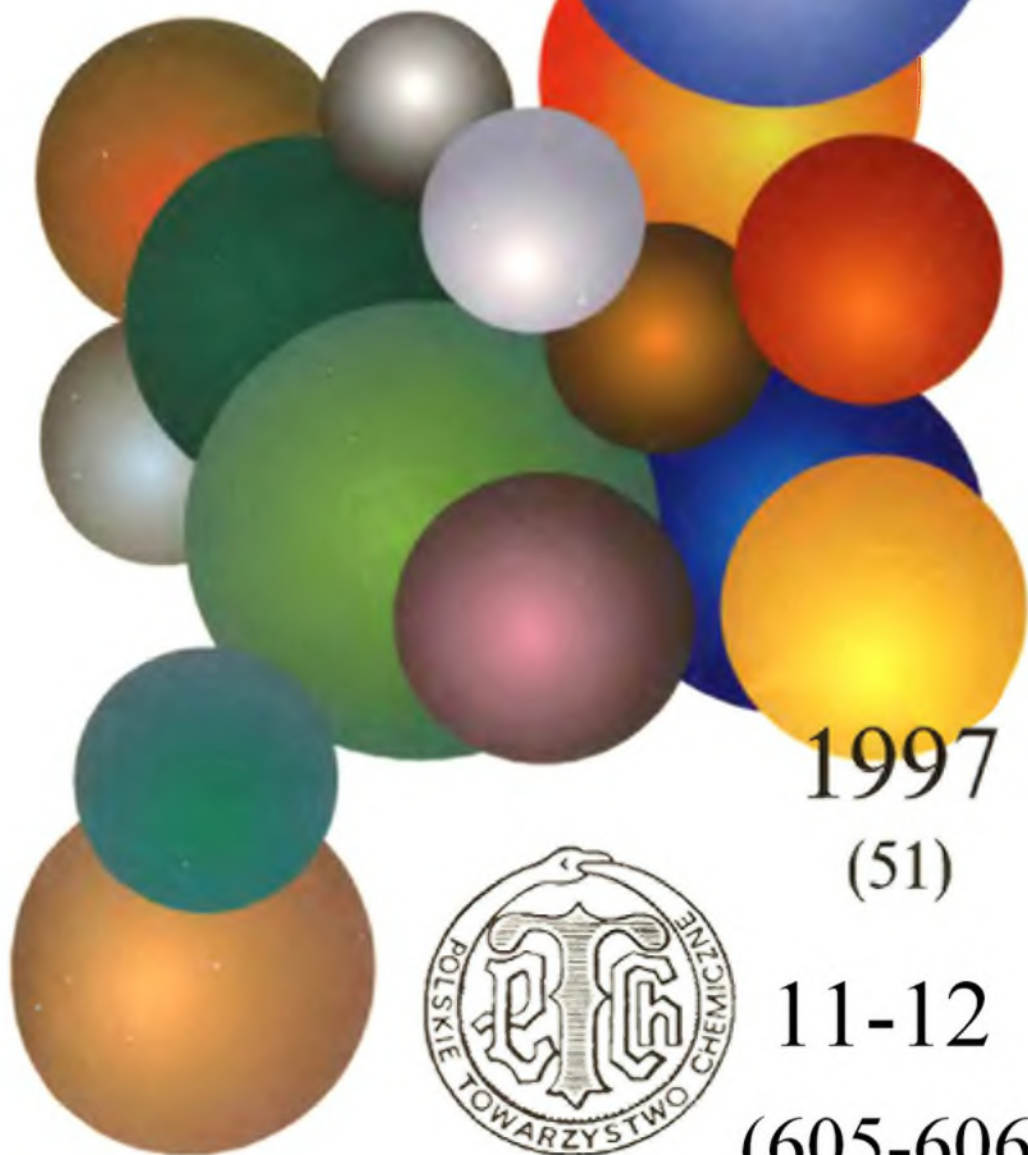


WIADOMOŚCI *chemiczne*



1997

(51)

11-12

(605-606)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez KBN

RADA REDAKCYJNA

JERZY BŁAŻEJOWSKI, RYSZARD BODALSKI, HENRYK BUCHOWSKI,
HENRYK GÓRECKI, ZDZISŁAW HIPPE, ZBIGNIEW HUBICKI, JERZY KONARSKI,
JANUSZ LIPKOWSKI, MARIA NOWAKOWSKA, STANISŁAW PENCZEK,
ZOFIA STASICKA, MIROŚLAW SZAFRAN

Z REDAKCJĄ STAŁE WSPÓLPRACUJĄ

HENRYK GALINA (Rzeszów), MAREK K. KALINOWSKI (Warszawa),
BENIAMIN LENARCIK (Bydgoszcz), ZOFIA LIBUŚ (Gdańsk), JAN MAŁYSZKO (Kielce),
BOGDAN MARCINIEC (Poznań), ZOFIA MICHALSKA (Łódź),
ROMAN MIERZECKI (Warszawa), WŁADYSŁAW RUDZIŃSKI (Lublin),
ZOFIA STASICKA (Kraków), JAN SZYMANOWSKI (Poznań), JÓZEF ŚLIWIOK (Katowice)

KOMITET REDAKCYJNY

BOGDAN BURCZYK, JERZY P. HAWRANEK, ANDRZEJ JASIŃSKI, ADAM JEZERSKI,
ADOLF KISZA, ZDZISŁAW LATAJKA, PRZEMYSŁAW MASTALERZ,
IGNACY Z. SIEMION, MIROŚLAW SOROKA, MARIA SUSZYŃSKA

REDAKTOR NACZELNY

JÓZEF J. ZIÓLKOWSKI

SEKRETARZ REDAKCJI

KRYSTYNA MARKSOWA

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
tel. 20 43 89, tel./fax 22 14 06

© Copyright by Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego Sp. z o.o., Wrocław 1997

REDAKTOR WYDAWNICTWA

AGNIESZKA FLASIŃSKA

REDAKTOR TECHNICZNY

BOŻENA SOBOTA

ISSN 0043-5104 ISBN 83-229-1672-8

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy we wrześniu 1997

Skład, druk i oprawa: WROCŁAWSKA DRUKARNIA NAUKOWA

BIOGEOCHEMIA ŻELAZA I MANGANU
BIOGEOCHEMISTRY OF IRON
AND MANGANESE

Zygmunt Sadowski

*Institut Inżynierii Chemicznej i Urządzeń Ciepłych Politechniki Wrocławskiej,
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław*

Abstract

Wstęp

Biogeochemiczny cykl pierwiastków

Geochemia manganu i żelaza

Mechanizmy bioutleniania i bioredukcji manganu

Mechanizmy bioutleniania i bioredukcji żelaza

Powstawanie konkrecji manganowo-żelazowych w akwenach

Konkrecje jako surowiec dla metalurgii

Podsumowanie

Piśmiennictwo

ABSTRACT

The concept of biogeochemical cycles is fundamental to proper understanding of the status of chemical elements in the nature. A biogeochemical cycle results from the integration of several biological, chemical and physical processes. All microorganisms carry out many unique reactions of geochemical significance [1].

Biogeochemistry is a multidisciplinary science. The relationships between the different sciences, which are represented by circles, can be illustrated by a diagram on Fig. 1.

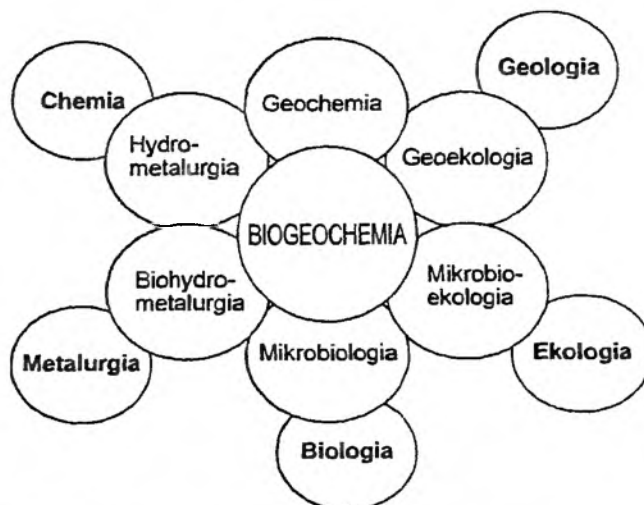
Manganese is the second most abundant transition metal after iron in the earth's crust. The cycling and movement of iron and manganese in natural systems depend on their redox chemistries. Eh-pH stability diagrams for manganese and iron at 25°C and activity of 10^{-5} M have been derived from thermodynamic data (Fig. 2).

Microorganisms have been implicated in transformations of both manganese and iron in soils and aquatic environments. Tab. 1 includes a list of both iron and manganese-oxidizing and -reducing microorganisms. Several different mechanisms have been proposed for the transformation of both manganese and iron from one valence state to another by microorganisms. The process of enzymatically catalyzed iron biooxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria is illustrated by a scheme at Fig. 3. The mechanism of microbial formation of oxidized manganese minerals in aquatic environments has been described. Environmental conditions of pH, Ep, Mn(II) and Fe(III) concentrations and temperature have a strong influence on the form of manganese minerals [7]. Manganese minerals (todorokite, birnessite) observed in marine sediments and nodules are of microbial origin.

Marine ferromanganese nodules contain significant concentration of cobalt, some of rare earth elements, and other trace elements (Tab. 2). Bacteriological investigations of ferromanganese nodules indicate that the microbial populations are complicated [14]. Ocean-floor manganese nodules have recently attracted considerable interest as a source of such important metals as nickel, copper, cobalt, manganese and many more. A number of processes that follow pyrometallurgical and hydrometallurgical routes have been reported [14-17]. However, the hydrometallurgical processing routes are considered to be more economical. The results of leaching experiments with the use of dilute hydrochloric acid, ammonia and ammonium sulphate solutions are discussed.

WSTĘP

Takie pierwiastki chemiczne, jak węgiel, wodór, tlen, azot, krzem, glin, żelazo, mangan, wapń, magnez, siarka i fosfor stanowią główne składniki związków chemicznych tworzących skorupę ziemską, oceany i atmosferę. Te same pierwiastki tworzą związki chemiczne będące elementami żywych organizmów. Ta oczywista prawda pozwala przybliżyć pojęcie **biogeochemii** jako dziedziny wiedzy, która swoimi korzeniami sięga do chemii, geologii i biologii. Biogeochemia ma ścisły związek z ekologią i metalurgią, a zwłaszcza biohydrometalurgią. Rys. 1 przedstawia diagram obrazujący powiązania biogeochemii z innymi pokrewnymi dyscyplinami nauki.



Rys. 1. Powiązania biogeochemii z pokrewnymi dyscyplinami nauki

Jednym z ważniejszych celów biogeochemii jest wyjaśnienie roli, jaką odgrywają mikroorganizmy w tworzeniu i wietrzeniu skał oraz w powstawaniu i degradacji gleb. Połączenie fizjologicznej działalności żywych organizmów z procesami chemicznymi, fizycznymi i geologicznymi, zachodzącymi w przyrodzie, powoduje stałą redystrybucję pierwiastków chemicznych w biosferze. Proces migracji pierwiastków chemicznych w biosferze określa cykl biogeochemiczny danego pierwiastka [1, 2].

Celem pracy jest pokazanie, na przykładzie wybranych związków manganu i żelaza, drogi, jaką te pierwiastki odbywają w swoich biogeochemicznych cyklach. Jednocześnie zostanie omówiony sposób, w jaki powstają koncentracje manganowo-żelazowe na dnie zbiorników wodnych i możliwości ich metalurgicznego wykorzystania.

BIOGEOCHEMICZNY CYKL PIERWIASTKÓW

W 1971 r. Odum [3] wprowadził do literatury naukowej pojęcie **biogeochemiczny cykl pierwiastków chemicznych** (ang. *biogeochemical cycle of elements*). Zgodnie z koncepcją Oduma, większość pierwiastków chemicznych podlega stałej cyrkulacji w biosferze. Wyróżniał też dwa główne cykle biogeochemiczne: cykl gazowy i cykl osadowy.

W cyklu gazowym głównym ośrodkiem, w którym realizowany jest ruch pierwiastków chemicznych, jest atmosfera ziemska, ale także pozostająca z nią w ścisłym kontakcie biosfera. Miejszem, w którym zachodzi cykl osadowy, jest powierzchniowa warstwa skorupy ziemskiej zwana litosferą. Siłą sprawczą cyrkulacji pierwiastków chemicznych jest energia, głównie energia słoneczna. Biogeochemiczny cykl pierwiastków jest wynikiem zachodzenia kolejnych biologicznych, chemicznych i fizycznych procesów, które łączą w jedną całość hydrosferę z litosferą i atmosferą.

