zleva doprava, zprava doleva, zdola nahoru, shora dolů a oběma směry úhlopříčně. V čem se ale dírkosměrka liší, jsou právě ty dírky. Jakmile při čtení slova narazíte na díru, propadnete na druhou stranu papíru a pokračujete se čtením slova ve stejném směru, jako jste začali (abyste dodrželi správný směr, můžete si pomáhat třeba špagetou, kterou si prostrčíte skrz díрку a naznačíte směr, kterým máte pokračovat ve čtení).

Po vyškrtání všech slov vám zbydou nějaká písmenka nepoužitá. Pokud je správně přečtete, dostanete zbytek textu k vědeckému vtípu na začátku.

Ve čtení tajenky je dírkosměrka také odlišná. Začíná se z rohu označeného hvězdičkou a čte se podle schématu na obrázku 1. Pozor, i na čtení tajenky se projevuje přítomnost děr!



Obrázek 1.: Způsob čtení tajenky

Abyste nemuseli procházet celou dírkosměrkou a náhodně hledat slova, trochu vám pomůžeme s tím, co vlastně máte hledat. Jedná se o triviální názvy různých aromatických sloučenin. Samotné názvy vám sice neodhalíme, v následující tabulce máte alespoň vzorce těchto látek.

1	C_{60}	9	$C_{26}H_{16}$	17	C_9H_7N	25	$C_{10}H_8$
2	$C_5H_4N_4$	10	$C_{16}H_{10}$	18	$C_{13}H_{10}O$	26	C_5H_5N
3	$C_{32}H_{14}$	11	$C_4H_4N_2$	19	$C_{14}H_{10}$	27	C_8H_8O
4	$C_{24}H_{12}$	12	$C_{13}H_9N$	20	$C_{14}H_{10}$	28	C_4H_5N
5	$C_{20}H_{14}N_4$	13	$C_{22}H_{14}$	21	$C_3H_4N_2$	29	C_6H_7N
6	C_4H_4S	14	$C_{42}H_{28}$	22	C_4H_4O	30	C_6H_6
7	$C_{20}H_{12}$	15	$C_{18}H_{12}$	23	C_8H_7N	31	C_8H_8
8	$C_{20}H_{12}$	16	$C_{18}H_{12}$	24	$C_{10}H_8$	32	C_8H_{10}

1. Napište nám celé znění kresleného vtípu. (Vyřešenou dírkosměrku nám neposílejte!)
2. Vysvětlete chemickou podstatu vtípu.

3. Doplňte tabulku – ke každému vzorci doplňte název látky.
4. Látky 24 a 25 mají stejný sumární vzorec, ale jejich struktura je odlišná. Jedna z nich je bezbarvá, druhá je modrá. Vysvětlete, čím je to způsobeno.
5. Ke každé látce z tabulky připište, zda se jedná o heterocyklickou sloučeninu, derivát aromatické látky, o tzv. PAH, nebo jestli nezapadá ani do jedné z kategorií (značka „jiné“).
6. Jaký je rozdíl mezi porfinem a porfyrinem?
7. Co se týče zařazení do jednotlivých odvětví chemie, se jedna látka z tabulky odlišuje od ostatních. Která to je?
8. Látky v tabulce nejsou seřazeny náhodně. Napište nám, podle čeho jsou seřazeny.

Úloha č. 2: Matýsek píše z prázdnin

(5 bodů)

Autorka: Pavla Perlíková



Prázdniny, to je to, na co se všichni nedočkavě těší už od zří. Vždyť se toho dá tolik podniknout! Matýsek jel letos na tábor. Jaký tábor to byl, to už zjistíte z přiloženého dopisu.

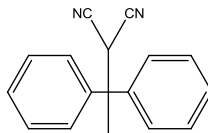
Ahoj mami, ahoj tati!

Konečně mám čas napsat vám




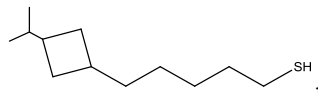
. Moc se mi tu líbí. Tábor je na

veliké louce, na které létá spousta barevných

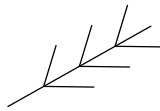


. Spíme ve

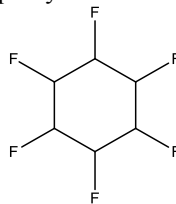
velkém  a máme náčelníka, který si říká Černý



protože se umí výborně plazit. Taký má členku z pravých orlích

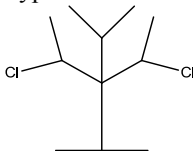


Včera jsme šli s náčelníkem na výpravu. Svítlo

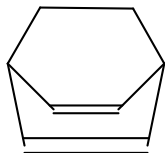


a naše cesta

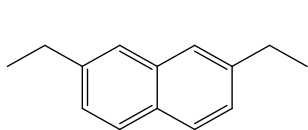
vedla lesem s velkými starými



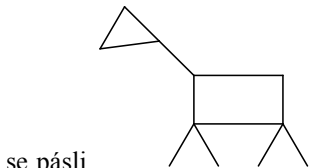
. Cestou jsme nasbírali plný



hub. Já jsem ale nenašel nic, protože jsem předevcírem ztratil

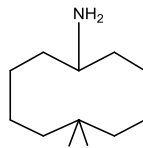


. Došli jsme až k , ve které



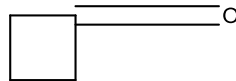
se pásli

. Krmili jsme je



a náčelník slíbil, že na

nich budeme zítra jezdit. Těším se! Dnes jsme nabrousili a celý den připravujeme dřevo. Večer bude táborák a budeme opékat



, které náčelník nachytal v potoce. Náčelník je prostě borec. Chci být jako on!

Matýsek

1. Pojmenujte všechno, o čem Matýsek píše. Použijte systematické názvosloví organické chemie dle IUPAC. Názvy pište popořadě a k danému chemickému názvu připište vždy i název věci, o které Matýsek píše.

K prázdninám patří i letní lásky. Matýsek se na táboře zakoukal do Bystré Vydry. To je ovšem její indiánské jméno. Jak se Bystrá Vydra jmenuje doopravdy? To neví ani Matýsek, ale její jméno prý značí spojení kyseliny a alkoholu.

2. Zjistěte, jak se vlastně Bystrá Vydra jmenuje.

Úloha č. 3: FIRE!!

Autor: Jan Hruběš

(9 bodů)

„Je těžké se soustředit, když hoříte.“

— Zdůvodnění, proč nelze v *League of Legends* seslat kouzlo

Návrat, když je na Vás sesláno kouzlo Vznítit. (Platí od aktualizace 5.3.)



Oheň lidstvo používá opravdu velmi dlouho a jeho používání nás vývojově posunulo o velký kus dál.

1. Vyhledejte, který druh rodu *Homo* a přibližně ve které době začal poprvé používat oheň ve svůj prospěch.
2. Napište alespoň tři příklady, jak může oheň člověku pomáhat.
3. Vysvětlete, na jakém chemickém principu probíhá hoření.

V době předširkové bylo celkem těžké oheň rozdělat. Pojdme si zahrát na Pračlovíčka!

4. Sestavte aparaturu na rozdělení ohně bez sirek, popište mechanismus reakce a spolu s brožurkou KSICHTu ji vyfoťte a pošlete na e-mail jan.hrubes@ksicht.natur.cuni.cz. Pamatujte přitom, že nemáte k dispozici nic než přírodní materiály a své ruce. Není třeba oheň založit, důležité je, aby byla aparatura po vynaložení opravdu velkého množství času a úsilí schopna vyrobit oheň.

Jak určitě víte, při rozdělování ohně sirkami v kamnech se začíná dobře hořlavým papírem, na něj se umístí třísky a větší polena se přidávají, teprve až když se oheň rozhořel.

5. Vysvětlete, proč je nutné při rozdělování ohně použít třísky či tenké klacíky. (odpovědi typu „Protože ty tlusté prostě nehoří!“ nebudou uznávány.)

V dnešní době dřevem především topíme v kotlích. Kotelna je ovšem ve většině případů docela nepříjemně daleko od obytných prostor, navíc v noci rozhodně není žádoucí chodit stále přikládat.

Různé typy dřev produkují spálením různé množství tepla. To je způsobeno především rozdílným chemickým složením jednotlivých dřev a jejich smolnatostí, potom tedy například spálením kilogramu smrkového dřeva dostaneme zhruba o jeden megajoul víc tepla než ze spálení kilogramu dubového dřeva. To má ovšem větší hustotu, jedno dubové poleno tedy váží mnohem víc, než jedno smrkové poleno stejné velikosti.

6. Spočítejte, jestli je pro ohřev dvou set litrů vody o teplotě 10 °C na 80 °C lepší topit smrkovým či dubovým dřevem. Za lepší topivo považujeme to, které budeme muset méně často přikládat. Všechny potřebné údaje naleznete na konci úlohy.

Nápověda: Čím je teplo koncentrovanější, tím méně často se musí přikládat.

Autor úlohy řešil problém s hromadou větví na spálení. Hromada byla ponechaná přes zimu v lese, na Silvestra se autor rozhodl ji společně s dalšími hromadami pozdějšího data vzniku spálit. Větve ale ne a ne chytout, byly k sobě přimrzlé a měly na sobě opravdu enormní množství ledu. Vše bylo navíc zapadáno sněhem.

7. Spočítejte, jaký je maximální obsah zmrzlé vody v hromadě smrkových větví (vyjádřete jej pomocí hmotnostního zlomku), aby bylo hoření ještě termodynamicky výhodné. Led a sníh v hromadě je nutno odpařit a ohřát na 500 °C. Ohřívání dřeva je započítáno do výhřevnosti. Předpokládejme, že se vodní pára chová jako ideální plyn, který svou tepelnou kapacitu s rostoucí teplotou nemění. Počáteční teplota ledu je -5 °C.
8. Hromadu s takto velkým obsahem vody se nám ale zapálit nepovede. Proč?

Potřebná data:

Výhřevnost smrkového dřeva: $H_{smrk} = 15\,500 \text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}$

Výhřevnost dubového dřeva: $H_{dub} = 14\,500 \text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}$

Hustota smrkového dřeva (suché): $\rho_{smrk} = 0,470 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Hustota dubového dřeva (suché): $\rho_{dub} = 760 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$

Měrná tepelná kapacita bezvodého dřeva: $c_{dřevo} = 1500 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$

Měrná tepelná kapacita vody: $c_{H_2O(l)} = 4180 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$

Měrná tepelná kapacita ledu: $c_{H_2O(s)} = 2100 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$

Měrná tepelná kapacita vodní páry za konstantního tlaku:

$$c_{P(H_2O(g))} = 48 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

Skupenské teplo tání vody: $l_{t(H_2O)} = 6008 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$

Skupenské teplo varu vody: $l_{v(H_2O)} = 2256 \text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}$

Úloha č. 4: Z jiného světa

(11 bodů)

Autoři: Jakub Kubečka, Klára Šebestíková



Bum! Prásk!... „Co se to děje?! Kam to letíme?“ zvolal jeden z členů posádky. Zamotali se totiž do časoprostorového víru! „Něco na tu moji holku působí jinak, než jak je zvyklá. Je z toho zmatená a snaží se vymanit, ale čím víc se snaží, tím víc se tam vtahuje. Počkej... Je tam skulinka! Pokusím se ji tam dostat,“ odpověděl s nadějí druhý člen posádky.

„Oops! Kde jsme to přistáli?“ zvolal zděšeně, když zjistil, že rychlost tikání kolegových hodinek je odlišná od jeho vlastních. „A proč tu neplatí fyzikální zákony jako u vás?“

1. Kdo a kdy na naší planetě poprvé popsal nemožnost toho, aby na dva stojící pozorovatele působily fyzikální zákony odlišně?

Ale to už se s nimi dala do řeči podivná místní stvoření: „Časem si zvyknete... Horší je to tady s kvantovými zákony, protože chování elektronů jim vůbec neodpovídá. Naši vědci už na tom pracují, ale moc se jim zatím nedaří.“

2. Podívejte se na fragment speciální tabulky prvků, kterou najdete na konci úlohy. Se znalostmi získanými od mimozemských vědců napište celou elektronovou konfiguraci prvku Ego.
3. Určete oxidační čísla ve sloučeninách Ks_2 , GtSp_2 a $\text{I}[\text{Eg}(\text{KsAd})_2]$ a pojmenujte sloučeniny tak, jak by to udělal každý vědec znalý české nomenklatury. Napište jména autorů české nomenklatury anorganických koncovek přídavných jmen (stačí dva). (Pozn.: KsAd^- = ksichtadizidový anion)
4. Pro atom Ž nakreslete kontury obsazených elektronových (atomových) orbitalů a nakreslete kontury atomových orbitalů pro molekulu Ks_2Ad tak, jak se účastní vazebného molekulového orbitalu. (Pozn.: Orbitály ukazují rozložení elektronů kolem atomového jádra. Číslo před označením typu orbitalu udává hlavní kvantové číslo a určuje blízkost k atomovému jádru – čím menší je, tím je dotyčný orbital blíže k jádru.)

Po návratu k lodi se mimozemská stvoření zeptala: „Tahle budka, to je vaše plavidlo?“ „Ano,“ odpověděla posádka, „ale zevnitř vypadá větší.“

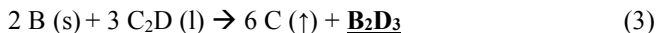
Pro návrat do našeho světa chce posádka získat energii jadernou reakcí (1).



5. Používání klastrů neutronů k bombardování atomů není v našem světě běžné. Napište, co by se stalo, kdyby se v našem vesmíru objevil klástr neutronů astronomických rozměrů a proč?

6. Vypočítejte a napište, co je v tomto zvláštním světě matematicky zajímavého na počtu neutronů u atomů v závislosti na rostoucím protonovém čísle.

Kromě reakce (1) se posádka dozvěděla o několika dalších chemických reakcích:



7. Napište, jaké mimozemské prvky se skrývají pod písmeny A, B, C a D. Pojmenujte komplex z rovnice (2). (Pozn.: O látce D víme, že leží v 3 řádce místní tabulky prvků.)
8. Který anion mimozemské soli nese stejný název jako představitel jednoho vyznání?

Posádka nabrala dostatečné množství paliva, a jelikož si chtěli zapamatovat co nejlépe z toho světa, vymysleli si mnemotechnické pomůcky:

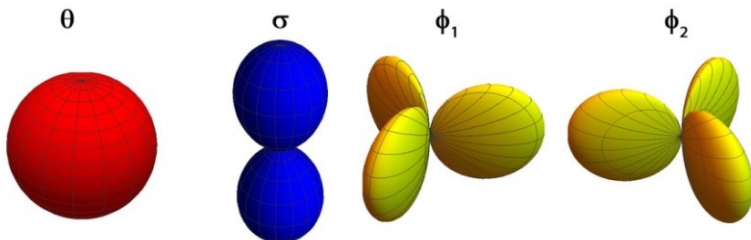
1. *Kusy Brambor.*

2. *S Gatěmi Žádné Mecheche.*

9. Vymyslete mnemotechnickou pomůcku pro 3. řádek mimozemské tabulky prvků.
10. Napište, do které pohádky, seriálu či filmu by příběh nejvíce zapadal. (Nápověda: zevnitř je větší).

{1, 2}		NUKLEONOVÉ ČÍSLO	9	FAZE		4	
Ks Ksicht 1 10 ¹		ZNAČKA PRVKU	Gt Gustaf 4 [Bb]: 20 ¹		NÁZEV PRVKU	Bb Bublifikum 2 20 ²	
6	9			PROTONOVÉ ČÍSLO		12	17
S Sicht 3 [Bb]: 20 ¹	Gt Gustaf 4 [Bb]: 20 ²			ELEKTRONOVÁ KONFIGURACE		Ž Z 5 [Gt]: 20 ¹	Mch Mechum 6 [Gt]: 20 ²
20	25	28	33		40	50	55
I Icht 7 [Mch]: 30 ¹	Bi Bichlik 8 [Mch]: 30 ²	Eg Ego 9 [Bi]: 20 ¹	Xu Xuton 10 [Bi]: 20 ²		O Ostotatikum 11 [Bi]: 20 ³	Sp Stup 13 [Sp]: 30 ¹	W Warflam 14 [Sp]: 30 ²

ATOMOVÉ ORBITALY



Úloha č. 5: Zápočtová II**(10 bodů)**

Autor: Pavel Řezanka



Jednoho pošmourného prosincového dne se chemik Matěj konečně odhodlal něco udělat s notně zaprášenou nádobou obsahující čirou kapalinu stojící v rohu digestoře. Na rozpadajícím se popisku si Matěj přečetl, že by se mělo jednat o technickou směs jablečné a malonové kyseliny. Vyhledal si pro tyto kyseliny potřebné údaje (Tabulka 1) a zjistil, že nemůže použít klasickou destilaci, neboť by se kyseliny rozložily dříve, než by dosáhly bodu varu.

Rozhodl se tedy použít destilaci za sníženého tlaku, která vede ke snížení bodu varu, zatímco teplota rozkladu se nezmění. Zbývalo jen vyřešit, zda destilační aparatura, kterou měl k dispozici a pomocí které mohl dosáhnout tlaku 10 kPa stačí pro požadovaný účel, anebo bude muset sehnat lepší.

Tabulka 1. Teploty varu a rozkladu pro vybrané látky

	jablečná kyselina	malonová kyselina
Teplota varu při tlaku 101 325 Pa	160 °C	140 °C
Teplota rozkladu	150 °C	132 °C

1. Pomozte Matějovi a spočítejte, jaké budou teploty varu zmíněných kyselin při tlaku 10 kPa. Je tento tlak dostatečný k tomu, aby mohl Matěj kyseliny oddestilovat bez rizika jejich rozkladu (bod varu by měl být alespoň o 20 °C nižší než je teplota rozkladu) a zbavit je tak vysokovroucích nečistot? Pro výpočet výparné entalpie použijte Troutonovo pravidlo.

Nápověda: Použijte Clausiovu-Clapeyronovu rovnici.³

Po odstranění vysokovroucích nečistot Matěje zajímalo, zda-li dokáže malonovou kyselinu od jablečné oddělit, když použije obyčejnou kolonu o jednom patru. Věděl, že destilát získaný v otázce 1 obsahuje 20 % jablečné kyseliny a 80 % malonové kyseliny a že by destilaci prováděl při teplotě odpovídající bodu varu malonové kyseliny při tlaku 10 kPa. Matěj provedl potřebné výpočty a byl zklamaný, obyčejná kolona nebyla dostatečná pro oddělení jablečné kyseliny.

2. Vypočítejte kolikapatrovou kolonu by musel Matěj použít, aby dosáhl svého cíle, tj. snížení obsahu kyseliny jablečné na 1 % za výše uvedených podmínek.

Nápověda: Tlak nasycených par je při teplotě odpovídající bodu varu roven okolnímu tlaku. Při jiné teplotě pak lze spočítat Clausiovou-Clapeyronovou rovnicí. Při výpočtu potřebného množství pater kolony použijte Fenského vztah.

³ V seriálu je daná rovnice uvedena chybně. Správně je: $\ln \frac{p_2}{p_1} = \frac{\Delta H_{\text{vyp}}}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$

Matěj bohužel takovou rektifikační kolonu neměl, a tak se rozhodl použít pro oddělení kyselin extrakci. Zjistil si, že by mohl k extrakci použít směs vody a *cis*-oktadec-9-en-1-olu. Našel si proto potřebné údaje (Tabulka 2) a připravil si vodný roztok směsi kyselin.

Tabulka 2. Disociační a distribuční konstanty pro vybrané látky

	jablečná kyselina	malonová kyselina
pK_A	3,40; 5,20	2,83; 5,69
K_D	260	0,32

Zbývalo mu už jen vymyslet, při jakém pH je nejlepší extrakci provést, aby od sebe co nejvíce oddělil zmíněné kyseliny. Věděl, že by měl být separační faktor co největší, ale že by měl být zároveň součin distribučních poměrů (D_C) jednotlivých složek roven ideálně jedné (1).

$$D_{C(A)} \cdot D_{C(B)} = 1 \quad (1)$$

Dále si pak odvodil vztah mezi distribučním poměrem, distribuční konstantou (K_D) a pH pro dvojsytnou kyselinu s disociačními konstantami K_{A1} a K_{A2} (2).

$$D_C = \frac{K_D}{1 + \frac{K_{A1}}{[H_3O^+]_{aq}} + \frac{K_{A1} \cdot K_{A2}}{([H_3O^+]_{aq})^2}} \quad (2)$$

3. Pomozte Matějovi a vypočítejte, při jakém pH by měl extrakci provést, tj. při jaké hodnotě pH platí rovnice (1) pro zmíněné kyseliny?

Nápověda: Vzhledem k tomu, že se řešení skrývá v polynomické rovnici 4. stupně, můžete tuto úlohu řešit zkusmo například na počítači. Stačí, když uvedete hodnotu pH s přesností na jedno desetinné místo, tj. součin distribučních poměrů bude přibližně 1.

Ted', když Matěj věděl, jaké pH má mít vodný roztok kyselin, se už mohl konečně pustit do samotné extrakce. K dispozici měl 300 ml vodného roztoku kyselin a rozhodl se provádět extrakci 50 ml vždy čerstvého *cis*-oktadec-9-en-1-olu.

4. Vypočtete, kolik extrakcí musí Matěj při výše uvedených podmínkách provést, aby se koncentrace jablečné kyseliny snížila ve vodné fázi 100×. Dále vypočtete, kolik % malonové kyseliny přejde do organické fáze při tomto počtu extrakcí.