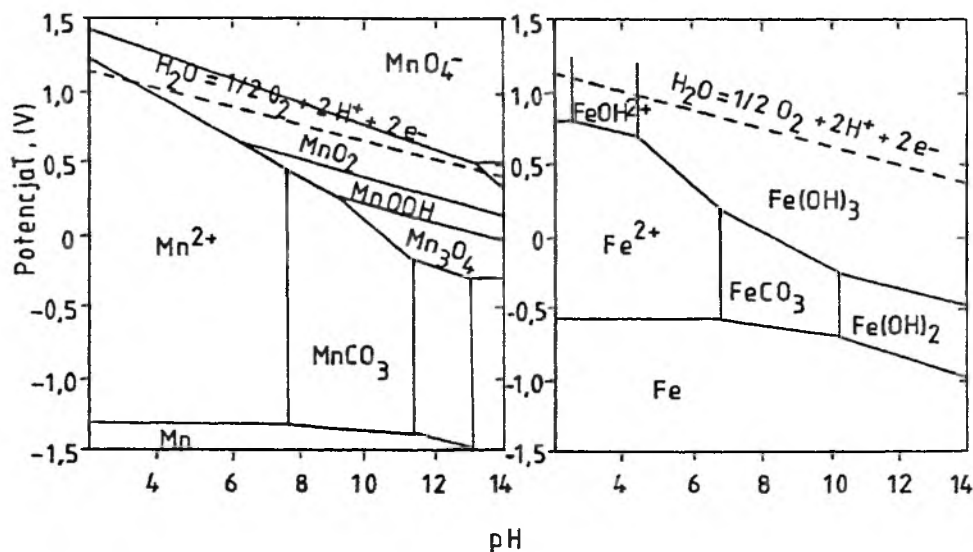
Każdy biochemiczny cykl danego pierwiastka chemicznego ma jak gdyby dwa przeciwległe bieguny. Jeden biegun stanowią formy zredukowane danego pierwiastka chemicznego, a drugi biegun zawiera formy utlenione tego pierwiastka. Dla przykładu, najważniejszy cykl w przyrodzie, cykl węgla, ma na jednym biegunie takie formy utlenione, jak CO_2 , który znajduje się w atmosferze i w hydrosferze, oraz jony CO_3^{2-} i HCO_3^- , znajdujące się w hydrosferze i litosferze. Drugi skrajny biegun cyklu węglowego tworzy rodzina związków organicznych węgla występujących w biomacie. Wspomniane wcześniej procesy biologiczne, chemiczne i fizyczne realizowane są za pośrednictwem żywych mikroorganizmów i wspomagane takimi procesami fizykochemicznymi, jak: powstawanie osadów, erozja skał, migracja cząstek koloidalnych [4].

GEOCHEMIA MANGANU I ŻELAZA

Żelazo i mangan należą do grupy pierwiastków syderoficznych. Do tej samej grupy zaliczane są takie pierwiastki, jak ołów, cynk, miedź, kobalt i nikiel. Wszystkie występują na kilku różnych stopniach utlenienia, dlatego procesy utleniania i redukcji odgrywają najważniejszą rolę w biogeochemicznych cyklach tych pierwiastków.

Obszary istnienia stabilnych form żelaza i manganu wynikające z warunków przebiegu procesów oksydacyjno-redukcyjnych najlepiej rozpatrywać na podstawie diagramów Eh-pH.

Jak widać z przedstawionych diagramów Eh-pH, żelazo utlenia się przy niższym potencjale redoks niż mangan w szerokim zakresie pH (5–10). Oznacza to w praktyce, że jony Mn^{2+} pozostają bardziej stabilne niż jony Fe^{2+} w tych samych warunkach fizykochemicznych (pH, temperatura, Eh). Energia uzyskiwana przy utlenianiu związków żelaza(II) jest wyższa od energii utleniania



Rys. 2. Diagramy Eh-pH dla żelaza i manganu

manganu(II), co sprawia, że w procesie utleniania biologicznego związków żelaza(II) uczestniczą zarówno mikroorganizmy heterotroficzne, jak i autotroficzne. W procesie biologicznego utleniania związków manganu(II) mogą uczestniczyć jedynie mikroorganizmy heterotroficzne, które braki energetyczne uzupełniają pożywką organiczną. Łatwość, z jaką procesy bioutleniania i bioredukcji związków żelaza(II) i manganu(II) mogą zachodzić w biosferze, powodu-

Tabela 1. Mikroorganizmy uczestniczące w procesach bioutleniania i bioredukcji żelaza i manganu

Procesy bioutleniania	
Żelazo	Mangan
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	<i>Hyphomicrobium manganoxidans</i>
<i>Ferrobacillus sulfooxidans</i>	<i>Pseudomonas manganoxidans</i>
<i>Acetobacter xylinum</i>	<i>Arthrobacter siderocapsulatus</i>
<i>Thiobacillus acidophilus</i>	<i>Leptothrix discophora</i>
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	<i>Metallogenium</i>
<i>Acidiphilium cryptum</i>	<i>Arthrobacter citreus</i>
<i>Acidiphilium organovorum</i>	<i>Arthrobacter globiformis</i>
<i>Acidiphilium angustum</i>	<i>Arthrobacter simplex</i>
<i>Acidiphilium facilis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Acidiphilium rubrum</i>	<i>Pedomicrobium</i>
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	<i>Pseudomonas E₁</i>
<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	<i>Oceanospirillum</i>

cd. tabeli 1

Procesy bioredukcji	
Żelazo	Mangan
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Bacillus</i> 29
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Coccus</i> 32
<i>Bacillus megatherium</i>	<i>Bacillus circulans</i>
<i>Bacillus centrosporus</i>	<i>Bacillus polymyxa</i>
<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus mycoides</i>
<i>Escherichia freundii</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Bacillus centrosporus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus filaris</i>
<i>Pseudomonas liquefaciens</i>	<i>Arthrobacter</i>
<i>Vibrio</i>	<i>Alteromonas putrefaciens</i>
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	<i>Pseudomonas liquefaciens</i>
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	<i>Acinetobacter certicus</i>

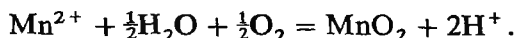
je, że jest to sposób, w jaki przyroda tworzy lub przekształca wiele minerałów [4].

W tab. 1 zostały zebrane ważniejsze mikroorganizmy uczestniczące w procesach bioutleniania i bioredukcji żelaza i manganu.

MECHANIZMY BIOUTLENIANIA I BIOREDUKCJI MANGANU

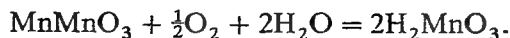
Jak widać z diagramów Eh-pH, w normalnych warunkach w zakresie pH 6–9, mangan występuje w roztworach wodnych jako Mn^{2+} i $MnOH^+$. Mechanizmy mikrobiologicznego utleniania manganu(II) można podzielić na dwie grupy: utlenianie enzymatyczne i utlenianie bez udziału enzymów.

Obserwacja mikroorganizmów, które działają zgodnie z enzymatycznym procesem utleniania, pozwala na zaszeregowanie tych mikroorganizmów do trzech różnych grup. Do grupy pierwszej należy zaliczyć bakterie, które utleniają jony manganu (Mn^{2+}) znajdujące się w roztworze. Bakterie te używają tlenu jako akceptora elektronów oraz czerpią energię bezpośrednio z reakcji utleniania. Proces utleniania jonów Mn^{2+} odbywa się wewnątrz błony cytoplazmatycznej i jest sprzężony z syntezą ATP (adenozynotrifosforanu). Proces bioutleniania manganu(II) obrazuje następująca reakcja chemiczna

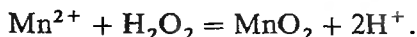


Drugą grupą mikroorganizmów zdolnych do utleniania manganu są te drobnoustroje, które utleniają mangan(II) połączony z manganem(IV). Takie połączenie występuje w tlenku żelazowo-manganowym, a także w minerałach glinokrzemianowych, takich jak montmorylonit i kaolin [5]. Przebieg reakcji

bioutleniania można przedstawić w formie następującej reakcji chemicznej:

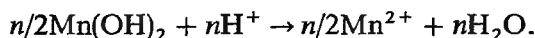
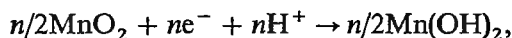
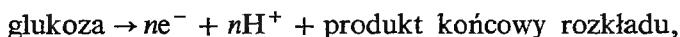


Bakterie, które utleniają jony Mn^{2+} za pomocą generowanego metabolicznie nadtlenku wodoru, zaliczane są do trzeciej grupy mikroorganizmów bio-utleniających mangan(II). Nadtlenek wodoru produkowany jest przy udziale enzymu zwanego katalazą. Proces enzymatycznego utleniania realizowany z udziałem katalazy można zobrazować następującym równaniem reakcji:

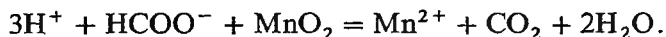


Utlenianie manganu(II) bez udziału enzymów możliwe jest przy spełnieniu określonych warunków przez środowisko, w którym proces utleniania ma przebiegać. Warunki te to: pH roztworu większe od 8, Eh przewyższać musi wartość 500 mV, a stężenie jonów manganu musi być wyższe od 0,01 ppm. Rolą mikroorganizmów w tym wypadku jest wytworzenie odpowiednich warunków fizykochemicznych, a także produkcja metabolitów, które spowodują chemiczne utlenienie manganu(II). Dla przykładu, *Streptomyces pilosus* produkuje rozpuszczalne w wodzie estry celulozy, które są odpowiedzialne za utlenienie manganu(II) [5].

Podobnie jak proces bioutleniania, również proces bioredukcji manganu(IV) może być prowadzony z udziałem lub bez udziału enzymów. Przykładowo, bakterie *Bacillus 29* są zdolne redukować MnO_2 przy użyciu glukozy jako donoru elektronów [6]. Warunkiem realizacji procesu redukcji MnO_2 jest uzyskanie pH środowiska równego 2, co jest osiągalne przez rozkład glukozy do kwasów organicznych. Przebieg procesu bioredukcji MnO_2 można przedstawić następującymi równaniami reakcji:



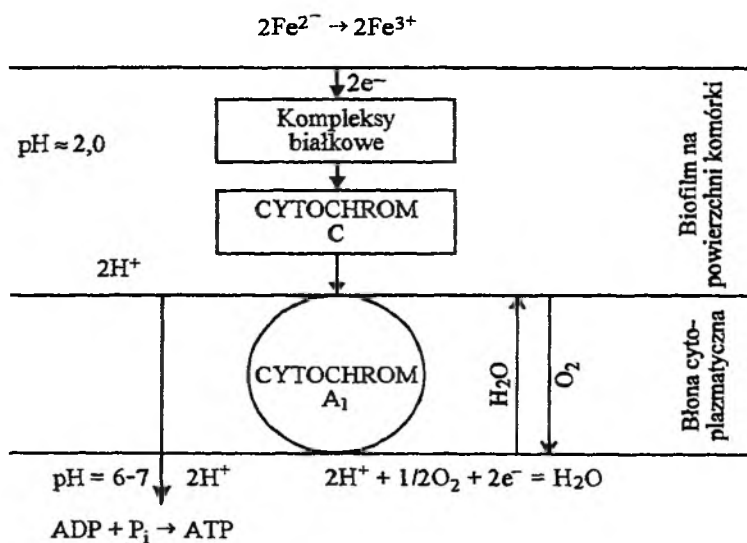
Mechanizm bioredukcji MnO_2 bez udziału enzymów zakłada, że produkowane przez mikroorganizmy metabolity będą pełnić rolę reduktora. Bakterie *Escherichia coli* np. produkują kwas mrówkowy, który jest w stanie zredukować MnO_2 zgodnie z następującą reakcją:



Podobny proces pośredniej redukcji manganu(IV) można zrealizować za pomocą mikrogrzyba *Aspergillus niger*. Zjawisko to znalazło praktyczne zastosowanie w procesie bioługowania ubogich rud manganowych [7]. Testy kolumnowe pokazały, że 99% manganu zostaje wylugowane za pomocą grzyba *Aspergillus niger* w ciągu 51 tygodni z rudy zawierającej 3,6% Mn.

MECHANIZMY BIOUTLENIANIA I BIOREDUKCJI ŻELAZA

Mikroorganizmy zdolne do utleniania żelaza(II) można podzielić na cztery grupy. W skład pierwszej grupy wchodzi autotroficzne bakterie utleniające żelazo(II) w środowisku kwaśnym ($\text{pH} = 2,0$). Typowym przedstawicielem tej grupy mikroorganizmów jest *Thiobacillus ferrooxidans*. Mechanizm enzymatycznego utleniania żelaza(II) za pomocą bakterii *T. ferrooxidans* został schematycznie przedstawiony na rys. 3.