Nápověda: Nejprve si ze znalosti snížení množství jablečné kyseliny ve vodné fázi spočítejte celkový výtěžek extrakce.

Po úspěšné extrakci čekala Matěje ještě jednou destilace, aby zbavil kyseliny vody a extrakčního činidla a pak už konečně dostal dvě lahvičky s čistými kyselinami.

Řešení úloh 3. série 13. ročníku KSICHTu

Úloha č. 1: Skládanky z celulózy

(6 bodů)

Autoři: Luděk Míka a Barbora Szmolková

1. Jaký je z chemického hlediska rozdíl mezi papírem, papyrem a pergamenem? Jak se tyto materiály vyrábí? Vysvětlete, který z nich je neodolnější.

Papyrus je materiál, který se vyráběl ve starém Egyptě ze dřevě šáchoru papírodárného. Ta se skládala na sebe a lisovala, až vznikly celé svitky. Nejedná se o čistou celulózu, ale o směs různých látek.

Papír je plstěnc přírodních vláken (celulózy). Vyrábí se tak, že se suspenze celulózových vláken (ze dřeva nebo recyklovaného papíru) nechá usušit v tenké vrstvě a pak se různě lisuje a hladí. Běžnou součástí papíru jsou kromě vláken celulózy různá plniva a lepidla (viz otázka 4).

Pergamen je psací látka vyrobená ze zjemnělé, sušené a hlazené kůže (oslí, vepřové, kozí, ovčí, telecí). Kůže je usušená v napnutém stavu za nízké teploty. Často bývá během tohoto procesu natírána plavenou křídou. Chemicky se tedy skládá převážně z bílkovin.

Nejodolnějším materiálem je pergamen. Kůže má nejlepší odolnost vůči tlaku a tahu. Je to dáno její fyziologickou funkcí, odděluje a chrání organismus, tudíž musí něco vydržet. Na rozdíl od pergamenu, papír i papyrus nejsou ve své původní struktuře a jsou pouze sekundárně dotvořeny do požadovaného tvaru.

2. Jaké jsou dva nejpoužívanější zdroje pro průmyslovou výrobu celulózy? Kdybyste měli připravit čistou celulózu s co největším výtěžkem, kterou surovinu byste si vybrali a proč?

Nejběžnějšími průmyslové zdroje jsou dřevo a bavlna.

Pro získání co největšího výtěžku celulózy je vhodné použít bavlnu. Bavlna je prakticky čistá celulóza, je kontaminována pouze voskem a pektiny, které se jednoduše odstraňují v alkalickém roztoku při bělení.

Naproti tomu dřevo v sobě obsahuje pouze 50 % celulózy, zbytek tvoří lignin a hemicelulóza. Odstranění těchto dvou nežádoucích složek vyžaduje vícečlenné zpracování.

3. Jeden z autorů úlohy byl velmi překvapen, když se pokusil v laboratoři přefiltrovat roztok hydroxidu tetraamminměďnatého přes skládaný filtr. Napište, jak se triviálně nazývá tento filtrovaný roztok, a vysvětlete, co neočekávaného se stalo.

Roztok hydroxidu tetraamminměďnatého se triviálně nazývá Schweizerovo činidlo.

Schweizerovo činidlo dokáže rozpustit celulózu (filtrační papír se v nálevce rozpustil a ve formě cuků skončil ve filtrátu).

4. Když se zapálí filtrační papír, shoří beze zbytku. Když se zapálí papír kancelářský, zbude spousta našedlého prášku. Co tvoří tento prášek a proč se do kancelářského papíru přidává?

Filtrační papír je tvořen pouze vlákny celulózy, neobsahuje žádná plniva či lepidla. Celulóza jakožto organická látka shoří za vzniku oxidu uhličitého a vody.

Filtrační papír ale není příliš vhodný na běžnou kancelářskou práci. Je málo pevný, inkoust se na něm rozpíjí, pouští vlákna apod. Při výrobě kancelářského papíru se sice také vychází z celulózy, ale do papíru se přidávají různá plniva, aby se zlepšily jeho vlastnosti. Mezi nejběžnější plniva patří sádra nebo křída (CaSO_4 , CaCO_3). Některé speciální fotopapíry obsahují dokonce BaSO_4 .

Když se kancelářský papír zapálí, shoří jen celulóza a anorganická plniva zůstanou ve formě popela.

5. Nejlepší umělecký počín nám zaslala Veronika Blahutová.



Otázka 1 – 0,5 bodu, 2 – 1 bod, 3 – 1 bod, 4 – 1,5 bodu, 5 – 1 bod, 6 – 1 bod. Celkem 6 bodů.

Úloha č. 2: Mrkvičková

(6 bodů)

Autorka: Soňa Ondrušová

1. Záhon se tak provzdušní, alespoň částečně zbaví plevelu a obohatí se o živiny. (Organické látky, které nové rostliny využívají jako stavební materiál, pochází z tlejících zbytků těch předchozích.)
2. Vysazené rostliny musí soupeřit o živiny a světlo s rychleji rostoucími rostlinami (často označovanými jako „plevel“). Semínka mrkve obsahují kumariny. Ty brání klíčení plevelu, ale také zpomalují klíčení mrkve.
3. Molekulový dusík N_2 obsahuje trojnou vazbu, jejíž rozštěpení je energeticky velmi náročné. Zvládají to pouze některé prokaryotické organismy vlastníci enzymu nitrogenasu (fixátoři N_2 či diazotrofové, hlízkaté bakterie, např. rod *Rhizobium* žijící symbioticky na kořenech bobovitých rostlin). Tyto organismy jsou schopné zredukovat vzdušný dusík na amoniak, a pak s ním dále pracovat. Jednou z možností, jak přivádět dusík do půdy je zasít do záhonu i rostliny čeledi *Fabaceae* (bobovité), které spolupracují s hlízkovými bakteriemi. Ty dodají zpracovatelný dusík nejen symbiotické rostlině, ale i okolí. Další možností je klasické hnojení, při kterém se dusík dodává do půdy ve formě dusičnanů, amoniaku či močoviny.

4. Genetika: nauka o dědičnosti a proměnlivosti organismů

Alela: vloha, každý gen má dvě formy – alely (od otce a od matky)

Homozygot: jedinec, který má obě alely jednoho genu stejné (dominantní či recesivní)

Heterozygot: jedinec, jehož gen má dominantní a recesivní alelu

5. Rostliny, které si Zajíček pořídil, musely mít alely jak pro oranžovou, tak pro žlutou barvu. Vzhledem k tomu, že všechny mrkvičky v 1. generaci měly tuto barvu, musely také všechny obsahovat alelu pro oranžovou barvu, která byla dominantní nad žlutou. Díky tomu, že v druhé generaci byla jedna čtvrtina mrkví recesivní homozygoti, byly jejich rodičovské rostliny heterozygoti. (Toto vyplývá z 2. Mendelova zákona o volné segregaci alel.)

	Ž	O
ž	Žž	žO
O	žO	OO

genotypový štěpný poměr = 1:2:1

fenotypový štěpný poměr = 3:1

6. Pro získání pouze oranžových mrkví musí být všechny mateřské rostliny dominantní homozygoti. Ty ale nelze fenotypově odlišit od heterozygotů. Proto se nejdříve musí zkřížit zvláště několik rostlin s oranžovými mrkvemi a ty rodičovské rostliny, které daly vzniknout pro aspoň dvě generace pouze potomkům s oranžovými mrkvemi, jsou právě dominantní homozygoti, stejně jako jejich potomci. Tyto rostliny pak dají vzniknout po zbytek generací pouze

oranžovým mrkvím, pokud se budou množit jen mezi sebou. Celý proces by byl snazší, kdybychom mohli konkrétní mrkve křížit opakovaně. To ale není možné díky tomu, že mrkev je dvouletka a kvete pouze jednou. Jednodušší možností by bylo ponechávat jen oranžové mrkve a ty žluté hned vyřazovat, ale to by byl proces vysloveně zdoluhavý a nepříliš spolehlivý, pokud by se neurychlil například snížením populace.

7. Pokud se budou konkrétní mrkve množit pouze mezi sebou, bude docházet inbreedingu. Sníží se genová variabilita, schopnost adaptace a zvýší náchylnost k patogenům. Na tak malém záhonku bude ale stejně k inbreedingu docházet, takže záhonek mrkví se bude sám dobře obnovovat jen do určité generace.
8. Na záhonku se mrkve kříží zcela náhodně, jedná se tedy o panmiktickou populaci. Můžeme proto pro výpočet genotypu použít Hardy-Weinbergův zákon.

$$p + q = 1 \text{ a } p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Přitom p a q je zastoupení jednotlivých alel v populaci, p^2 a q^2 je zastoupení homozygotních jedinců a $2pq$ je zastoupení heterozygotů.

Víme, že mrkvičky se světlými lístky jsou recesivní homozygoti, tudíž pokud q bude značit zastoupení alel pro světlejší lístky, tak $q^2 = \frac{64}{400} = 0,16 \rightarrow q = 0,4$.

To znamená $p = 1 - 0,4 = 0,6 \rightarrow p^2 = 0,36$ a $2pq = 0,48$.

$$0,48 \cdot 400 = 192; 0,36 \cdot 400 = 144$$

Na záhoně je zhruba 192 (48 %) heterozygotů, 144 (36 %) dominantních homozygotů se zelenými lístky a 64 (16 %) recesivních homozygotů.

9. β -karoten je významný jako prekurzor vitamínu A. Ten je potřebný k tvorbě rhodopsinu, což je chromoprotein, který slouží jako fotoreceptor v buňkách oční sítnice. Nachází se v tyčinkách a reaguje na světlo. Světlo indukuje izomerizační změnu kys. retinové, což vyvolává konformační změnu G-proteinu a přenos signálu. Vitamin A i β -karoten jsou pak také důležitými antioxidanty.
10. Mrkev je zdravá v jakémkoliv stavu, ale pokud je vařená nebo dušená, dostaneme z ní víc β -karotenu. Tepelnou úpravou se totiž naruší buněčné stěny, ve kterých se β -karoten drží a ze kterých se jinak těžko získává. Nicméně Zajíček nepohrdne ani méně zdravými pokrmy, pokud jsou chutné jako ty, co jste mu poslali.

Otázka 1 – 0,25 bodu, 2 – 0,5 bodu, 3 – 0,75 bodu, 4 – 0,5 bod, 5- 0,75 bodu, 6 – 0,75 bodu, 7- 1,5 bodu, 8 – 0,5 bodu, 9 – 0,5 bodu. Celkem 6 bodů.

Úloha č. 3: KRIZE!**(12 bodů)**

Autorka: Aneta Pospíšilová

1. Produktem by měla být jasně žlutá sraženina.
2. Z čirého roztoku se po přidání Sava vysrážela žlutá látka, směs se mírně zahřála. Po okyselení a zahřátí filtrát mírně páchl po octu.
3. $\text{NaClO} + 2\text{NaI} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{I}_2 + \text{NaCl} + 2\text{NaOH}$



Adolf Lieben

4. Jodoform/trijodmethan/ CHI_3 , dezinfekce
5. Octan sodný, s kyselinou citrónovou reaguje za vzniku kyseliny octové

$$6. \text{ a) } c_A = \frac{m}{MV} = \frac{2,88}{192 \cdot 0,03} = 0,5 \text{ mol/l}$$

$$\text{ b) } K_{A1} = \frac{[\text{H}_2\text{A}][\text{H}]}{[\text{H}_3\text{A}]}, K_{A2} = \frac{[\text{HA}][\text{H}]}{[\text{H}_2\text{A}]}, K_{A3} = \frac{[\text{A}][\text{H}]}{[\text{HA}]}, K_B = \frac{[\text{B}][\text{H}]}{[\text{HB}]}, K_w = [\text{H}] \cdot [\text{OH}]$$

$$c_A = [\text{H}_3\text{A}] + [\text{H}_2\text{A}] + [\text{HA}] + [\text{A}], c_B = [\text{HB}] + [\text{B}]$$

$$3[\text{A}] + 2[\text{HA}] + [\text{H}_2\text{A}] + [\text{OH}] + [\text{B}] = [\text{H}] + 0,03,$$

kde $[\text{H}_3\text{A}]$ je rovnovážná koncentrace k. citronové, $[\text{H}_2\text{A}]$ dihydrogencitrátu, $[\text{HA}]$ hydrogencitrátu, $[\text{A}]$ citrátu, $[\text{HB}]$ k. octové, $[\text{B}]$ octanu, $[\text{H}]$ protonů, $[\text{OH}]$ hydroxidových iontů

$$\text{ c) } K_{A1} = \frac{[\text{H}_2\text{A}][\text{H}]}{[\text{H}_3\text{A}]}$$

$$c_A = [\text{H}_3\text{A}] + [\text{H}_2\text{A}]$$

$$[\text{H}_2\text{A}] = [\text{H}] + 0,03$$

$$\text{ Z toho pH} = 2,02.$$

Pokud jste zanedbali i přítomnost Na^+ , bude to stejné, jen v poslední rovnici nebude + 0,03 a pH vyjde 1,69. Uznávám i toto řešení, i když se od hodnoty získané řešením soustavy osmi rovnic, která je 2,01, už výrazněji liší.

d) Např. solve($10^{(-3.08)} = x \cdot y / z$, $z + x = 0.5$, $x = 0.03 + y$), jako řešení vyjde $y = 0,0097$, odtud $\text{pH} = 2,01$

7. Není, dezinfekce je přípravek k ošetření povrchů. Přípravek k ošetření živé tkáně by se měl označovat jako antiseptikum.
8. Např. Dettol (benzalkonium chlorid), peroxid vodíku, Betadine a Jodisol (jodopovidon) atd.
9. Nehoda v jaderné elektrárně Fukušima.

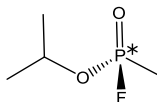
Otázka 1 – 1,5 bodu, 2 – 1,5 bodu, 3 – 1 bod, 4 – 1 bod, 5 – 1 bod, 6 – 5 bodů, 7 – 0,2 bodu, 8 – 0,5 bodu, 9 – 0,3 bodu. Celkem 12 bodů.

Úloha č. 4: Pozor na muže s deštníky

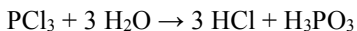
(12 bodů)

Autor: Ondřej Bárta

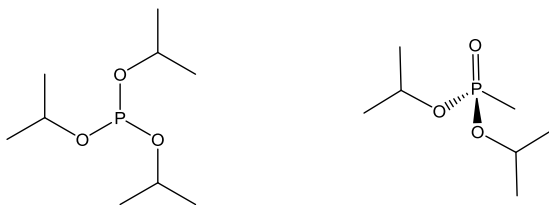
1. Teroristický útok se odehrál 20. března 1995 v Tokiu.
2. Název sekty zněl Aum Shinrikyo (česky Óm Šinrikjó).
3. Látka **X** je veřejnosti známa pod názvem sarin (systematickým názvem isopropyl-methylfosfonofluoridat), též se užívá označení GB.



4. Chlorid fosforitý hydrolyzuje vlivem vzdušné vlhkosti. Příčinou vzniku bílých par je unikající chlorovodík.



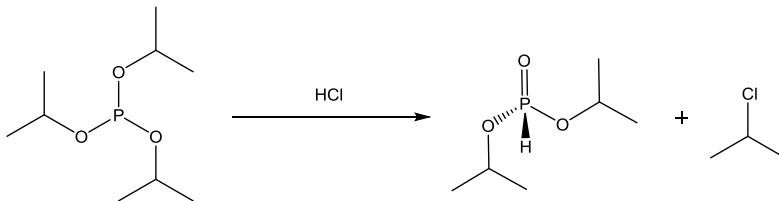
5.



látka **A** – triisopropyl-fosfit

látka **B** – diisopropyl-methylfosfonát

6. a) Diethylanilin, případně jiná dusíkatá báze, váže při reakci vznikající chlorovodík, jehož přítomnost by mohla vést ke vzniku vedlejších produktů.
- b) V případě, že by se v reakční směsi z příčin uvedených v zadání vyskytoval volný chlorovodík, docházelo by ke kyselé hydrolyze triisopropyl-fosfitu a vznikl by diisopropyl-fosfonát:



- c) Z jednoho molu PCl_3 vzniknou 3 moly HCl , tudíž na jeden mol PCl_3 je potřeba přidat 3 moly PhNEt_2 . Při 10% nadbytku potom platí:

$$n_{\text{báze}} = 1,1 \cdot 3 \cdot n_{\text{chlorid}}$$

Vyjádríme si látkové množství pomocí dostupných údajů:

$$\frac{m_{\text{báze}}}{M_{\text{báze}}} = 3,3 \cdot \frac{\rho_{\text{chlorid}} \cdot V_{\text{chlorid}}}{M_{\text{chlorid}}}$$

Odtud potom dostáváme:

$$m_{\text{báze}} = 3,3 \cdot \frac{\rho_{\text{chlorid}} \cdot V_{\text{chlorid}} \cdot M_{\text{báze}}}{M_{\text{chlorid}}}$$

$$m_{\text{báze}} = 3,3 \cdot \frac{1,57 \cdot 17,50 \cdot 149,23}{137,33} = 98,52 \text{ g}$$

7. Arbuzovova (případně Michaelis-Arbuzovova) reakce
8. Ze stavové rovnice ideálního plynu při vyjádření převodních faktorů mezi jednotkami vyplývá:

$$C_{\text{vol}} \left[\frac{\text{mg}}{\text{m}^3} \right] = \frac{m[\text{mg}]}{V[\text{m}^3]} = \frac{133,32 \cdot p[\text{mmHg}] \cdot M}{10^{-3} \cdot R \cdot T}$$

Po numerickém dosazení dostáváme:

$$C_{\text{vol}} = \frac{133,32 \cdot 2,10 \cdot 140,10}{10^{-3} \cdot 8,314 \cdot 293,15} = 16093 \text{ mg/m}^3$$

9. a) Nejdříve je potřeba znát plochu, kterou zaujímal vyteklá kapalina. Tu získáme vydělením objemu vyteklé kapaliny tloušťkou louže:

$$S = \frac{V_{\text{sáček}}}{l} = \frac{500 \cdot 10^{-6}}{10^{-3}} = 0,5 \text{ m}^2$$

Rychlost vypařování poté vypočteme dosazením do rovnice (1) ze zadání:

$$G = k_t \cdot C_{\text{vol}} \cdot S = 0,25 \cdot 16093 \cdot 0,5 = 2012 \text{ mg/min}$$

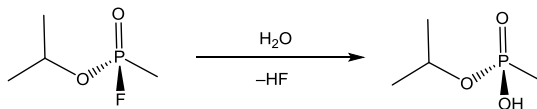
- b) Všechny potřebné údaje známe ze zadání. Stačí proto dosadit do rovnice (2) ze zadání:

$$C_t = \frac{G}{Q} \cdot \left(1 - e^{-\frac{Q \cdot t}{V}} \right) = \frac{1340}{8} \cdot \left(1 - e^{-\frac{8 \cdot 7}{20 \cdot 2,5 \cdot 2,9}} \right) = 54 \text{ mg/m}^3$$

- c) Z výše uvedených výpočtů vyplývá, že před evakuací vlaku dosahovala koncentrace sarinu ve vagonu asi 1,5 násobku LC50, což by znamenalo více než 50% mortalitu zasažených osob. Je však pravděpodobné, že

většina cestujících opustila vagon již v některé předchozí stanici při prvních příznacích otravy.

10. Primárním produktem hydrolyzy sarinu je isopropyl-methylfosfonát:



11. Účinek sarinu tkví v tom, že se molekula sarinu ireverzibilně naváže na serinovou –OH skupinu v molekule enzymu acetylcholinesterasy, díky čemuž je tato pozice nepřístupná pro neurotransmitter acetylcholin, který se proto nemůže odbourat, hromadí se v nervových synapsích a dochází tak k předráždění parasymptiku, z čehož plynou i následné symptomy.

Mezi příznaky otravy patří zvýšená produkce slin a hlenu, tlak na hrudi, zúžení zornic, bolest a slzení očí, zvracení, svalové křeče, dýchací obtíže a ztráta vědomí.

12. Útočníci se tak pojistili pro případ, že by i oni sami byli sarinem zasaženi. Atropin je lékem volby při otravě sarinem, ale i jinými organofosforečnými sloučeninami. Jde o tzv. antagonistu muskarinových receptorů. Působí tak, že se naváže na tyto receptory pro acetylcholin, čímž znemožní přenos nervového signálu. Atropin tak působí ve smyslu úlevy od projevů otravy, nepůsobí však proti její samotné příčině.

Otázka 1 – 0,25 bodu, 2 – 0,25 bodu, 3 – 0,5 bodu, 4 – 0,5 bodu, 5 – 1,5 bodu, 6 – 2,5 bodu, 7 – 0,5 bodu, 8 – 1,5 bodu. 9 – 2,5 bodu, 10 – 1 bod, 11 – 0,5 bodu, 12 – 0,5 bodu. Celkem 12 bodů.

Úloha č. 5: Zápočtová I**(11 bodů)**

Autor: Pavel Řezanka

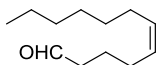
1. Retenční indexy jednotlivých feromonů se vypočtou z rovnice 1 s využitím rovnice 2.

$$I_x = 100 \cdot \frac{\log t'_{R(\text{složky})} - \log t'_{R(\text{C}_z)}}{\log t'_{R(\text{C}_{z+1})} - \log t'_{R(\text{C}_z)}} + 100 \cdot z, \quad (1)$$

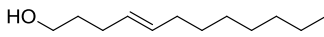
$$t'_R = t_R - t_M \quad (2)$$

I_x (feromon A) = 1389, tj. (Z)-dodec-5-enal, I_x (feromon B) = 1460, tj. (E)-dodec-4-en-1-ol, I_x (feromon C) = 1490, tj. (Z)-dodec-10-en-1-ol.