Rys. 3. Schemat procesu bioutleniania żelaza(II)

Zgodnie z tym schematem proces utleniania żelaza(II) przebiega na ścianie komórki mikroorganizmu. Elektrony uzyskane z procesu utleniania żelaza(II) do żelaza(III) przenoszone są do wnętrza błony cytoplazmatycznej. W transporcie elektronów uczestniczy cytochrom *c*, następnie kompleks białkowy, a na końcu oksydaza cytochromowa. Zredukowana forma oksydazy cytochromowej reaguje z tlenem, dając w rezultacie cząsteczkę wody [8]. Przeniesieniu elektronu do wewnętrznej części błony cytoplazmatycznej towarzyszy transport protonu do zewnętrznej części błony. W proces przeniesienia protonów zaangażowane są fosforany nukleozydów. Jedna para protonów umożliwia syntezę jednej cząsteczki adenosynotryfosforanu (ATP) z równoczesnym wydzielaniem cząsteczki wody (rys. 3).

Do drugiej grupy mikroorganizmów utleniających żelazo(II) zalicza się te drobnoustroje, które są zdolne prowadzić proces utleniania w środowisku neutralnym, tworząc skupiska wodorotlenku żelaza(III) i manganu(IV) (ochra). Mikroorganizmy tej grupy nazywane są często żelazobakteriami (ang. *iron bacteria*), a należą do niej: *Gallionella*, *Metallogenium*, *Leptothrix* i *Siderocapsa*.

Organokompleksy żelaza(II) i manganu(II) są utleniane w środowisku obojętnym lub słabo zasadowym przez mikroorganizmy zaliczane do trzeciej grupy. Przykładem może być *Pedomicrobium ferrugineum*, które uwalnia jony żelaza i manganu z kompleksów, a następnie utlenia. Działanie tego typu bakterii prowadzi do powstania konkrecji manganowo-żelazowych na dnie zbiorników wodnych [9].

Czwartą grupę mikroorganizmów tworzą te drobnoustroje, które są w stanie zniszczyć metaloorganiczne kompleksy żelaza, ale nie mogą zmienić stopnia utlenienia żelaza(II). Spełniają one funkcję pomocniczą w procesie bioutleniania żelaza(II).

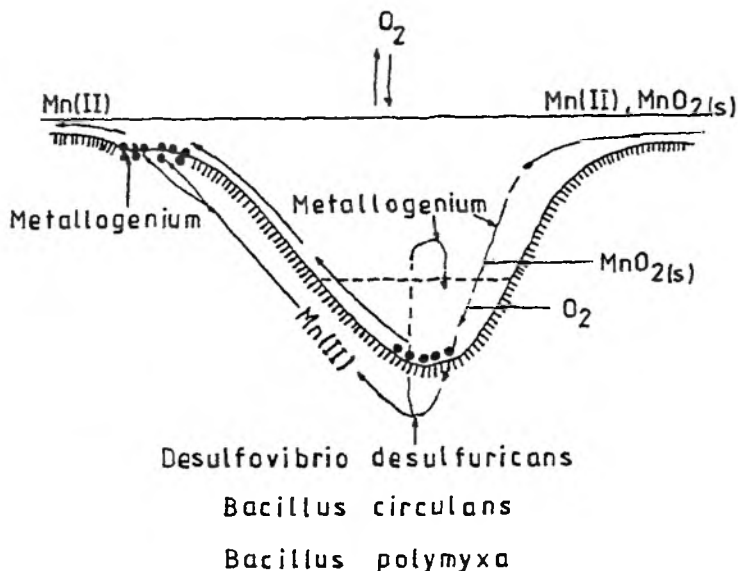
Proces bioredukcji związków żelaza(II) może być prowadzony zarówno przez mikroorganizmy autotroficzne, jak i heterotroficzne. W środowisku beztlenowym lub przy dostępie tlenu drobnoustroje redukują żelazo(III) do żelaza(II). Mikroorganizmy, które uczestniczą w procesie redukcji to: *Bacillus circulans*, *Bacillus megatherium* i *Aerobacter aerogenes*. Istotnym elementem procesów bioredukcji żelaza(III) jest obecność chelatotwórczych mikroorganizmów, które produkując metabolity zdolne są do tworzenia chelatów z udziałem zredukowanego żelaza(II).

Powstanie siarczków żelaza FeS i FeS₂ związane jest także z redukującym działaniem mikroorganizmów *Desulfovibrio*. Bakterie *Desulfovibrio* redukując siarczany produkują siarkowodór, który reagując ze związkami żelaza doprowadza do powstania siarczków [10].

POWSTAWANIE KONKRECJI MANGANOWO-ŻELAZOWYCH W AKWENACH

Procesy oksydacyjno-redukcyjne z udziałem żelaza i manganu zachodzą w glebie i w zbiornikach wodnych. Powodują one stałą cyrkulację tych pierwiastków w zależności od warunków fizykochemicznych istniejących w danej części akwenu czy w warstwie gleby.

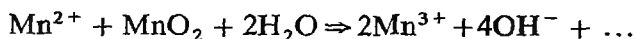
W zbiornikach słodkowodnych, gdzie woda jest stojąca lub o małym przepływie, np. jeziora, zbiorniki retencyjne, w okresie letnim następuje *rozwarstwienie termiczne*, określane mianem *stratyfikacji* [11]. Kształtują się na ogół dwie warstwy. Warstwa górna nosi nazwę *epilimnion*, warstwa denna zaś to *hypolimnion*. Warstwy te rozdziela cienka strefa przejściowa zwana *termokliną*. Wody warstwy górnej nie mieszają się z wodami warstwy dolnej. Brak wymieszania sprawia, że wody dwóch warstw różnią się gęstością, temperaturą i zawartością tlenu. Różna zawartość tlenu, a także jonów i związków organicznych sprawia, że mikroorganizmy żyjące w strefie powierzchniowej różnią się od drobnoustrojów żyjących w strefie dennej. Wody strefy powierzchniowej mają pH około 8,5, a obfitość rozpuszczonego tlenu sprzyja procesom utleniania. Warstwa denna praktycznie pozbawiona jest tlenu. Procesy gnilne substancji organicznej stwarzają dogodne warunki do redukcji związków manganu(IV).



Rys. 4. Cyrkulacja manganu w wodach jeziora

Z przedstawionej na rys. 4 cyrkulacji manganu w zbiorniku wodnym wiadać, że mangan w strefie powierzchniowej występuje głównie w formie jonowej jako Mn^{2+} . Oprócz manganu(II) można także spotkać cząsteczki tlenku manganu MnO_2 . Do strefy dennej sedymentują cząstki wytrąconego tlenku manganu(IV), które ulegają redukcyjnemu rozkładowi na dnie akwenu. Proces ten bez udziału mikroorganizmów, jonów żelaza(II) i siarczków zachodzi bardzo wolno. Jednakże wszystkie te elementy, które działają katalizująco na proces redukcji, znajdują się w osadzie dennym akwenu.

Mikroorganizmy, które uczestniczą w utlenianiu jonów Mn^{2+} w strefie powierzchniowej to *Metallogenium* i *Siderocapsa*. Podstawowym reduktorem w strefie dennej jest materia organiczna, która po sedymentacji na dno akwenu ulega procesowi rozkładu (fermentacja beztlenowa). Elektrony potrzebne do redukcji generowane są w procesie beztlenowego utlenienia octanu do CO_2 i H_2O . Redukują one mangan(III) do manganu(II), który w formie jonowej migruje do warstwy powierzchniowej akwenu. Redukcja manganu(IV) zachodzi w zewnętrznej części błony cytoplazmatycznej komórek drobnoustrojów, gdzie dochodzi do następującej reakcji dysproporcjonowania:



Dystrybucja manganu w morzach i oceanach nie jest równomierna. Szacuje się [2], że w osadach dennych znajduje się $1,4 \cdot 10^{15}$ ton manganu, w koncentracjach Mn-Fe $3,1 \cdot 10^{11}$ ton, w roztworze w formie jonów Mn^{2+} $1,8 \cdot 10^9$ ton.

Konkrecje Mn-Fe, ze względu na stosunkowo łatwy sposób ich pozyskania, mogą stanowić bogate źródło tego pierwiastka. Mangan w konkrecjach występuje głównie na czwartym stopniu utlenienia w formie dwóch minerałów tlenkowych — birnezytu i todorokitu [12]. Birnezyt jest formą przeważającą w składzie konkrecji wydobywanych z dna płytkich akwenów, todorokit dominuje w tzw. konkrecjach głębinowych. Konkrecje są bogatym skupiskiem drobnoustrojów i to zarówno bakterii utleniających (13–18%), jak i redukujących (około 50%). Oprócz dwóch głównych składników (Mn, Fe), konkrecje zawierają wiele innych cennych pierwiastków. Typowy skład konkrecji wydobytych z dna Pacyfiku przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2. Skład konkrecji manganowo-żelazowych z obszaru Pacyfiku [2]

Pierwiastek	Zawartość [%]	Pierwiastek	Zawartość [%]
Mangan	24,2	Krzem	9,4
Żelazo	14,0	Glin	2,9
Kobalt	0,35	Wapń	1,9
Miedź	0,52	Potas	0,18
Nikiel	0,99	Tytan	0,67
Magnez	2,9	Bar	0,18
Sód	2,6	Ołów	0,09

Mechanizm powstawania konkrecji Mn-Fe zakłada duże nagromadzenie się jonów Fe^{3+} i Mn^{2+} w wodach warstwy powierzchniowej akwenu. Obecność tych jonów jest wynikiem procesów geofizycznych zachodzących w danym zbiorniku. Są to: erupcje podwodnych wulkanów, erozja skał na dnie oceanu, działalność hydrotermalna i migracja jonów żelaza(II) i manganu(II) z osadów dennych do strefy powierzchniowej.

Utlenianie jonów manganu i żelaza w strefie wód powierzchniowych to wstępny etap powstawania konkrecji. Drobnoustroje uczestniczące w procesie powstawania konkrecji mogą wpływać bezpośrednio lub pośrednio na proces utleniania. Sposób, w jaki mikroorganizmy uczestniczą w procesie utleniania żelaza(II) i manganu(II) opisano w poprzednich rozdziałach.

Heterotroficzne bakterie powodują wytrącenie wodorotlenku żelaza(III) w warunkach pH 7,0–7,5. Wytrącony wodorotlenek żelaza jest sorbentem jonów Mn^{2+} , które ulegają utlenieniu do MnO_2 . W takich warunkach powierzchnia tlenku manganu jest ujemnie naładowana, co sprzyja adsorpcji kationów innych metali znajdujących się w wodzie.

Plankton, który także akumuluje jony metali ciężkich, jest nośnikiem tych metali na dno akwenu. Śmierć planktonu powoduje rozkład substancji organicznej i uwolnienie tych metali w strefie dennej. Proces ten wspomaga powstawanie konkrecji manganowo-żelazowych [13].

KONKRECJE JAKO SUROWIEC DLA METALURGII

Konkrecje manganowo-żelazowe od przeszło dwudziestu lat są przedmiotem zainteresowania hydrometalurgii [14, 15]. Dzieje się tak dlatego, że konkrecje są bogate w takie pierwiastki, jak miedź, nikiel i kobalt. Pierwotnie dla celów przerobczych używane były konkrecje o dużej zawartości tych metali, np. Cu 2,3%, Ni 1,9%, Co 0,2% przy zawartości manganu do 36% i żelaza 8,5% [14]. Obecnie te wymagania uległy znacznemu obniżeniu. Konkrecje użyte do ługowania amoniakalnego zawierały: 0,97% Cu, 0,91% Ni, 0,11% Co, 5,8% Fe i 26,8% Mn [16]. Podobnie jak dwa główne składniki konkrecji, miedź, nikiel i kobalt występują w konkrecjach w formie tlenków Ni_3O_4 , CuO, Co_2O_3 . Badania za pomocą mikroskopu elektronowego [14] wykazały, że nikiel i miedź są związane z tlenkiem manganu, pozostałe pierwiastki (Co, Ti, i Zn) są powiązane z tlenkami żelaza $FeO(OH)$ i Fe_2O_3 .

Prace nad metalurgicznym przerobem konkrecji manganowo-żelazowych rozwinęły się w dwóch zasadniczych kierunkach. Jednym z tych kierunków jest koncepcja hydrometalurgicznego odzysku metali [16, 17]. Zakłada on zastosowanie niskotemperaturowych procesów roztwarzania konkrecji w kwasach [17], w roztworze amoniaku z siarczanem amonu [16] lub w roztworach reduktorów Fe^{2+} lub SO_2 . Drugi kierunek przerobu konkrecji opierał się na metodach pirometalurgicznych, redukcji węglem, chlorowania i segregacji [14].

Działanie stężonym kwasem siarkowym pozwoliło na wylugowanie w około 80% miedzi i niklu bez roztwarzania manganu. Ponad połowa kobaltu jednak pozostawała w konkrecjach. Inną niedogodnością procesu jest duże zużycie odczynnika ługującego (ok. 0,3 tony kwasu na tonę konkrecji). Zastosowanie stężonego kwasu solnego (11 M) do ługowania konkrecji wymaga dodania chlorków (NaCl lub $MgCl_2$) lub siarczanu sodu. Taki roztwór ługujący zapewnia 96% odzysk miedzi, 95% odzysk niklu i 92% odzysk kobaltu [17].