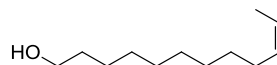
2.



feromon A



feromon B



feromon C

3. Molární odezvy jsou uvedeny v následující tabulce.

látka	MR
<i>n</i> -tridekan	1300
feromon A	1078
<i>n</i> -tetradekan	1400
feromon B	1133
feromon C	1133
<i>n</i> -pentadekan	1500

4. w (feromon A) = 2,31 %, w (feromon B) = 1,27 % a w (feromon C) = 4,92 %.

Nejprve vypočteme látkové množství jednoho z *n*-alkanů. S použitím rovnice 3 pak látková množství jednotlivých feromonů. Z nich pak hmotnost, kterou po vydělení hmotností dichlormethanového extraktu převedeme na procenta.

$$\frac{MR_i}{MR_r} = \frac{A_i \cdot n_r}{A_r \cdot n_i} \quad (3)$$

5. Dosazením hodnot do rovnic 4 až 9 získáme $N = 5682$.

$$H_F = 2 \cdot \lambda \cdot d_p, \quad (4)$$

$$H_L = \frac{2 \cdot \psi \cdot D_m}{u} \quad (5)$$

$$k = \frac{t'_R}{t_M} \quad (6)$$

$$H_S = \frac{2 \cdot k \cdot d_f^2 \cdot u}{3 \cdot (1+k)^2 \cdot D_s} \quad (7)$$

$$H = H_F + H_L + H_S \quad (8)$$

$$N = L/H \quad (9)$$

6. Dosazením hodnot do rovnic 10 a 11 získáme $R_s = 1,1$.

$$\alpha = k_2/k_1 \quad (10)$$

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_2}{k_2+1} \right) \quad (11)$$

7. Využijeme opět vztahu 11, kde za R_s dosadíme 1,5 a vypočteme potřebný počet teoretických pater. Z výškového ekvivalentu teoretického patra vypočteného v otázce 5 podle vztahu 8 získáme potřebnou délku kolony upraveným vztahem 9. Pro dosažení požadované separace musí být kolona dlouhá 11 m.

Otázka 1 – 1,5 bodu, 2 – 0,6 bodu, 3 – 0,9 bodu, 4 – 3 body, 5 – 3 body, 6 – 1 bod, 7 – 1 bodů. Celkem 11 bodů.

Seriál: Analytické separační metody

4. díl: Elektromigrační metody

Autor: Pavel Řezanka

Slovo úvodem

V tomto díle se seznámíte s elektromigračními metodami. Text je pro přehlednost rozčleněn do několika částí. Pro rychlejší orientaci při řešení Úlohy 5 je na konci uveden seznam symbolů.

1. Princip elektromigračních metod
2. Přehled elektromigračních metod
 - 2.1. Zónová elektroforéza
 - 2.2. Metoda pohyblivého rozhraní
 - 2.3. Izoelektrická fokusace
 - 2.4. Izotachoforéza
3. Elektromigrační metody v kapiláře
 - 3.1. Elektroosmotický tok
 - 3.2. Techniky využívané v elektromigračních metodách v kapiláře
 - 3.3. Detekce
4. Seznam symbolů

1. Princip elektromigračních metod

Elektromigrační separační metody jsou založeny na rozdílné pohyblivosti nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Pohyb nabitých částic závisí na velikosti náboje, velikosti a tvaru molekul, na prostředí a na síle elektrického pole. Velikost náboje molekuly ovlivňuje stupeň ionizace, iontová síla a pH prostředí.

Zásadní pojem je **elektroforetická pohyblivost** μ nabitého analytu. Je definována jako rychlost částice v při jednotkovém potenciálovém spádu E , kde E je **intenzita elektrického pole** [$V \cdot m^{-1}$] (1).

$$\mu = \frac{v}{E} \quad (1)$$

Pohyblivost částic je ovlivňována řadou faktorů, nejvýznamnější jsou:

a) Fyzikálně chemické vlastnosti samotných částic – jejich celkový náboj, velikost, tvar, schopnost disociace povrchových skupin, schopnost adsorpce iontů a polárních molekul, tvorba komplexů. Většinu těchto faktorů ale také ovlivňuje prostředí, tj. použité elektrolyty, jejich iontová síla a pH.

b) Vlastnosti prostředí – elektrolyty používané v elektromigračních metodách jsou zpravidla tlumivé roztoky o dané koncentraci, iontové síle,

vodivosti, pH, teplotě, viskozitě a permitivitě. Pohyblivost nabitých částic je dále ovlivňována i přítomnými neelektrolyty. Roztok elektrolytu klade při průchodu proudem určitý odpor, jehož velikost závisí na druhu a koncentraci elektrolytu i na konstrukci elektromigračního zařízení. Průchodem proudem se vyvíjí tzv. Jouleovo teplo, které systém zahřívá a může docházet ke změnám vlastností systému a dělení látek.

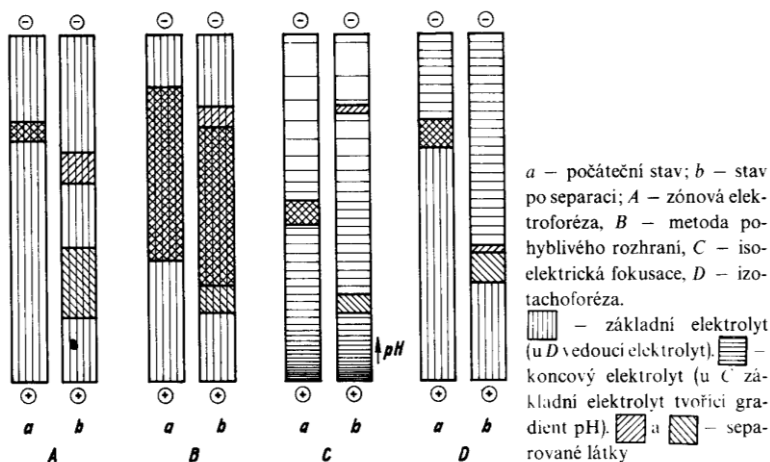
c) Vlastnosti nosiče – pohyblivost iontů je obvykle menší při použití nosiče ve srovnání s volnou elektroforézou. Migraci ovlivňují další faktory, prostorové vlivy nosiče, adsorpce, elektroendoosmóza atd. Velikost elektroendoosmózy závisí na druhu nosiče, potenciálovém spádu, iontové síle elektrolytu a pH. Nosičem bývá chromatografický papír, sorbenty, gely atd.

d) Vlastnosti elektrického pole – síla, homogenita, stabilita, změny pH vlivem elektrolytických dějů na elektrodách a Jouleovo teplo ovlivňují rychlost migrace a ostrost dělení.

2. Přehled elektromigračních metod

Elektroforéza se dělí na volnou elektroforézu a elektroforézu na nosičích. Užití nosičů má ve srovnání s volnou elektroforézou tu výhodu, že umožňuje snížení negativního vlivu zahřívání systému průchodem proudem na separaci a zmenšuje rozmývání zón analyzovaných látek, ke kterému dochází vlivem difúze.

Podle experimentálního uspořádání lze elektromigrační metody rozdělit na zónovou elektroforézu, metodu pohyblivého rozhraní, izoelektrickou fokusaci a izotachoforézu (Obrázek 1).



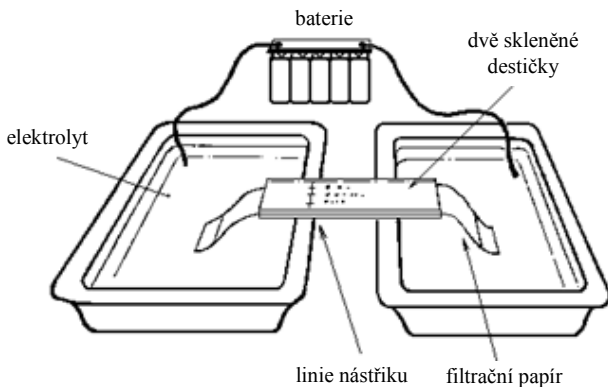
Obrázek 1. Srovnání základních elektromigračních metod

2.1 Zónová elektroforéza

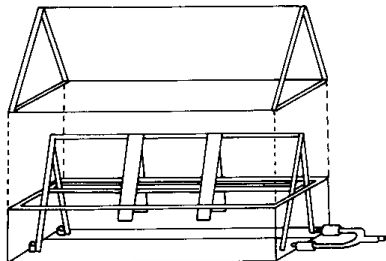
Jednotlivé látky vzorku jednorázově naneseného do určitého místa separačního média (např. kolony) putují po vložení elektrického pole na systém podle své efektivní pohyblivosti různou rychlostí k příslušné elektrodě, současně se dělí kationty i anionty. Látky vzorku se rozdělují a vytvářejí v základním elektrolytu samostatné zóny (Obrázek 1A). Během separace šířka zón roste vlivem difúze a maximální koncentrace látek v nich klesá. Dvojice látek o velmi blízké efektivní pohyblivosti se plně nerozdělí ani po velmi dlouhé době. Jelikož je nutno zóny stabilizovat, používají se často nosiče, nejčastěji papír nebo gely.

a) Papírová elektroforéza

Jedná se o jednu z prvních elektromigračních technik, první práce byla publikována v roce 1950. Není ideální pro separace bílkovin a nukleových kyselin a dalších velkých molekul, spíše se užívá pro dělení nízkomolekulárních látek. Ve srovnání s dalšími technikami je dnes na ústupu. Přístroje jsou konstruovány pro nízké nebo vysoké napětí, s horizontálním (Obrázek 2) nebo vertikálním uspořádáním (Obrázek 3). Zařízení může být uzavřeno k omezení odpařování.



Obrázek 2. Horizontální uspořádání papírové elektroforézy s nízkým napětím



Obrázek 3. Vertikální uspořádání papírové elektroforézy s nízkým napětím

b) Elektroforéza na membránách na bázi celulózy a jejich derivátů

Výhodou těchto nosičů je nižší adsorpce analytů, a tím menší tzv. chvostování ve srovnání s elektroforézou na filtračních papírech. Přístrojové uspořádání je obdobné jako pro papírovou elektroforézu.

c) Tenkovrstvá elektroforéza

Granulovaný materiál je nanesen na desku, kde vytvoří uniformě silnou vrstvu. Používá se prášková celulóza, granulovaný škrob, alumina, silikagel, polyvinylchlorid a další syntetické polymery, skleněná vlákna atd. Metoda je vhodná pro preparativní dělení.

d) Elektroforéza na gelech

Jako první byl pro elektroforézu na gelech využit škrob, nyní se ale nejčastěji používá polyakrylamidový gel, který nejen omezí difúzi, ale může se podílet i na separaci vlastní interakcí s analyty.