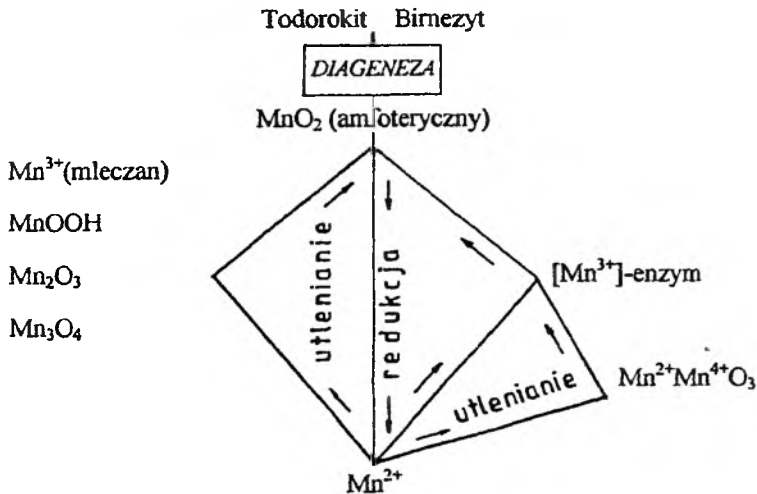
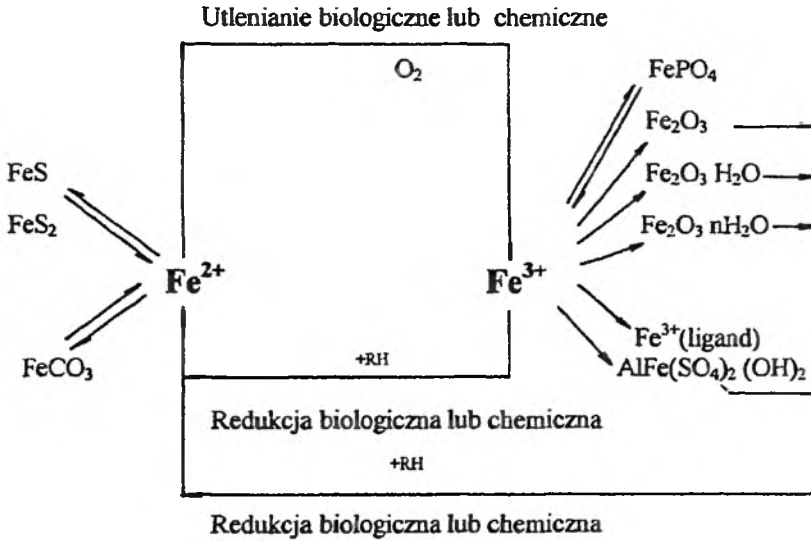
Ługowanie mieszaniną amoniaku z siarczanem amonu wymagało wcześniejszego ogrzania konkrecji do temperatury 80–120°C przez 30–60 minut [16]. Dodanie siarki w ilości 0,15 g na gram konkrecji pozwoliło uzyskać dobre warunki ługowania. Odzysk niklu był 95%, miedzi 80% i kobaltu 70%. Wysoki koszt ogrzewania konkrecji do temperatury 120°C czyni tę metodę dość kosztowną.

Metody pirometalurgiczne pozwalają na odzysk wszystkich metali znajdujących się w konkrecjach, lecz przy niskiej selektywności. Otrzymywane po procesie pirometalurgicznym stopy metali towarzyszących z żelazem wymagają dalszej kosztownej przeróbki hydrometalurgicznej.

PODSUMOWANIE

Mikrobiologiczna transformacja żelaza i manganu stanowi najważniejszy element w biogeochemicznym cyklu tych pierwiastków chemicznych w przyrodzie. Oba cykle w formie uproszczonej przedstawiono na rys. 5.

Żelazo(II) i mangan(II) mogą być bioutleniane z udziałem lub bez udziału enzymów. Tworzenie minerałów, takich jak ochra, todorokit lub birnezyt, towarzyszy biogeochemicznym przemianom żelaza i manganu. Mangan(IV)



Rys. 5. Cykl biogeochemiczny żelaza i manganu

i żelazo(III) są enzymatycznie redukowane do żelaza(II) i manganu(II). Powstające w ten sposób jony żelaza(II) są stabilizowane przez tworzenie związków kompleksowych. Ligandami w tych związkach są szczawiany i cytryniany będące produktami przemian metabolicznych wielu mikroorganizmów.

Obfite zasoby koncentracji manganowo-żelazowych znajdujące się na dnie oceanów mogą dostarczać cennego surowca metalurgicznego. Znaczna ilość cennych pierwiastków towarzyszących, znajdujących się w koncentracjach, powoduje dodatkową atrakcyjność tego surowca. W fazie badań laboratoryjnych są metody piro- i hydrometalurgicznego przerobu tego surowca.

Praca została sfinansowana w całości przez grant KBN 3 P4 0300506.

PIŚMIENNICTWO

- [1] P. A. Trudinger, D. J. Swaine, *Biogeochemical cycling of mineral-forming elements*, Elsevier, Amsterdam 1979.
- [2] H. L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, Marcel Dekker, Inc., New York 1990.
- [3] E. P. Odum, *Fundamentals of ecology*, Saunders, Philadelphia 1971.
- [4] M. A. Głazowska, I. G. Dobrowolska, *Geochemiczne funkcje mikroorganizmów*, Wydawnictwo Uniwersytetu Moskiewskiego 1984.
- [5] W. Sung, J. J. Morgan, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**, 1981, 2377.
- [6] H. L. Ehrlich, *Manganese as an energy source for bacteria*, [w:] *Environmental biogeochemistry*, vol. 2, J. O. Nriagu (red.), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor 1976, s. 633.
- [7] E. G. Baglin, E. G. Noble, D. L. Lampshire, J. A. Eisele, *Hydrometallurgy*, **29**, 1992, 131.
- [8] J. Kączkowski, *Podstawy biochemii*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1995, s. 42.
- [9] J. W. Graham, S. C. Copper, *Nature*, **183**, 1959, 1050.
- [10] P. A. Trudinger, *Kinetics of the sulfur cycle*, [w:] *Biogeochemistry of metals*, G. I. Karavai, S. N. Groudev (red.), Moscow 1985, s. 99.
- [11] J. R. Dojlido, *Chemia wód powierzchniowych*, Wydawnictwo Ekonomia i Środowisko, Białystok 1995, s. 54.
- [12] B. Wehrli, G. Fried, A. Manceau, *Reaction rate and product of manganese oxidation at the sediment-water interface*, [w:] *Aquatic chemistry*, C. P. Huang, C. R. O'Melia, J. J. Morgan (red.), American Chemical Society, Washington D.C. 1995, 11.
- [13] L. Balistreri, J. W. Murray, B. Paul, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 1994, 3993.
- [14] W. Fuerstenau, K. N. Han, *Extractive metallurgy of manganese nodules*, [w:] *Marine manganese deposits*, G. P. Glasdy (red.), Elsevier, Amsterdam, 1977, 357.
- [15] K. N. Han, M. P. Hoover, D. W. Fuerstenau, *Marine Mining*, **2**, 1-2, 1979, 131.
- [16] P. S. Mohanty, M. K. Ghosh, S. Anand, R. P. Das, *Transactions IMM*, **103**, 1994, C151.
- [17] R. K. Jana, *Transactions IMM*, **102**, 1993, C191.

Praca wpłynęła do Redakcji 20 lutego 1997

**WŁAŚCIWOŚCI TLENU SINGLETOWEGO
JAKO SILNEGO ENOFILA**
**PROPERTIES OF SINGLET OXYGEN
AS A STRONG ENOPHILE**

**Wojciech J. Kinart¹, Cezary M. Kinart²,
Iwona M. Kozak-Michałowska³, Ewa Śnieć³**

¹ *Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytetu Łódzkiego,
ul. Narutowicza 68, 90-136 Łódź*

² *Katedra Dydaktyki Chemii, Uniwersytetu Łódzkiego,
ul. Pomorska 163, 90-236 Łódź*

³ *Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej Akademii Medycznej w Łodzi,
al. Kopcińskiego 22, 90-136 Łódź*

Abstract

Wstęp

Badania nad fotochemicznym utlenianiem olefin i własnościami wodoronadtlenków alilowych

Znaczenie tlenu singletowego w medycynie

Piśmiennictwo cytowane

ABSTRACT

Present state of understanding of the mechanism of the hydrogen-ene reaction when the enophile is singlet oxygen is discussed. Allyl hydroperoxides are important species both from the chemical and biological points of view. They are formed when an alkene reacts with singlet oxygen [2, 7, 8] and there is good evidence from stereochemical and hydrogen isotope studies that this reaction proceeds through an intermediate ene-enophile complex, which then undergoes internal hydrogen transfer [17-19]. The reaction usually gives a single allylic isomer. In 1958, Schenck [9] showed that $5\alpha\text{-}\Delta^6$ -hydroperoxide which is formed by the singlet oxygenation of cholesterol rearranged in a non-polar solvent to the $7\alpha\text{-}\Delta^5$ -hydroperoxide. Presumably rearrangements of this type are as ubiquitous as the hydroperoxides themselves but, despite the importance of these systems, these reactions are only poorly recognised and even less understood. Only some ten examples of the rearrangement have as yet been recognised, and half of these relate to congeners of cholesterol. In general, the products of singlet oxygenation appear to rearrange to the products of triplet oxygenation. The reaction is well established to involve the intermediate radicals, but the detailed mechanism is still a matter of speculation [11-15]. It has been found that singlet oxygen and allyl hydroperoxides formed in cells of our bodies have toxic properties and they are known to cause several diseases. However, vitamins C, E and A act as natural antioxidants. Some medical aspects of the mentioned above problems are discussed. Skin injuries as bruises, overcolourings and blisters are very often caused by reactions of singlet oxygen generated in our bodies by a solar radiation [1, 29]. Singlet oxygen may be also produced by stimulated phagocytes, mainly in catalysed reactions [31-33]. Peroxidation of lipids is assumed as a main source of toxic properties of singlet oxygen metabolites [1]. Recently, researchers focused their attention on toxic properties of the oxidized LDL fraction [34-36]. Oxidation of LDL is an important factor in the pathogenesis of atherosclerosis [37-41]. However, the reactivity of singlet oxygen may be applied in treatment of herpes, jaundice of infants and psoriasis [1].

WSTĘP

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono metabolizmowi tlenu. Wykazano, że cząsteczka tlenu może ulegać w organizmie pełnej redukcji do cząsteczki wody lub stopniowej redukcji poprzez jednoelektronowe etapy. Efektem tych procesów jest powstawanie reaktywnych form tlenu – RFT, w tym m.in. tlenu singletowego O_2 , anionorodnika nadtlenkowego O_2^- , nadtlenku wodoru H_2O_2 , tlenku azotu, dwutlenku azotu oraz innych produktów. Reaktywne formy tlenu reagują w sposób niespecyficzny ze składnikami komórek, modyfikując je i uszkadzając. Organizmy wytworzyły wiele mechanizmów obronnych przed działaniem RFT – są to zarówno niskocząsteczkowe antyoksydanty, jak i białka enzymatyczne. Nadmierny wzrost stężenia reaktywnych metabolitów tlenu może być przyczyną molekularnych zaburzeń prowadzących do rozwoju takich chorób, jak miażdżyca, cukrzyca, choroby nowotworowe oraz procesów wspomagających zmiany martwicze w mięśni sercowym i tkance mózgowej w czasie dokonywania się zawału. Reaktywne formy tlenu biorą udział także w procesach starzenia [1]. Prawdopodobnie dlatego mechanizm reakcji enowych tlenu singletowego wzbudza tak duże zainteresowanie. Jest wiele dowodów pochodzących z badań stereochemicznych, że reakcje te zachodzą poprzez pośredni kompleks enowo-enofilowy, który następnie podlega wewnątrzcząsteczkowemu transferowi wodoru [2]. Zakłada się, że analogiczny kompleks tworzy się z pochodnymi metaloallilowymi.

Wodoronadtlenki allilowe otrzymane w wyniku utleniania alkenów lub dienów przy użyciu tlenu singletowego mają duże znaczenie chemiczne, przemysłowe i biologiczne.