Na polyakrylamidové gely lze pohlížet jako na porézní média, ve kterých je velikost pórů srovnatelná s velikostmi dělených látek (často proteinů a jiných makromolekul). Dělení je pak uplatněním síťového efektu závislé nejen na nábojové hustotě analytu (tj. poměru náboj/hmotnost), ale i na velikosti molekul. Tj. dva proteiny odlišné relativní molekulové hmotnosti se stejnou nábojovou hustotou budou pravděpodobně nepřilíš dobře odděleny papírovou elektroforézou, ale mohou být dobře děleny na polyakrylamidovém gelu díky síťovému efektu, jenž zpomaluje pohyb většího proteinu vzhledem k proteinu menšímu.

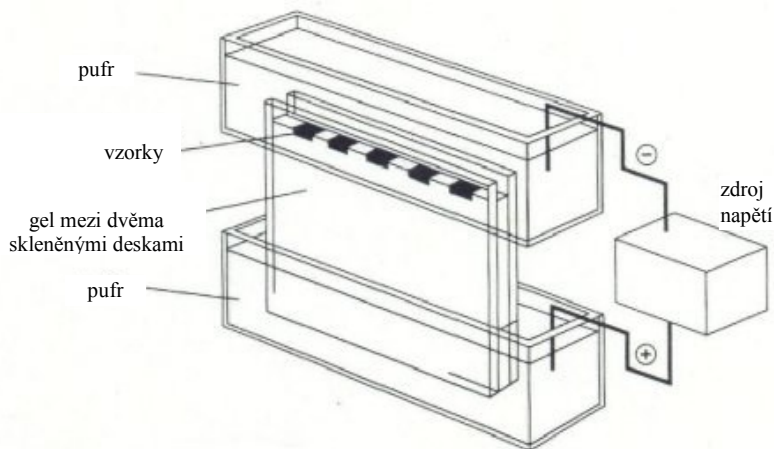
Polyakrylamidový gel je chemicky inertní, stabilní v širokém rozmezí pH (3 až 10), teploty a iontové síly. Velikost pórů gelu je nastavitelná v širokém rozmezí změnou koncentrací monomerů (na rozdíl od škrobových gelů). Hustota a stupeň zesíťení jsou podstatné pro výsledné vlastnosti. Gel se připravuje polymerací akrylamidu v přítomnosti bifunkčního síťovadla N,N' -metylenbisakrylamidu. Jako polymerační iniciátor se používá peroxosíran amonný nebo riboflavin (iniciace světlem), pro katalýzu polymerace se užívá N,N,N',N' -tetramethylethylendiamin. Nejčastěji používané koncentrace jsou v rozmezí 5 až 20 % (limitně 3 až 30 %) akrylamidu s 3 až 5 % síťovadla. Dělit lze peptidy a bílkoviny v rozmezí molekulových hmotností od 2 000 do $\sim 800\,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Gel může být vytvořen ve formě tyčinky (~ 50 až $100 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$) nebo desky (~ 100 až 200 mm délka, 100 až 150 mm šířka a 1 až 3 mm tloušťka).

Výhodou tyčinkového formátu ve srovnání s deskovým formátem je větší kapacita gelu, snadnější testování mnoha různých separačních podmínek najednou, např. hledání nejvhodnějšího pH, a také možnost dvoudimenzionálního dělení, přičemž první dimenze je na tyčince, která se posléze přiloží kolmo

k desce a proběhne druhé dělení – takové uspořádání se používá například v proteomice pro dělení komplexních směsí bílkovin.

Výhodou deskového formátu (Obrázek 4) ve srovnání s tyčinkovým formátem je možnost analýzy více vzorků (~25) najednou vedle sebe, jednodušší příprava gelu, společně se vzorky je možno separovat i standardy za totožných podmínek, teplo je snadněji odváděno a v neposlední řadě obdélníkový tvar gelu umožňuje snadné vyhodnocování.



Obrázek 4. Experimentální uspořádání elektroforézy na gelu

Většina studií užívající zónovou elektroforézu bílkovin na polyakrylamidových gelech užívá pufry vedoucí k disociaci všech proteinů na jednotlivé podjednotky. Nejčastěji je používán detergent SDS (dodecylsírán sodný). Vzorek je denaturován teplotou 100 °C v přítomnosti SDS a thiolového činidla k redukci disulfidických můstků. Při uvedených podmínkách většina polypeptidů váže SDS v konstantním hmotnostním poměru 1,4 g SDS na 1 g polypeptidu. Vnitřní náboj polypeptidu je nepodstatný ve srovnání s negativním nábojem SDS navázaným na polypeptid. SDS-polypeptidové komplexy tak mají stejnou nábojovou hustotu a postupují v polyakrylamidovém gelu vhodné velikosti pórů výhradně podle molekulových hmotností. Tato technika je také označována jako SDS-PAGE (gelová elektroforéza s polyakrylamidem a SDS).

Zónová elektroforéza nativních proteinů s použitím nedisociujících pufřů je vhodná tehdy, když je cílem zachovat interakce podjednotek, přirozenou konformaci a biologickou aktivitu.

Detekční techniky

i) Detekce s využitím UV záření

Monomerní akrylamid má UV absorpční pík s maximem při vlnové délce 280 nm, ale tento pík postupně mizí polymerací. Polyakrylamidový gel má pak relativně nízký absorpční koeficient při 270 nm, v analyzovaném gelu tedy nesmí být přítomen monomer, pokud má být použita detekce UV zářením. Nukleové kyseliny mají vysoké absorpční koeficienty, které nezávisí na složení bázi, takže mohou být snadno detekovány jak v agaru, tak v polyakrylamidovém gelu při 260 nm. Proteiny mají při 280 nm podstatně nižší absorpční koeficienty než nukleové kyseliny při 260 nm, kromě toho je absorpční koeficient pro každý protein závislý na jeho složení (na absorpčních koeficientech aminokyselin, ze kterých je dotyčný protein složený). Ke skenování gelů se používají speciální densitometry.

ii) Detekce s využitím fluorescence

Separované látky jsou buď označeny fluorescenční značkou a klasicky detekovány, a nebo je UV absorbující látka vizualizována jako tmavý pás v matici, ke které byl přidán fluorescenční chromofor, tj. fluorescenční zřášení.

Polyakrylamidový gel je sám o sobě fluorescenční materiál, jeho fluorescence se objevuje při excitaci vlnovou délkou 280 nm nebo 340 nm. Tyto vlnové délky jsou velmi blízké excitačním vlnovým délkám nativních a dansylchloridem značených proteinů. Na druhou stranu polyakrylamidový gel vykazuje největší fluorescenční emisi při 340 nm a 460-520 nm, což jsou oblasti dostatečně mimo emisní maxima nativních i dansylchloridem značených proteinů. Kromě toho byly vyvinuty postupy přípravy vedoucí k nefluoreskujícím gelům.

iii) Detekce barvením

Barvení makromolekul vhodným barvivem je nejpoužívanější metoda detekce v gelové elektroforéze. Barvivo musí být pevně vázáno na separovanou makromolekulu, a přitom slabě interagovat se stabilizačním médiem. Barvivo může být selektivní, tj. obarvuje pouze danou skupinu makromolekul, nebo může obarvovat několik skupin látek současně. Postup detekce je relativně jednoduchý: gel je ponořen do roztoku barvicí látky na jistou dobu, pak je nadbytek barviva nenavázaného na separované látky vymyt. Protože difúze se začne projevovat ihned po proběhnutí elektroforézy, doporučuje se buď vysrážet proteiny na gelu, nebo gel vysušit. Lze užít i přísadku fixujícího činidla do barvicí lázně. Odbarvování, vymývání nadbytečného, nenavázaného barviva, je obvykle nejdéle trvající krok. Nejužívanější barviva: Coomassie Brilliant Blue, Amido Black. Nejcitlivější je pak barvení stříbrem.

2.2 Metoda pohyblivého rozhraní

Směs separovaných složek (smíchaná se základním elektrolytem) je rozptýlena v tak veliké části separační kolony/prostoru, že při dané délce kolony nedojde k úplné separaci složek směsi. Prvá zóna obsahuje nejpohyblivější složku vzorku, pak následuje směsná zóna dvou nejrychlejších složek atd., na konci je čistá nejpomalejší složka (Obrázek 1B).

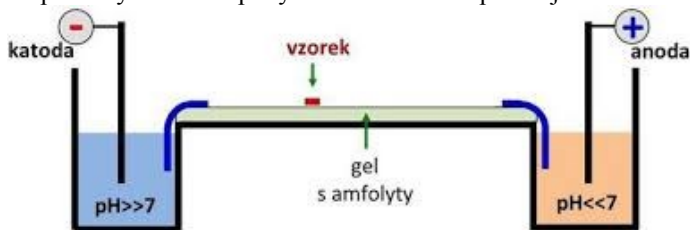
Hranice mezi zónami jsou hlavně určeny koncentracemi a efektivními mobilitami složek vzorku a volbou anodického a katodického pufru. Hranice na obou stranách mohou být zónově elektroforetické nebo izotachoforetické podle elektroforetické mobility anodického a katodického pufru a složek vzorku.

Metoda je užívána jen omezeně, např. pro testování čistoty substancí. Hranice zón jsou detekovány fotometrickým a vodivostním detektorem. Dělení probíhá většinou v úzké trubici.

2.3 Izelektrická fokusace

Princip metody spočívá ve faktu, že amfoterní makromolekuly vykazují nulovou pohyblivost v elektrickém poli v jejich izoelektrickém bodě – pI (protože tam mají celkově nulový náboj) a mají tendenci se koncentrovat do úzké zóny v místech, kde je hodnota pH okolního média rovna jejich izoelektrickému bodu. Proces izoelektrické fokusace probíhá ve dvou krocích: 1. Vznik stabilního gradientu pH s tím, že hodnota pH vzrůstá od anody ke katodě, 2. Amfoterní makromolekuly analytů se pohybují do zón s pH odpovídající jejich pI s následným dosažením stabilního stavu, analyty jsou v zónách značně koncentrovány a vliv difúze je zásadně omezen.

Lze dělit proteiny lišící se hodnotou pI o 0,0025. Katoda je ponořena do roztoku silné báze a anoda do roztoku silné kyseliny, tím je zabezpečeno, že proteiny ponесou v blízkosti katody záporný náboj a v blízkosti anody kladný náboj (Obrázek 5). Vzorek proteinů může být nanesen kamkoli mezi elektrody a jednotlivé proteiny se budou pohybovat do zón s odpovídajícími hodnotami pI.



Obrázek 5. Experimentální uspořádání izoelektrické fokusace

Spojité gradient pH je vytvořen aplikováním stejnosměrného elektrického pole na směs amfoterních látek – amfolytů, které musí splňovat podmínku, že pI hodnoty složek amfolytu jsou si blízké a pokrývají určitou vybranou škálu hodnot pH. pH gradient je stabilizován antikonvekčním médiem – matricí gelu, hustotním gradientem. Detekce dělených makromolekul je založena na běžných postupech, barvení a UV absorpci.

Nejrozšířenější verze metody je izoelektrická fokusace na polyakrylamidovém gelu. Amfolyty (2 % w/w) jsou zabudovány do matrice gelu před polymerací. Klíčovou úlohu má koncentrace gelu, ta je volena tak, aby vliv síťového efektu byl minimalizován. 3,75% gel s 3,33% zesítním je vhodný pro izoelektrickou fokusaci proteinů do relativní molekulové hmotnosti 800 000. Pro proteiny s nižší molekulovou hmotností se používají koncentrovanější gely, které jsou mechanicky odolnější a poskytují ostřejší zóny dělených makromolekul.

2.4 Izotachoforéza

V této elektromigrační technice je vzorek umístěn mezi dva různé elektrolyty, vedoucí (leading, L) a koncový (terminating, T). V jednom experimentu lze dělit jen ionty stejného znaménka, např. anionty. Vedoucí elektrolyt obsahuje anionty pohyblivější, než je **efektivní pohyblivost**⁴ $(\mu_i)_{ef}$ kteréhokoliv aniontu vzorku, a kationty, u kterých se využívá jejich pufracních schopností. Koncový elektrolyt obsahuje anionty o menší efektivní pohyblivosti než je efektivní pohyblivost kteréhokoliv aniontu ve vzorku. Základní podmínkou pro izotachoforetickou separaci je splnění vztahu (2):

$$(\mu_L)_{ef} > (\mu_i)_{ef} > (\mu_T)_{ef} \quad (2)$$

Po vložení elektrického pole se jednotlivé látky vzorku oddělují, přitom anionty vedoucího elektrolytu stále zůstávají před složkami vzorku a anionty koncového elektrolytu za nimi. Po úplném oddělení látek dojde ke vzniku „ustáleného stavu“, který je charakterizován tím, že jednotlivé látky jsou rozděleny do samostatných, ostře oddělených, ale na sebe přímo navazujících zón. Na rozdíl od předcházejících metod v zónách látek vzorku nejsou anionty základního elektrolytu. Separace se obvykle provádí v úzké skleněné nebo plastové kapiláře bez stabilizujících komponent. Pro dělení proteinů lze také užít separace na acetátcelulózovém proužku nebo na polyakrylamidovém gelu s potlačeným síťovým efektem, výsledky jsou obvykle srovnatelné s izoelektrickou fokusací, protože proteiny jsou separovány podle hodnot pI, avšak výhoda izotachoforézy spočívá v tom, že při ní nedochází k případnému srážení proteinů.

⁴ Pro látky tvořené více formami, mezi nimiž dochází k rychlém ustavování rovnováhy (např. slabé elektrolyty) se zavádí tzv. efektivní pohyblivost, která je váženým průměrem elektroforetických pohyblivostí jednotlivých forem.

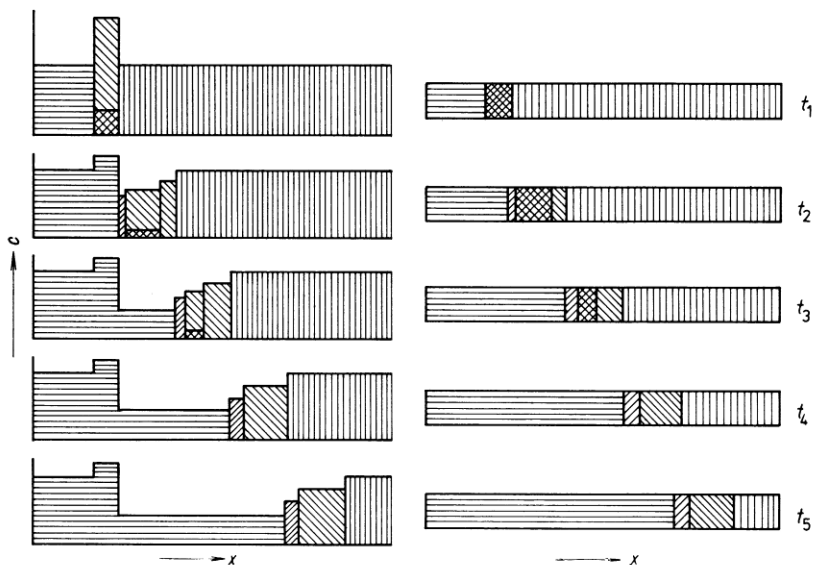
Dynamika izotachoforetického děje

Pokud má vzorek dvě složky A a B s odlišnými efektivními pohyblivostmi a současně platí vztah (3):

$$(\mu_L)_{ef} > (\mu_A)_{ef} > (\mu_B)_{ef} > (\mu_T)_{ef}, \quad (3)$$

pak je splněna základní izotachoforetická podmínka.

Vzorek je umístěn mezi vedoucí a koncový elektrolyt. V průběhu separace se z předního rozhraní směšné zóny vzorku odděluje rychlejší složka a vytváří mezi směšnou zónou a vedoucím elektrolytem L čistou zónu složky A. Za zadním rozhraním směšné zóny vzorku se opožďuje pomalejší složka a vytváří mezi směšnou zónou a koncovým elektrolytem zónu čisté složky B. V průběhu separace se čisté zóny A i B prodlužují a směšná zóna zkracuje, až po určité době dojde k úplnému rozdělení složek A a B. Tento stav, kdy mezi vedoucím a koncovým elektrolytem jsou jen zóny čistých složek A a B, se nazývá ustálený stav. Od tohoto okamžiku se všechny zóny pohybují stejnou rychlostí a nemění se jejich délka (Obrázek 6).



c – koncentrace jednotlivých látek, x – polohová souřadnice, t_1 až t_5 – časy charakterizující dobu separace ($t_1 =$ počátek separace, $t_2 = t_1 + \Delta t, \dots, t_5 = t_1 + 5 \Delta t$).

▨ – L. ▨ – T. ▨ – A. ▨ – B

Obrázek 6. Dynamika izotachoforetické separace látek A a B, $(\mu_A)_{ef} > (\mu_B)_{ef}$

Ustálený izotachoforetický stav

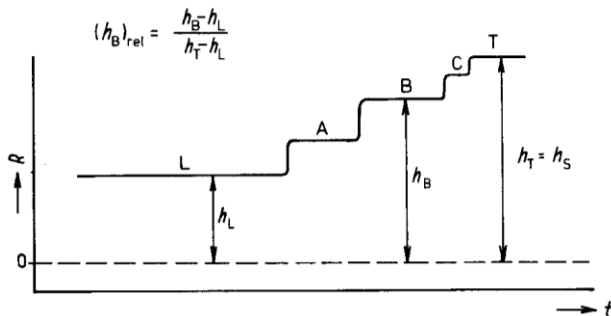
V ustáleném stavu vytvoří každá složka zónu o příslušné koncentraci a tyto zóny migrují stejnou rychlostí (Obrázek 6, čas t_4 a t_5). Skutečnost, že látka je při daných experimentálních podmínkách v ustáleném stavu vždy ve stejné koncentraci, se užívá ke kvalitativní charakterizaci látek. Pro kvantitativní stanovení látek se využívá faktu, že délka zóny v ustáleném stavu je závislá na množství látky.

Užívané detektory

Detektory mohou být umístěny vně kapiláry (bezkontaktní detektory), což má výhodu v tom, že elektrolyt není v kontaktu s detekčním čidlem a nedochází k nežádoucím jevům, nebo uvnitř kapiláry (kontaktní detektory), ty jsou citlivější a mají lepší rozlišení, ale reprodukovatelnost odezvy je většinou nižší.

Podle toho, jaké veličině je odezva detektoru úměrná, se rozlišují univerzální a specifické detektory. Univerzální detektory měří některou vlastnost zóny, například měrnou vodivost, gradient elektrického pole, množství tepla uvolněného v zóně, která je úměrná efektivní pohyblivosti látky v zóně. Tyto detektory poskytují izotachofogram, který má schodovitý průběh (Obrázek 7). Používají se buď bezkontaktní detektory (termický nebo vysokofrekvenční detektor) nebo kontaktní detektory (vodivostní nebo gradientový detektor).

Specifické detektory měří danou vlastnost zóny, která nesouvisí s efektivní pohyblivostí látky v zóně, ale je pro látku charakteristická. Odezva nemá schodovitý průběh, může mít zcela různé hodnoty v jednotlivých zónách. Nejrozšířenější je ultrafialový fotometrický detektor, polarimetrický detektor se užívá při dělení enantiomerů.



Obrázek 7. Schematické znázornění izotachofogramu; R je odezva detektoru

Kvalitativní charakteristiky

K určování kvality se zpravidla užívá charakteristika spojená s efektivní pohyblivostí. Takovou charakteristikou je pro látku i například velikost odezvy h_i univerzálního detektoru v okamžiku průchodu zóny (Obrázek 7). Pokud není známa výška zóny, ale jen její přírůstek, zavádí se pojem relativní výška zóny $(h_i)_{\text{rel}}$ (rovnice (4)).

$$(h_i)_{\text{rel}} = \frac{h_i - h_L}{h_T - h_L} \quad (4)$$

Kvantitativní charakteristiky

V ustáleném stavu je látka i přítomna vždy v adaptované koncentraci c_i . Každému množství látky i ve vzorku přísluší určitý objem tohoto roztoku obsahujícího látku i , který lze charakterizovat délkou zóny l_i v kapiláře nebo délkou L_i zóny na izotachofogramu. Ke kvantifikaci se využívá metoda externího i interního standardu.

Aplikace izotachoforézy

Dělení anorganických i organických kationtů, aniontů, komplexů, aminokyselin, peptidů, proteinů, nukleotidů, sacharidů atd. Metoda je zejména vhodná pro elektricky nabitě látky s poměrem molekulové hmotnosti ku efektivnímu náboji do 3000.

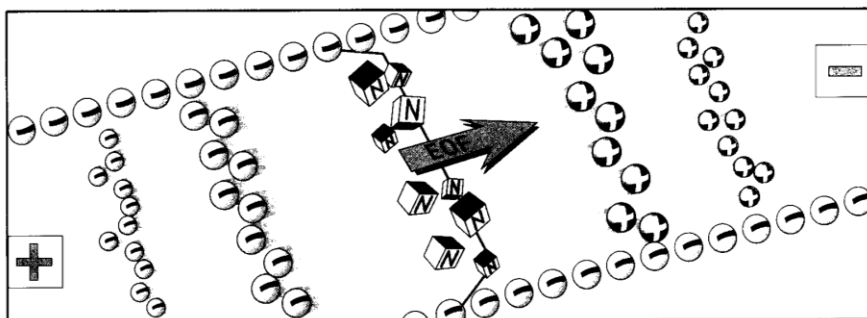
3. Elektromigrační metody v kapiláře

Ve srovnání s elektromigračními metodami na deskách, které mají nízkou účinnost, dlouhou dobu analýzy a jsou obtížně automatizovatelné, mají elektromigrační metody v kapiláře (CE) řadu výhod. Jednou z nich je například malý poloměr kapilár, který je sám o sobě antikonektivní, což umožňuje provádění elektroforézy bez použití nosičů za vysoké účinnosti dělení (nicméně nosiče jsou pro některé techniky užívány). Další výhodou je krátká doba analýzy (obvykle minuty) a snadná automatizace.