BADANIA NAD FOTOCHEMICZNYM UTLENIANIEM OLEFIN I WŁASNOŚCIAMI WODORONADTLENKÓW ALLILOWYCH

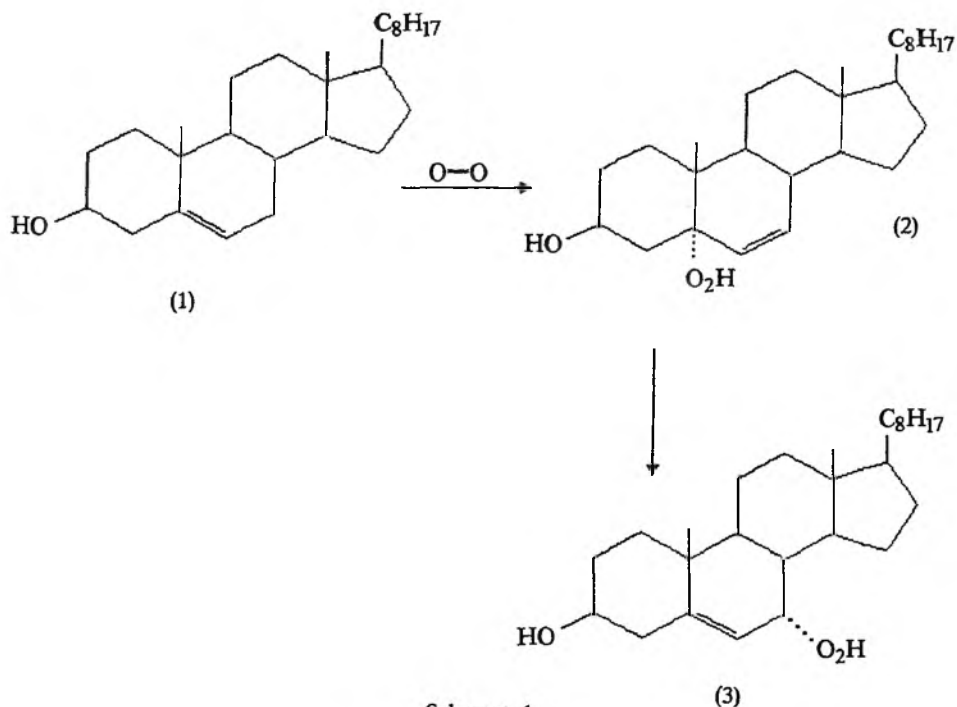
W naturalnych warunkach proces utleniania prowadzący do otrzymania wodoronadtlenków allilowych zachodzi przy udziale tlenu w stanie trypletowym. W warunkach laboratoryjnych sięga się często do metody fotochemicznej przy udziale tlenu w stanie singletowym. Utlenianie tego typu polega na naświetleniu roztworu nasyconego tlenem i zawierającego monoolefinę lub dien światłem absorbowanym przez sensybilizator znajdujący się w mieszaninie reakcyjnej. Historia badań dotyczących procesu wzbudzenia tlenu do stanu singletowego ma z górą sześćdziesiąt lat. Należy tu wspomnieć o pracach Kautskiego [3], Gollnicka [4] i Arnolda [5], a także nowszych Halliwell'a czy Siesa [6]. Tlen singletowy powstaje w wyniku wzbudzenia cząsteczek tlenu, czyli dostarczenia energii wystarczającej do przegrupowania elektronów, by zostały one sparowane i wypadkowy spin cząsteczki wynosił zero. Przegrupowanie takie może dokonać się na dwa sposoby, prowadząc do tlenu singletowego

delta $^1\Delta_gO_2$, lub tlenu singletowego sigma $^1\Sigma_gO_2$. Energia tlenu singletowego sigma jest wyższa niż energia tlenu singletowego delta. Obie te formy różnią się też okresem półtrwania w roztworach wodnych.

Przebieg reakcji fotoinicjowanego utleniania olefin zależy głównie od efektów sterycznych, elektronowych i konformacyjnych substratu. Tak np. Gollnick [7] i Schulte-Elte [8] stwierdzili, badając trialkilomonoolefiny, że produktem fotochemicznego utleniania jest trzeciorzędowy wodoronadtlenek.

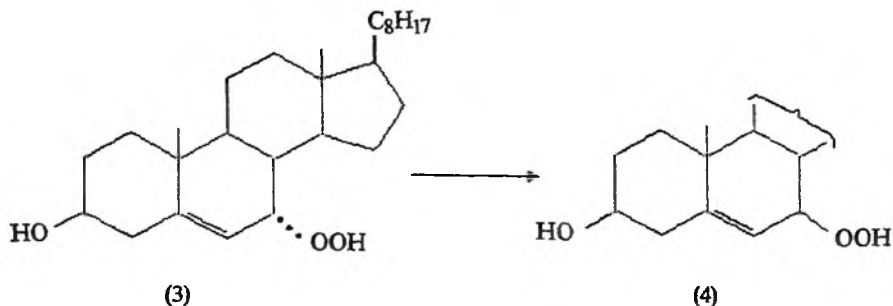
Wzbudzony singletowy tlen jest elektrofilem i szybkość jego reakcji z utlenianym alkenem zależy od charakteru podstawników. Same zaś wodoronadtlenki allilowe otrzymywane drogą utleniania alkenów tlenem singletowym ulegają procesowi przegrupowania, który ma charakter procesu wolnorodnikowego.

W 1958 r. Schenck [9] wykazał, że 5α -hydroperoksy- 3β -hydroksycholest-6-en, który powstaje w wyniku utlenienia cholesterolu tlenem w stanie singletowym, przegrupowuje się w niepolarnych rozpuszczalnikach do 7α -hydroperoksy- 3β -hydroksycholest-5-enu. Wiele przykładów takich reakcji zostało gruntownie opisanych w literaturze, a połowa z nich odnosi się do pochodnych cholesterolu. Schenck stwierdził, że wspomniane przegrupowanie było katalizowane za pomocą nadtlenu benzoulu i naświetlania światłem. Schemat 1 przedstawia to przegrupowanie:



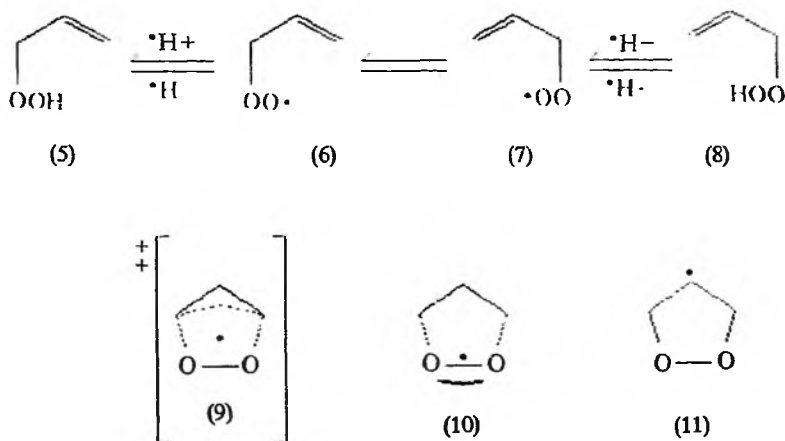
Schemat 1

Smith [10] zidentyfikował dalszy etap tego procesu (schemat 2).



Schemat 2

Schenck zakładał, że przegrupowanie (2) → (3) zachodziło poprzez wolne rodniki (6) i (7) i rodnik 1,2-dioksolano-4-yłowy (9) (schemat 3).



Schemat 3

Ten model był początkowo proponowany również przez Brilla [11]. Jednakże w późniejszej swej pracy Brill [12], a także Porter [13], dostarczyli dowodów przeciwko modelowi zakładającemu powstawanie w stanie przejściowym wolnego rodnika z niesparowanym elektronem zlokalizowanym na węglu. Brill [12] postulował tym razem, że wolne rodniki (6) i (7) nie występują w stanie przejściowym, zaś utrata atomu wodoru z hydroperoksydowej grupy, w przypadku (5) i (8), prowadzi do stanu pośredniego (10), w którym niesparowany elektron jest zlokalizowany na antywiązącym π -orbitalu tlenu. Porter [14] stwierdził natomiast, że gdy mieszanina Δ^8 -10-wodoronadtlenku i Δ^{10} -9-wodoronadtlenku (otrzymanych w wyniku utleniania kwasu oleinowego i ulegających wzajemnym przegrupowaniom) przechowywana była w atmo-

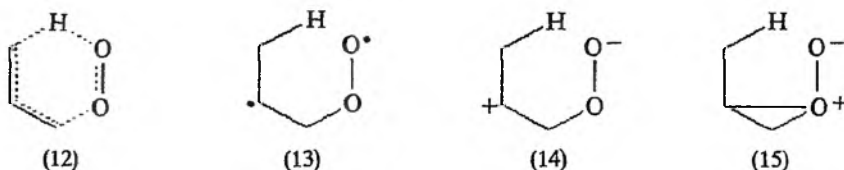
sferze $^{18}\text{O}_2$, to nie zaobserwowano nawet po dłuższym czasie włączania „znaczonoego” tlenu w skład badanych wodoronadtlenków. Zaproponował on więc jako stan pośredni stan przejściowy opisany wzorem (11). Davies [15] powtarzając eksperyment Smitha (przegrupowanie wodoronadtlenku (3) do wodoronadtlenku (4) w atmosferze $^{18}\text{O}_2$) stwierdził włączenie $^{18}\text{O}_2$ do grupy hydroperoksyłowej cząsteczek 7-hydroperoksy-3-hydroksycholest-5-enu (4). Postulował on więc mechanizm dysocjatywny dla tego procesu. Generalnie można wyciągnąć wniosek, że część przegrupowań wodoronadtlenków allilowych ma charakter dysocjatywny, inne zaś, które są bardziej pospolite, mają charakter pericyklicznego (2,3)-przegrupowania. Dokładne wyjaśnienie obu mechanizmów oraz znalezienie przyczyn, dla których jeden z tych mechanizmów jest dominujący, stanowi przedmiot badań wielu grup naukowych.

Chociaż mechanizm reakcji enowej tlenu singletowego z olefinami był badany przez wielu badaczy, to jest on nadal przedmiotem wielu kontrowersji. Przynajmniej trzy mechanizmy zostały zaproponowane dla tej reakcji:

1) Mechanizm pericykliczny, według którego przesunięcie wiązania podwójnego zachodzi poprzez cykliczny stan przejściowy (12).

2) Mechanizm, zgodnie z którym w stanie pośrednim tworzony jest dwurodnik lub dwujon (13, 14).

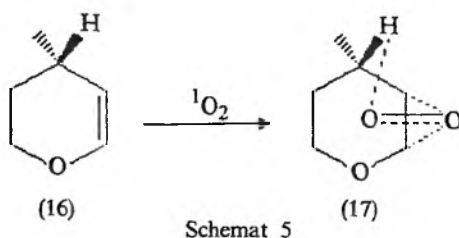
3) Mechanizm uwzględniający początkowe tworzenie się kompleksu typu en-enofil (5) (schemat 4).



Schemat 4

Jednoetapowy mechanizm pericykliczny był uznawany za poprawny przez wiele lat, gdyż powszechnie przyjęta była opinia, że szybkość reakcji enowych nie zależy od natury rozpuszczalnika, w którym reakcja jest prowadzona. W późniejszym czasie Goddard [16] zaproponował na podstawie obliczeń teoretycznych mechanizm dwurodnikowy. Model ten nie został potwierdzony na drodze doświadczalnej.

Stan przejściowy uwzględniający tworzenie się kompleksu typu en-enofil (15) został po raz pierwszy zaproponowany przez Sharpa [17], a później Kearnsa [18], a również Frimera i Bartletta [19], którzy badali efekty izotopowe występujące podczas utleniania tlenem singletowym dihydropiranu. Fuki [20] zaproponował zaś opisy geometryczne modeli dla przejściowych kompleksów powstających w wyniku reakcji tlenu singletowego z alkenami, które są podobne do modeli postulowanych przez Sharpa [17] (schemat 5):



Analogiczne kompleksy przejściowe zostały również zaproponowane dla produktów reakcji addycji [2+2] tlenu singletowego do bogatych w elektrony olefin, które prowadziły do dioksetanów. Wydajność tych reakcji rosła ze wzrostem polarności rozpuszczalnika [19]. Stwierdzono, że nawet reakcje [2+4] addycji tlenu singletowego do dienów mogą przebiegać poprzez pośredni stan przejściowy [21]. Można generalnie stwierdzić, że wszystkie wyniki doświadczalne ostatnio przeprowadzonych prac dotyczące reakcji tlenu singletowego z olefinami potwierdzają hipotezę Sharpa [17]. Zasadniczym pytaniem pozostaje geometryczny opis budowy powstającego kompleksu w stanie przejściowym. Bardzo interesujący eksperyment poruszający to zagadnienie przeprowadził Stephenson [22]. W wyniku utleniania tlenem singletowym (Z)- i (E)-2,3-dimetylo-2-butenu- D_6 otrzymał on dwie różne mieszaniny wodoronadtlenków. W wypadku izomeru (E) (18) łatwiej w porównaniu do izomeru (Z) (19) zachodziło przeniesienie wodoru niż deuteru do tlenu w nowo powstającym wodoronadtlenku (schemat 6).



Schemat 6

Orfanopoulos, Grdina i Stephenson stwierdzili, że addycje zachodzące w toku reakcji enowych mają ukierunkowany charakter i zachodzą one z reguły na bardziej zatłoczonych atomach węgla w alkilopodstawionych olefinach [23]. Analogicznych informacji dostarczyły prace prowadzone przez Schulte-Elte i wsp. [24]. Dodatkowo zaobserwowali oni, że optycznie czynne di- i tripodstawione olefiny w reakcjach z tlenem singletowym dawały wodoronadtlenki, w których ulegający przeniesieniu atom wodoru pochodził tylko z tej strony alkenu, po której wiązanie węgiel—tlen było tworzone. Wskazuje to na brak rotacji w stanie przejściowym wokół początkowo podwójnego wiązania i jest dowodem na stereospecyficzność tych reakcji.