3.1 Elektroosmotický tok

Základním rysem CE je existence elektroosmotického toku (EOF) kapaliny v kapiláře, který se vytváří v důsledku přítomnosti fixovaného elektrického náboje (většinou negativního) na vnitřní stěně kapiláry po aplikaci elektrického napětí. Protionty (většinou pozitivní ionty) jsou poutány ke stěnám kapiláry elektrostatickými silami a kompenzují náboj na stěnách. Vzniká elektrická dvojrůstava a v blízkosti stěny kapiláry se generuje elektrický potenciál. Pokud je aplikováno na kapiláru vnější napětí, je difúzní dvojrůstava uvedena do pohybu směrem ke katodě. Protože jsou kladné ionty v difúzní dvojrůstvě solvatované, jejich pohyb strhává veškerou kapalinu v kapiláře směrem ke katodě, tzn. také neutrální molekuly jsou uvedeny do pohybu ve stejném směru (Obrázek 8).

Hnací síla tvořící tok kapaliny v kapiláře, je rovnoměrně rozprostřena podél stěny kapiláry. V důsledku toho nevzniká uvnitř kapiláry tlakový spád a tok kapaliny je téměř jednotný v celém průřezu kapiláry. Plochý tvar toku je velmi výhodný, protože přímo nepřispívá k rozmývání dělených zón. Toto je výrazný rys CE, kterým se liší od chromatografie, kde je tok vytvořen externí pumpou a kde je generován tlak na koloně a profil rychlosti má parabolický charakter. I v případě HPCE není rychlost toku zcela stejná v celém profilu kapiláry, velmi těsně podél stěn je rychlost menší. Zpomalení toku u stěn je vyvoláno třecími silami. Nicméně tato neuniformita toku je malá a k rozmývání zón přispívá nevýznamně. Rychlost toku a jeho profil jsou nezávislé na vnitřním průměru kapiláry až do $\sim 200\text{-}300\ \mu\text{m}$, kdy dojde k narušení profilu toku. Dalším rysem EOF je skutečnost, že vyvolává pohyb téměř všech látek, nezávisle na náboji, v jednom směru. Za běžných podmínek, tzn. negativní povrch kapiláry, EOF směřuje od anody ke katodě. Kationty se pohybují v kapiláře ke katodě nejrychleji, následovány neutrálními látkami, které se ovšem vzájemně nedělí, a nakonec migrují anionty. Anionty bývají unášeny ke katodě, protože jejich elektroforetická pohyblivost může být až o jeden řád nižší než je rychlost EOF. Kationty, neutrální látky a anionty vedle sebe lze dělit v jedné analýze.



Obrázek 8. Schematické znázornění pořadí migrace látek v CE

3.2 Techniky využívané v elektromigračních metodách v kapiláře

a) Kapilární zónová elektroforéza

Jedná se o nejčastěji užívanou techniku v CE, při které je kapilára naplněna jen pufrům. Separace je dosaženo na základě odlišné rychlosti migrace nabitých látek. Lze rozdělovat kationty a anionty v jedné analýze (příspěvek EOF). Neutrální látky jsou koeluovány s EOF.

b) Kapilární izotachofórzeza

Tato technika je identická s klasickou izotachofórezou.

c) Kapilární izoelektrická fokusace

Tato technika je identická s klasickou izoelektrickou fokusací s tím rozdílem, že je třeba EOF snížit, nebo lépe, zcela eliminovat. Mohl by totiž vést k vymytí amfolytů před ukončením fokusacího kroku. Snížení EOF je dosaženo pomocí kovalentní nebo dynamické modifikace povrchu kapiláry. Modifikace kapiláry kromě potlačení EOF snižuje adsorpci peptidů/proteinů na povrchu kapiláry. Vzorek je vnášen do kapiláry v průběhu jejího plnění amfolyty, proto lze dělit podstatně větší množství látek, než je obvyklé v jiných modech CE. Avšak srážení proteinů (jejich agregace), v důsledku jejich příliš vysoké koncentrace po fokusaci, je limitujícím faktorem pro možné množství děleného vzorku. Pro obtížně dělitelné proteiny se užívají kapiláry plněné gelem. Využití této techniky je především pro měření pI peptidů/proteinů a pro dělení izomerů proteinů a jiná dělení, která jsou obtížně proveditelná jinými metodami, např. separace hemoglobinů, imunoglobulinů a dalších biologicky významných látek.

d) Kapilární gelová elektroforéza

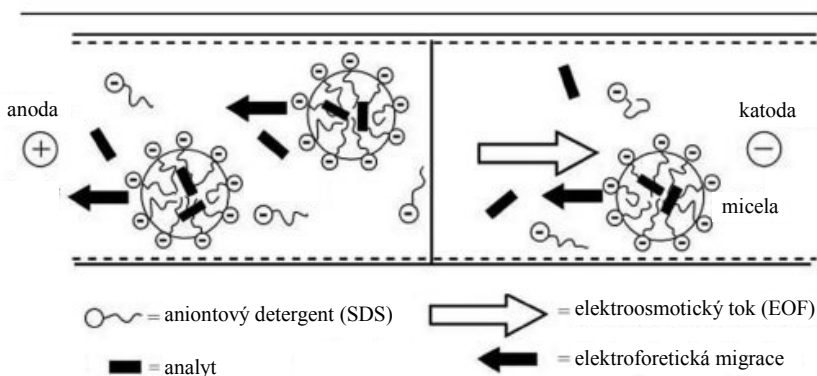
Jde o obdobu gelové elektroforézy na deskách, separační mechanismus je totožný. Výhodami kapilárního uspořádání je možnost užití gelů, které nejsou antikonvektivní, díky uplatnění antikonvektivních vlastností kapiláry. Lze použít 10 až 100× vyšší elektrická pole bez negativního vlivu zahřívání gelu a detekce lze provést přímo na kapiláře on-line se snadnou automatizací. Preparativní dělení je prováděno na kapilárách s vnitřním průměrem od 100 do 200 μm , za nižších napětí. Analýzy jsou poměrně rychlé. Aplikaci nalézá tato technika především v oblastech molekulární biologie při sekvenaci a analýze proteinů.

e) Micelární elektrokinetická chromatografie

Micelární elektrokinetická chromatografie je hybridní technika spojující elektroforézu s chromatografií. Metoda byla objevena v roce 1984 (Terabe) a dnes patří k nejdůležitějším technikám užívaným v kapilární elektroforéze. Největší předností MEKC je schopnost dělit nejen nabitě látky, ale i neutrální molekuly.

Separace neutrálních látek je dosažena přidáním povrchově aktivního činidla v množství převyšujícím kritickou koncentraci do elučního pufru. Překročení kritické koncentrace (např. pro SDS 8–9 mmol/l) vede k tvorbě agregátů, micel jednotlivých molekul smáčedla. Micely jsou sférické útvary s hydrofobními částmi orientovanými do středu těchto útvarů. Tato orientace zamezuje interakci hydrofobních řetězců s hydrofilním prostředím elučního pufru. Naopak nabitě části molekul povrchově aktivních látek se nachází na povrchu micely. Interakce mezi neutrálními analyty a micelami jsou odpovědné za separaci. Používaná povrchově aktivní činidla většinou nesou kladný nebo záporný náboj, podle toho se pak pohybují daným směrem ve srovnání se směrem EOF (Obrázek 9).

Aniontová smáčedla (SDS) migrují k anodě, tzn. proti EOF. Protože EOF je obvykle rychlejší (při neutrálním a bazickém pH) než elektroforetická pohyblivost micel, výsledný směr pohybu micel je v souladu s EOF, tj. ke katodě. V průběhu pohybu kapilárou interagují analyty s micelami, podobně jako při chromatografii se stacionární fází, hydrofobní a elektrostatickou interakcí. Pro neutrální látky je za separaci odpovědné jen jejich rozdělování mezi pufr a micely. Látky neutrální a hydrofobní silně interagující s micelami jsou eluovány až za neutrálními hydrofilními analyty interagujícími s micelami jen slabě. Technika se užívá pro dělení nabitých, nenabitých, hydrofilních i hydrofobních analytů. Aplikace zahrnují např. dělení aminokyselin, nukleotidů, vitamínů, léčiv, aromatických uhlovodíků, složek výbušnin.



Obrázek 9. Schematické znázornění principu separace pomocí micelární elektrokinetické chromatografie

3.3 Detekce

Detekce v CE je komplikována velmi malým průřezem kapiláry. Tato skutečnost je důvodem, proč analyzované vzorky musí být poměrně koncentrované a technika není obvykle vhodná pro stopovou analýzu. Nejpoužívanějším detektorem je UV/VIS spektrometr, ale škála detektorů, které jsou užívány, je zhruba stejně široká jako v kapalinové chromatografii.

4. Seznam symbolů

μ	elektroforetická pohyblivost
v	rychlost
E	intenzita elektrického pole
h_i	velikost odezvy detektoru pro složku i
h_L	velikost odezvy detektoru pro vedoucí elektrolyt
h_T	velikost odezvy detektoru pro koncový elektrolyt
$(\mu_i)_{ef}$	efektivní pohyblivost látky i

Zajíček chemik



Arky
9.3.2015

N	A	F	T	A		E	N		N	E	N
A	B		N	E	F	O	T	E	C		P
F	E	N	A	N	T		C	E	N	C	E
T	N		T	P	E	R	Y	L	E	N	N
	Z	E	N	E	Z	N	E		L		E
U	O	O	D		B		O	V	Y	E	C
F		H	F	A	S	T	Y	R		L	A
N	E	C	I	L	E	H		L	O	N	T
A	Z	U	L	E	N	B	I	Y	I	K	
M	T	L		N	U		N	L		I	B
	D	P	Y	R	I	D	I	N	B	E	Y
M	N		D	O	L	N	I		R	Y	P

	N		I	D	I	M	I		R	U	P
	E	F	U	L	L	E	R	E	N	E	E
E	R	X		A	O		L	O		K	N
N	Y	A	L	F	Z	R	E	D	R	K	
E	P	N	N	D	A	B		A	X	E	H
L		T	E	N	D	K	L	R		E	N
A	S	H	S		I		O	N	E	R	X
	P	E	Y	V	M	D	N		B		C
R	P		R	O	I	N	I	F	R	O	P
A	N	T	H	R	A		H	R	E	N	E
N	O		C	T	E	T	C	H	K		A
T	H	I	O	F		C	E		A	T	O*