Również reakcje tlenu singletowego z eterami enolowymi charakteryzują się dużą regioselektywnością [25]. Wysoką stereoselektywność wykazują zaś

reakcje tlenu singletowego z α,β -nienasyconymi związkami karbonyłowymi [26] i karboksylowymi [27].

Aby otrzymać pełniejszy obraz mechanizmu reakcji tlenu singletowego z olefinami badaliśmy wpływ LiClO_4 na reakcje utleniania tlenem w stanie singletowym cholesterolu, bis(cyklopentylidenu) i allilotributylocyny [28]. Dokładne porównanie wyników szybkości reakcji utleniania tlenem w stanie singletowym w różnych warunkach nie jest łatwe do pomiaru z powodu możliwych zmian w stężeniu $^3\text{O}_2$ i jego czasu życia. Zgłaszając te zastrzeżenia możemy stwierdzić, że LiClO_4 wykazuje katalityczny wpływ na reakcje z wymienionymi uprzednio olefinami. Jest prawdopodobne, że tworzenie się polarnego stanu przejściowego w badanych reakcjach może być ułatwiane przez jonowe środowisko. Nie obserwowaliśmy za to żadnego wpływu LiClO_4 na szybkość przegrupowań Schencka i Smitha w wypadku cholesterolu.

ZNACZENIE TLENU SINGLETOWEGO W MEDYCYNIE

Tlen singletowy nie jest wytwarzany w komórkach naszego ciała w dużych ilościach, lecz są znane przypadki, w których jego powstawanie i reakcje nabierają istotnego znaczenia [1]. Proces ten zachodzi przy udziale naturalnych fotosensybilizatorów wskutek działania fizycznych czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie jonizujące i nadfioletowe lub ultradźwięki. Fotosensybilizatorami o znaczeniu biologicznym są np. porfiryny. Ich reakcje z tlenem singletowym mogą prowadzić np. do porfirii, która jest chorobą uwarunkowaną genetycznie spowodowaną defektem metabolizmu porfiryń. Do jej objawów należy m.in. zwiększenie wydalania porfiryń z moczem oraz nagromadzenie się w zwiększonej ilości porfiryń w skórze w wyniku ich reakcji z komórkami nabłonka. W wyniku działania promieniowania słonecznego i dalszych reakcji zachodzących z udziałem porfiryń i wytwarzanego tlenu singletowego powstają trwałe uszkodzenia skóry w postaci pęcherzy, przebarwień, blizn i zgrubień. Podobne właściwości światłouczulające mają niektóre leki (fenotiazyny i tetracykliny) oraz składniki kosmetyków, jak piżmo ambrowe i piżmo ksylenowe [1, 29].

Reaktywność tlenu singletowego natomiast wykorzystano w fototerapii stosowanej w leczeniu opryszczki, żółtaczki noworodków oraz łuszczycy. Maści stosowane w leczeniu opryszczki zawierają zwykle barwnik fotouczulający (czerwień obojętną czy proflawinę), który wiąże się z DNA wirusa, a po naświetleniu powoduje jego uszkodzenie [1]. Fototerapia stosowana w leczeniu żółtaczki noworodków lub rzadziej w leczeniu hiperbilirubinemii uwarunkowanych genetycznie polega na naświetlaniu chorych silnym światłem białym lub fioletowym, co powoduje zmianę konformacji cząsteczki bilirubiny i umożliwia jej usuwanie z żółcią lub z moczem bez konieczności wcześniejszej reakcji estryfikacji [30]. Bilirubina sama wzmacnia ten proces, wytwarzając po naświet-

leniu tlen singletowy. Jedną z komplikacji terapii fotodynamicznej jest możliwość indukcji nowotworów skóry [1], ale jednocześnie terapia fotodynamiczna jest stosowana w leczeniu niektórych nowotworów.

Tlen singletowy może być również wytwarzany przez pobudzone fagocyty, głównie w reakcjach katalizowanych przez peroksydazy i cytochrom P-450. Może też powstawać podczas peroksydacji lipidów oraz w wyniku reakcji ozonu ze związkami obecnymi w komórkach [31–33]. Peroksydacja lipidów jest najczęściej badanym procesem związanym ze skutkami zachodzenia w organizmie reakcji, w których uczestniczą reaktywne formy tlenu i uważana była za główny mechanizm toksycznego działania metabolitów tlenu [1].

Ostatnio więcej uwagi poświęcono badaniom nad toksycznym działaniem utlenionej frakcji LDL-lipoproteiny o niskiej gęstości (ox-LDL). Utlenianie LDL może być spowodowane bezpośrednim wpływem reaktywnych form tlenu wytwarzanych przez komórki organizmu (komórki śródbłonna naczyń, mięśni gładkich, makrofagi, leukocyty obojętnochłonne), a także działaniem lipo-oksygenaz komórkowych [34–36]. Utlenianie LDL jest istotnym czynnikiem w patogenezie miażdżycy [37–41]. Rola ox-LDL nie sprowadza się tylko do jednego zjawiska. Utlenione LDL są czynnikiem chemotaktycznym dla monocytów, hamują powrót makrofagów do krążenia, zatrzymując je w ścianie tętnic, są cytotoksyczne dla komórek śródbłonna naczyń, wzmagają formowanie skrzepu oraz zmniejszają rozkurcz naczyń krwionośnych w odpowiedzi na acetylocholinę i 5-hydroksytryptaminę [42, 43]. Ponadto utleniona frakcja LDL, a także podfrakcja HDL₃ – lipoproteiny o wysokiej gęstości – unieczynniają wydzielany przez śródbłonek naczyń tlenek azotu [42]. Na początku lat osiemdziesiątych został odkryty czynnik rozszerzający naczynia krwionośne (EDRF) uwalniany przez nie uszkodzony śródbłonek naczyń krwionośnych [43]. Potwierdzono również przypuszczenie, że EDRF jest cząsteczką tlenu azotu powstającą w wyniku konwersji L-argininy do cytruliny, a reakcja jest katalizowana przez syntazę tlenu azotu – NOS (dioksygenazę). Znane są dwie izof formy tego enzymu: konstytutywna NOS (c-NOS) występująca w śródbłonce naczyń krwionośnych i w tkance mózgowej oraz NOS indukowana (i-NOS) przez cytokiny, znajdująca się w wielu komórkach organizmu, najlepiej poznana w monocytach/makrofagach.

Najnowsze badania wykazały, że endogeny tlenek azotu, a przy jego braku niskie stężenie NO-donorów, hamują akumulację ox-LDL przez makrofagi oraz prawdopodobnie zapobiegają modyfikacji LDL przez zaktywowane komórki [42, 43]. Nadmiar tlenu azotu wydaje się zjawiskiem niekorzystnym i sprzyjającym powstawaniu i akumulacji ox-LDL. Nadmierna produkcja tlenu azotu odgrywa również rolę w patomechanizmie spadku ciśnienia krwi, we wstrząsie septycznym, immunologicznym odczynie zapalnym, rozwoju cukrzycy insulinozależnej [43].

W cytoplazmie leukocytów obojętnochłonnych wykryto termostabilny czynnik hamujący aktywność c-NOS oraz i-NOS innych komórek. Czynnik

ten wydaje się następnym mechanizmem zabezpieczającym zdrowe komórki przed toksycznym działaniem tlenu azotu [44].

Badania prowadzone w ostatnich latach wykazały, że witaminy C, E i A są silnymi antyoksydantami reaktywnymi wobec tlenu singletowego i wodoronadtlenków [1]. Askorbinian, czyli witamina C, znany jest od dawna jako czynnik zapobiegający skorbutowi. Kwas askorbinowy jest kofaktorem w reakcjach hydroksylacji zachodzących podczas biosyntezy kolagenu. Silnie redukujące właściwości kwasu askorbinowego decydują o jego właściwościach antyoksydacyjnych. Jest on uważany za najważniejszy antyoksydant płynów pozakomórkowych w organizmie, ważny również dla ochrony antyoksydacyjnej wewnątrz komórek. W badaniach *in vitro* wykazano jednak, że w niskich stężeniach askorbinian wykazuje właściwości oksydacyjne i stymuluje powstawanie wolnych rodników, zwłaszcza w obecności jonów metali – Fe^{3+} i Cu^{2+} [45–47].

Witamina E została początkowo zidentyfikowana jako żeński czynnik płodności, zapobiegający resorpcji płodu u ciężarnych samic szczura. Dziś wiemy, że mechanizm jej działania polega głównie na funkcji antyoksydacyjnej [45]. U człowieka niedobór witaminy E powoduje skrócenie czasu życia erytrocytów, zaburzenia neurologiczne i choroby mięśni oraz zaburzenia funkcjonalne układu odpornościowego, zwiększa także prawdopodobieństwo występowania niektórych nowotworów i chorób układu krążenia. Nazwa „witamina E” obejmuje osiem naturalnie występujących hydrofobowych (rozpuszczalnych w tłuszczach) niezbędnych składników pożywienia. Cztery z nich mają strukturę tiokolu z nasyconym 16-węglowym łańcuchem fitylowym (tokoferole α , β , γ i δ), a cztery strukturę tokotrienolu z łańcuchem fitylowym zawierającym trzy wiązania podwójne (tokotrienole α , β , γ i δ). Związkiem występującym najpowszechniej jest α -tokoferol, stanowi on 88% całej puli witaminy E osocza krwi.

Kolejnymi ważnymi antyoksydantami hydrofobowymi są karotenoidy i ksantofile [1]. Nazwą „witamina A” określa się pochodne o strukturze podobnej do *trans*-retinolu. Prowitaminami A nazywamy karotenoidy o aktywności biologicznej podobnej do witaminy A. Związków takich jest około 50, lecz najważniejszym z nich jest β -karoten. W pożywieniu znajduje się głównie witamina A (przede wszystkim jako estry retinolu) i prowitaminsy (głównie β -karoten). Główną formą witaminy A jest *trans*-retinol. Najważniejszymi funkcjami witaminy A są: podtrzymywanie wzrostu, reprodukcji, procesu widzenia, różnicowania nabłonków, procesów mielinizacji i procesów odpornościowych. Badania epidemiologiczne prowadzone przez Walda oraz Karka [46] wykazały, że niskie stężenie retinolu w surowicy jest związane ze wzrostem ryzyka wystąpienia nowotworów. Stwierdzono odwrotną zależność między ryzykiem zachorowania na raka u ludzi a stężeniem retinolu we krwi i ilością β -karotenu dostarczanego z dietą. Mechanizm działania β -karotenu nie jest do końca wyjaśniony. Właściwości antykancerogenne β -karotenu i witaminy A wykorzy-

stane zostały w prewencji i leczeniu raka nabłonka płaskokomórkowego. Oba te związki hamują metaplazję nabłonka płaskiego, a podawane doustnie powodują ponadto regresję brodawczaka pęcherza moczowego i rogowacenia białego krtani [46, 47]. Podobnie jak tokoferole, karotenoidy są efektywnymi wygaszczami tlenu singletowego, co prowadzi m.in. do hamowania transformacji komórek.

Rezultaty omawianych prac przekonują nas o możliwości i potrzebie podjęcia interdyscyplinarnych badań dotyczących własności tlenu singletowego. Dziedzina ta pozostaje ciągle obszarem prawie nieznanym. Jesteśmy świadomi, że nasza krótka notatka nie wyczerpuje zagadnienia. Celowo, aby jej zbytnio nie rozszerzać, nie podjęliśmy problematyki zastosowań tlenu singletowego w przemyśle, czy przydatności wodoronadtlenków allilowych w syntezie organicznej. Tymi samymi kryteriami kierowaliśmy się przy doborze cytowanej literatury ograniczając się do prac pionierskich.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G. Bartosz, *Druga twarz tlenu*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995.
- [2] A. Laporterie, M. Joanny, H. Houghmane, J. Dubac, *Nouv. J. Chim.*, 1983, 7, 225; A. G. Davies, *J. Organometal. Chem.*, 1982, 239, 87; W. Oppolzer, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1989, 28, 38.
- [3] H. Kautsky, *Biochem. Z.*, 1937, 291, 271.
- [4] K. Gollnick, T. Franken, G. Schade, G. Doerhoefer, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1970, 171, 89.
- [5] S. J. Arnold, M. Kubo, E. A. Ogryzlo, *Advan. Chem. Ser.*, 1968, 77, 133.
- [6] B. Halliwell, J. M. Gutteridge, *Meth. Enzymol.*, 1990, 186, 1; H. Sies, E. Cadenas, *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 1985, B311, 617.
- [7] K. Gollnick, *Advan. Photochem.*, 1968, 6, 1.
- [8] K. H. Schulte-Elte, *Rozprawa doktorska*, University of Göttingen, 1961.
- [9] G. O. Schenck, O. A. Neumüller, W. Eisfeld, *Iustus Liebigs Ann. Chem.*, 1958, 618, 202.
- [10] J. I. Teng, M. J. Kulig, L. L. Smith, G. Kan, J. E. Van Ler, *J. Org. Chem.*, 1973, 38, 119.
- [11] W. E. Brill, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, 87, 3286.
- [12] W. E. Brill, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1984, 621.
- [13] N. Porter, P. Zuraw, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1985, 1472.
- [14] N. Porter, J. S. Wujek, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 5085.
- [15] A. L. Beckwith, A. G. Davies, I. G. E. Davidson, A. Maccoll, H. H. Mruzek, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1989, 815.
- [16] L. B. Harding, W. A. Goddard, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102, 439.
- [17] D. B. Sharp, *Abstracts of Papers, 139th Meeting of the American Chemical Society*, New York, NY, 1960; *American Chemical Society*: Washington, DC, 1960.
- [18] W. Fenical, D. R. Kearns, P. J. Radlick, *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, 91, 3396; D. R. Kearns, *ibid.*, 1969, 91, 6554; D. R. Kearns, W. Fenical, P. J. Radlick, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1970, 171, 34.
- [19] A. A. Frimer, P. D. Bartlett, A. F. Boschung, J. G. Jewett, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, 99, 7977.
- [20] S. Inagaki, H. Fujimoto, K. Fukui, *ibid.*, 1975, 97, 7480.
- [21] K. E. O'Shea, C. S. Foote, *ibid.*, 1988, 110, 7167.

- [22] M. J. Grdina, M. Orfanopoulos, L. M. Stephenson, *ibid.*, 1979, **101**, 3111.
- [23] M. Orfanopoulos, M. J. Grdina, L. M. Stephenson, *ibid.*, 1979, **101**, 275.
- [24] K. H. Schulte-Elte, B. L. Müller, V. Rautenstrauch, *Helv. Chim. Acta*, 1978, **61**, 2777; V. Rautenstrauch, W. Thommen, K. H. Schulte-Elte, *ibid.*, 1986, **69**, 1638; K. H. Schulte-Elte, V. Rautenstrauch, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 1738.
- [25] G. Rousseau, P. Le Perchec, J. M. Conic, *Tetrahedron Lett.*, 1977, 2517; D. Lerdal, C. S. Foote, *ibid.*, 1978, 3227.
- [26] H. E. Ensley, R. V. C. Carr, R. S. Martin, T. E. Pierce, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 2836; B. M. Kwon, R. C. Kanner, C. S. Foote, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 903; W. Adam, A. Griesbeck, *Synthesis*, 1986, 1050.
- [27] M. Orfanopoulos, C. S. Foote, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 5991; W. Adam, A. Griesbeck, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1985, **24**, 1070.
- [28] A. G. Davies, W. J. Kinart, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1993, 2281.
- [29] B. Halliwell, J. M. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2. wyd., Clarendon Press, Oxford 1989.
- [30] G. B. Odell, G. R. Gourley, *Hereditary hiperbilirubinemia, textbook of gastroenterology and nutrition in infancy*, 2. wyd., Raven Press, New York 1989, s. 949–964.
- [31] J. R. Kanofsky, H. Hoogland, R. Wever, S. J. Weiss, *J. Biol. Chem.*, 1988, **263**, 9692.
- [32] C. A. Rice-Evans, A. T. Diplock, M. C. R. Synons, *Techniques in free radical research*, Elsevier, Amsterdam 1991.
- [33] J. R. Kanofsky, P. Sima, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 9039.
- [34] H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jurgens, *Free Radical Biol. Med.*, 1992, **13**, 341.
- [35] H. Esterbauer, G. Wag, *Brit. Med. Bull.*, 1993, **49**, 566.
- [36] B. L. Kasiske, W. F. Keane, *J. Lipid. Res.*, 1991, **32**, 775.
- [37] D. S. P. Abdalla, A. Campa, H. P. Monteiro, *Atherosclerosis*, 1992, **97**, 149.
- [38] Z. E. Jouni, D. J. Mc Namara, *Arterioscler. Thromb.*, 1991, **11**, 995.
- [39] R. Ross, *Nature*, 1993, **362**, 801.
- [40] R. Terkeltaub, C. L. Banka, J. Solan, D. Santoro, K. Brand, L. K. Curtiss, *Arterioscler. Thromb.*, 1994 **14**, 47.
- [41] J. Westman, C. Roobol, C. Heymans, L. A. Carlson, E. Wulfert, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1993, **153**, 773.
- [42] M. Aviram, *Atherosclerosis*, 1993, **98**, 19.
- [43] A. Dembińska-Kieć, I. Wybrańska, *Czynniki ryzyka*, 1994, **2/3**, 64
- [44] A. Dembińska-Kieć, *Czynniki ryzyka*, 1994, **4**, 13.
- [45] S. A. B. E. van Acker, L. M. H. Koymans, A. Bast, *Free Radical Biol. Med.*, 1993, **15**, 311.
- [46] M. Simonoff, C. Sergeant, N. Garnier, P. Moretto, Y. Llabador, G. Simonoff, C. Conri, *Antioxidant status (selenium, vitamins A and E) and aging, free radicals and aging*, Birkhauser Verlag, Basel 1992, s. 368–397.
- [47] H. Sies, W. Stahl, A. R. Sundquist, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1992, **669**, 7.

**INDEKSY TOPOLOGICZNE I ICH ZNACZENIE
W BADANIACH CHROMATOGRAFICZNYCH**
CZEŚĆ I. INDEKSY TOPOLOGICZNE
**TOPOLOGICAL INDICES AND THEIR SIGNIFICANCE
IN CHROMATOGRAPHIC INVESTIGATIONS**

Alina Pyka

*Katedra i Zakład Chemii Ogólnej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach,
41-200 Sosnowiec, ul. Jagiellońska 4*

Abstract

Wprowadzenie

Podział grafów i indeksów topologicznych

1. Indeks topologiczny a struktura związku chemicznego
2. Definicja grafu
3. Sposoby przypisania macierzy do grafu oznaczonego
 - 3.1. Macierz sąsiedztwa grafu
 - 3.2. Macierz odległości
 - 3.3. Macierz odległości heterosystemów
4. Podział indeksów topologicznych
 - 4.1. Indeksy topologiczne oparte na macierzy sąsiedowania
 - 4.1.1. Indeksy topologiczne Gutmana
 - 4.1.2. Indeksy wiązalności cząsteczkowej
 - 4.1.3. Indeks topologiczny Platta
 - 4.1.4. Indeks topologiczny Gordona-Scantlebury'ego
 - 4.2. Indeksy topologiczne oparte na macierzy odległości
 - 4.2.1. Indeks Wienera
 - 4.2.2. Indeks Rouvraya-Crafforda
 - 4.2.3. Liczba polarności
 - 4.2.4. Indeks Balabana
 - 4.2.5. Indeksy topologiczne A , 0B , 1B , 2B , 2B_q , 3B , 3B_q , C
 - 4.2.6. Optyczny indeks topologiczny (I_{opt})
 - 4.2.7. Stereoizomeryczny indeks topologiczny (I_{STI})
 - 4.2.8. Indeks Hosoyi
 - 4.2.9. Indeks topologiczny Schultza (MTI)
 - 4.3. Centryczne indeksy topologiczne
 - 4.4. Indeksy oparte na teorii informacji
 - 4.4.1. Molekularny indeks informacyjny
 - 4.4.2. Informacyjny indeks elektronowy
 - 4.4.3. Informacyjne indeksy topologiczne

Piśmiennictwo cytowane

ABSTRACT

This paper introduces some basic definitions, theorems, terms, and concepts of graph theory [1–17]. The directed graph (Fig. 1), unoriented graphs (Fig. 2) and the concepts of adjacency and incidence (Fig. 3) are presented and defined [18–21]. The topological approach to the structure of organic molecules is described. Graphs, adequately labelled, may be associated with several matrices. A graph G is labelled if a certain numbering of vertices of G is introduced. Here two graph-theoretical matrices, i.e., the adjacency matrix [18–22] and the distance matrix [18, 21–24] are discussed. They are also referred to as topological matrices. The distance matrix for molecules with heteroatoms includes the diagonal elements (eq. (5)) and the off-diagonal elements (eqs. (6), (7)) which are shown in Tabs 2 and 3, respectively [21, 24]. The distances for particular paths for building the distance matrix for *cis* (Z) and *trans* (E) isomers are listed in Tab. 5 [72]. Simultaneously, this paper determines a test of the achievement of partition the topological indices under discussion. Definitions of the topological indices based on the adjacency matrix (the Gutman indices [25, 26], eqs. (8), (9)); the molecular connectivity indices [27–35], Tab. 4, eqs. (10)–(13); the Platt index [44], eq. (14); the Gordon–Scantlebury index [45], eqs. (15)–(17), on the distance matrix (the Wiener index [46–49], eqs. (18), (19)); the Rouvray–Crafford index [24, 25], eq. (20); the polarity number [46, 49, 73], eq. (21); average distance sum connectivity index – Balaban [24, 74], eqs. (22)–(24); the Pyka indices [41, 72], eqs. (25)–(32); the optical topological index – I_{opt} [76–78], eq. (33); the stereoisomeric topological index – I_{STI} [77–79], eq. (34), the Hosoya index [25, 81–86], eqs. (35)–(37); the molecular topological index – MTI [87–90], eq. (38), the centric topological indices [91–93], eq. (39) and the indices based on information theory [21, 82, 92, 94–97], eqs. (41)–(47) are presented. Applications and significance of these topological indices for chemical and chromatographical investigations will be described in Part II.

WPROWADZENIE

Teoria grafów i jej rozwój są ściśle związane z pracami badawczymi: Eulera [1], Kirchoffa [2], Cayleya [3], Hamiltona [4] i Königa [4].

Teoria grafów i oparte na niej algorytmy oraz metody numeryczne są przede wszystkim przedmiotem zainteresowań nauk matematycznych, jak również ich zastosowania w innych dyscyplinach nauki. Teorię grafów zastosowano w fizyce, chemii, a także w antropologii, architekturze, geografii, genetyce, lingwistyce, logistyce, psychologii, cybernetyce, naukach politycznych, do opisu układów elektrycznych, elektronicznych lub mechanicznych, sieci transportowych i sieci łączności, automatów, programów komputerowych, sieci operacji, schematów organizacyjnych, systemów socjologicznych, systemów klasyfikacyjnych, sztucznej inteligencji, rozpoznawania obrazów, teorii niezawodności i wielu innych, np. struktury opery Mozarta „Così fan tutte” [4].

Liczba zastosowań teorii grafów stale rośnie. W obrębie chemii teoria grafów znalazła zastosowanie do rozwiązywania problemów w zakresie: syntezy chemicznej, chemii polimerów, chemii kwantowej (w tym np. teorii Hückla), chemii związków metaloorganicznych, termochemii, kinetyki chemicznej, spektroskopii, przechowywania i przeszukiwania informacji chemicznej [4–17]. Od 50 lat teoria grafów znalazła szerokie zastosowanie w chemii, tzn. zastosowanie indeksów topologicznych w badaniu ilościowej zależności pomiędzy: strukturą i aktywnością (QSAR), strukturą i właściwościami (QSPR) oraz strukturą i parametrami retencji chromatograficznej (QSRR) związków organicznych.

Celem niniejszej pracy przeglądowej jest omówienie podstawowych indeksów topologicznych oraz ich zastosowania w badaniach chromatograficznych.

PODZIAŁ GRAFÓW I INDEKSÓW TOPOLOGICZNYCH

1. INDEKS TOPOLOGICZNY A STRUKTURA ZWIĄZKU CHEMICZNEGO

Wzory strukturalne związków chemicznych mogą być przedstawione jako grafy molekularne, w których wierzchołki reprezentują atomy, a krawędzie — wiązania kowalencyjne. Teoria grafów jest dobrze rozwiniętym działem matematyki dyskretnej, związanym z kombinatoryką, algebrą i topologią, i może być z powodzeniem zastosowana w rozwiązywaniu zagadnień chemicznych. Wśród tych zagadnień dominują dwa: charakterystyka topologii wiązań oraz stereochemia grafów molekularnych.

Do celów dokumentacyjnych każdy graf molekularny powinien mieć unikalną nazwę i kod, który pozwoliłby na indeksowanie i odtwarzanie grafów. Zostało to częściowo zrealizowane za pomocą tradycyjnej chemicznej terminologii i przez zastosowanie systemu notacji liniowej. Obie metody są obecnie w użyciu i pozwalają na identyfikowanie różnych izomerycznych struktur, lecz

zależą one w dużym stopniu od stosowanych konwencji. W zbiorze systemów izomerycznych można indeksować alfabetycznie nazwy chemiczne, z uwzględnieniem ich wzorów. Notacja liniowa z kolei może być łatwo przystosowana do zapisu komputerowego, co zapewnia szybkie i niezawodne wyszukiwanie odpowiednich struktur i podstruktur. Dodatkowo rozwinięto również kody topologiczne, do tej pory głównie zastosowane do acyklicznych grafów molekularnych. Kody topologiczne nie wymagają ścisłej konwencji, dlatego są łatwe i wygodne w zastosowaniu, szczególnie w wypadku stosowania programów komputerowych.

W celu opisanie korelacji pomiędzy strukturami a ich właściwościami, topologia wiązań każdego grafu molekularnego jest wyrażana macierzą, wielomianem lub indeksem topologicznym.

Tabela 1. Schemat zależności między terminologią teorii grafów i terminologią chemiczną

Terminologia teorii grafów	Terminologia chemiczna
Graf molekularny	wzór strukturalny
Wierzchołek	atom
Wierzchołek ważony	atom pierwiastka
Krawędź	kowalencyjne wiązanie chemiczne
Krawędź ważona	kowalencyjne wiązanie chemiczne między dwoma określonymi pierwiastkami
Stopień wierzchołka	walencyjność atomu
Drzewo	węglowodór acykliczny
Cykl (obieg)	pierścień
Łańcuch	polien liniowy
Graf dwudzielny bichromatyczny	węglowodór rozgałęziony
Graf niedwudzielny	węglowodór nierozgałęziony
Macierz incydencji	macierz topologiczna
Wartość własna	(poziom) energia orbitalna molekuly
Wektor własny	orbital topologiczny molekuly
Wielomian charakterystyczny	wyznacznik sekularny (charakterystyczny)

2. DEFINICJA GRAFU [18–21]

Iloczyn kartezjański zbiorów V i W definiuje się następująco:

$$V \times W = \{(v, w) | v \in V, w \in W\}, \quad (1)$$

tzn. $V \times W$ jest zbiorem takich uporządkowanych par, że pierwszy element pary jest zawarty w zbiorze V , a drugi w zbiorze W . Binarna (dwójkowa) relacja R w zbiorze $V \times W$ jest dowolnym podzbiorem zbioru $V \times W$, zwłaszcza gdy $V = W$, R jest binarną relacją (zdefiniowaną) na zbiorze V .

Przykład 1:

$$V = \{1, 2, 3\},$$

$$V \times V = [(1, 1), (1, 2), (1, 3), (2, 1), (2, 2), (2, 3), (3, 1), (3, 2), (3, 3)],$$

$$R = [(1, 1), (1, 2), (2, 1), (3, 2)].$$

Graf definiuje się jako uporządkowaną parę $G: G = (V, R)$. Elementy zbioru V zwane są wierzchołkami grafu, natomiast elementy zbioru R są krawędziami grafu. Wierzchołki v_1 i v_2 zbioru V mogą należeć do relacji binarnej $(v_1, v_2) \in R$ lub mogą do niej nie należeć $(v_1, v_2) \notin R$. Tak abstrakcyjnie zdefiniowany graf można przedstawić w postaci narysowanych małych kółek lub punktów, a krawędzie (p, q) jako zorientowane (ukierunkowane) linie o kierunku od p do q .

Przykład 2:

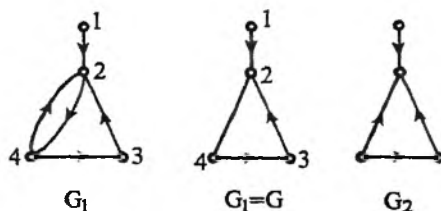
$$V = [1, 2, 3, 4],$$

$$R = [(1, 2), (2, 4), (3, 2), (4, 2), (4, 3)],$$

$$G = (V, R).$$

Na rys. 1 przedstawiono graf dla tego przykładu.

W pewnych wypadkach wygodnie jest rozważać grafy, uwidaczniając jedynie fakt istnienia bezpośrednich powiązań par wierzchołków (węzłów) przez łuki lub krawędzie, lecz nie precyzując kierunku ewentualnych łuków. W tego typu grafach, zwanych *grafami niezorientowanymi*, krawędź e_{ij} oznacza łuk łączący wierzchołek v_i z wierzchołkiem v_j lub łuk łączący wierzchołek v_j z wierzchołkiem v_i lub oba takie łuki łącznie. W grafie G (rys. 1) występuje symetryczna para krawędzi $(2, 4)$ i $(4, 2)$. W grafie G_1 wierzchołki te powiązane łukiem niezorientowanym. Graf niezorientowany jest w pewnym sensie grafem „słabiej” określonym niż graf zorientowany, dlatego twierdzenia odnoszące się do grafów niezorientowanych i wiele pojęć związanych z takimi grafami można łatwo zastosować w odniesieniu do grafów zorientowanych. *Grafem ukierunkowanym* nazywamy graf, w którym wszystkie łuki (krawędzie) mają sprecyzowane kierunki. *Grafem zorientowanym* natomiast nazywamy ukierunkowany graf nie mający symetrycznych par ukierunkowanych krawędzi. Na rys. 1 G_1 i G_2 są ukierunkowane, ale tylko G_2 jest zorientowany.



Rys. 1. Graf ukierunkowany

Przykład 3:

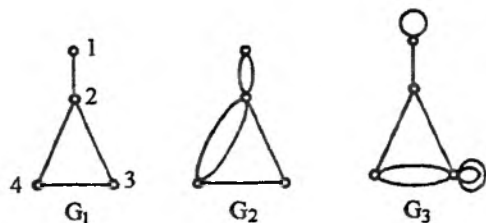
$$V = [1, 2, 3, 4],$$

$$R = [(1, 2), (2, 1), (2, 3), (2, 4), (3, 2), (3, 4), (4, 2), (4, 3)],$$

$$G_1 = (V, R).$$

Graf G_1 przedstawiono na rys. 2.

Jeżeli więcej niż jedna krawędź łączy dwa wierzchołki, to otrzymujemy multigraf (G_2 na rys. 2). Jeżeli założymy możliwość istnienia „pętli” (pojedynczych



Rys. 2. Grafy niezorientowane

Zdefiniujmy niezorientowany graf w inny sposób, mianowicie jako:

$$G = (V, U), \quad (2)$$

gdzie U jest zbiorem nieuporządkowanych par określonych wierzchołków zbioru V , tzn. zbiorem krawędzi. Krawędź łączącą wierzchołki p i q oznaczamy jako $e(p, q)$.

Przykład 4:

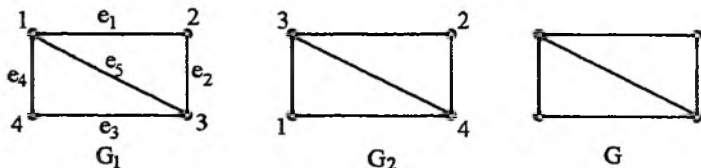
$$V = [1, 2, 3, 4],$$

$$U = [e_1, e_2, e_3, e_4, e_5],$$

$$e_1 = e(1, 2), \quad e_2 = e(2, 3), \quad e_3 = e(3, 4), \quad e_4 = e(1, 4), \quad e_5 = e(1, 3),$$

$$G_1 = (V, U).$$

Graf G_1 przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Sąsiedztwo wierzchołków i incydencja krawędzi grafów

Łączną liczbę wierzchołków i krawędzi grafu G oznacza się odpowiednio przez N i M . Wierzchołki p i q nazywamy sąsiednimi, jeżeli w grafie G istnieje krawędź $e(p, q)$. Mówimy wtedy również, że wierzchołek p i krawędź $e(p, q)$, jak również wierzchołek q i krawędź $e(p, q)$ są wzajemnie incydentne. Dwie krawędzie nazywamy incydentnymi, jeżeli mają wspólny wierzchołek. W grafie G_1 (rys. 3) wierzchołki 1 i 3 są sąsiednie, lecz 2 i 4 nie są. Wierzchołek „1” i krawędź e_4 są incydentne, natomiast „1” i e_2 nie. Krawędzie e_1 i e_2 są incydentne, e_1 i e_3 nie.

Graf nazywamy oznaczonym, jeżeli wprowadzimy pewne oznaczenie wierzchołków grafu G : v_1, v_2, \dots, v_N . Na rys. 3 grafy G_1 i G_2 są oznaczone, a graf G — nie.

3. SPOSOBY PRZYPISANIA MACIERZY DO GRAFU OZNACZONEGO

3.1. Macierz sąsiedztwa grafu [18–22]

Najważniejszą macierzową reprezentacją grafu jest macierz sąsiedztwa $A(G)$ lub w skrócie A ze zbiorem wierzchołków $\{v_1, \dots, v_N\}$, będąca macierzą kwadratową $N \times N$, w której A_{ij} jest liczbą krawędzi łączących wierzchołek v_i z wierzchołkiem v_j . Zakładamy, że rozważane grafy nie mają wielokrotnych krawędzi, więc

$$A_{ij} = \begin{cases} 1, & \text{gdy } (i, j) \in R, \\ 0, & \text{gdy } (i, j) \notin R, \end{cases}$$

z warunku nieistnienia pętli natomiast wynika:

$$A_{ii} = 0.$$

Ponadto dla nieukierunkowanych grafów właściwość $(v_1, v_2) \in R \rightarrow (v_2, v_1) \in R$ można zapisać jako:

$$A_{ij} = A_{ji}.$$

Dlatego elementy A_{ij} macierzy sąsiedztwa A grafu można przedstawić jako:

$$A_{ij} = \begin{cases} 1, & \text{gdy } v_i \text{ i } v_j \text{ są wierzchołkami sąsiednimi,} \\ 0 & \text{w przeciwnym wypadku.} \end{cases}$$

Przykładem może być macierz sąsiedztwa $A(G_1)$ dla grafu G_1 z rys. 3:

$$A(G_1) = \begin{vmatrix} 0 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \end{vmatrix}$$

3.2. Macierz odległości [18, 21–24]

Innym sposobem reprezentacji grafu jest macierz odległości D . Macierz odległości, podobnie jak macierz sąsiedztwa, jest również macierzą symetryczną $N \times N$. Macierz odległości D zawiera elementy: diagonalne $D_{ii} = d_{ii} = 0$ oraz pozadiagonalne $D_{ij} = d_{ij}$, gdzie d_{ij} jest liczbą krawędzi (wiązań) w najkrótszej drodze pomiędzy wierzchołkami (atomami) i - j .

Macierz odległości jest w wielu wypadkach bogatsza w informacje od macierzy sąsiedztwa, którą można uważać za bardzo specyficzną macierz odległości zawierającą tylko odległości równe jednościami. Graf kompletny (pełny) [20, 21] jest grafem prostym, w którym każde dwa różne wierzchołki są sąsiednie. Graf kompletny o V wierzchołkach jest zwykle oznaczany przez K_V .

Graf K_v ma dokładnie $V(V-1)/2$ krawędzi. Macierze sąsiedztwa i odległości kompletnych grafów są identyczne, dlatego macierz odległości można zapisać jako zależność

$$D(0, l) = A(0, 1) + \sum_{l=2}^L B(0, l), \quad (3)$$

gdzie $B(0, l)$ są macierzami zawierającymi tylko jeden typ odległości l , a L jest maksymalną topologiczną odległością w grafie.

Dla kompletnych grafów relacja ta redukuje się do:

$$D(K_v) = A(K_v). \quad (4)$$

3.3. Macierz odległości heterosystemów [24]

Obie macierze, tj. sąsiedztwa i odległości, w swojej standardowej formie nie mogą być stosowane dla molekuł zawierających wiązania wielokrotne lub heteroatomy. Z tego powodu zaproponowano wprowadzenie bardziej ogólnej definicji elementów macierzy odległości. Macierz ta obejmuje multigrafy G_{vew} o ważonych wierzchołkach i krawędziach, tj. molekuły z wiązaniami wielokrotnymi i heteroatomami. Elementy D_{ij} macierzy $D(G_{vew})$ definiuje się jako:

$$D_{ij} = \begin{cases} d_{ij}, & \text{gdy } i \neq j, \\ d_{ii}, & \text{gdy } i = j. \end{cases}$$

Tabela 2. Wartości d_{ii} dla różnych atomów [24]

Atom	d_{ii}
Węgiel	0,000
Azot	0,143
Tlen	0,250
Siarka	0,625
Fluor	0,333
Chlor	0,647
Fosfor	0,600

Dla wierzchołkowo i krawędziowo ważonych (multi) grafów elementy macierzy leżące na przekątnej definiujemy następująco:

$$d_{ii} = 1 - 6/Z_i, \quad (5)$$

gdzie Z_i jest liczbą atomową atomu i . W tab. 2 przedstawiono wartości d_{ii} stosowane dla związków organicznych.

Elementy macierzy wymienionych grafów, nie leżące na przekątnej, są zdefiniowane jako:

$$d_{ij} = \sum_r k_r, \quad (6)$$

gdzie sumowanie odbywa się po wierzchołkach r ($r = 1, 2, \dots$) ważonych i nieważonych wierzchołków, a parametr k_r określony jest wzorem:

$$k_r = \frac{1}{b_r} \cdot \frac{36}{Z_i Z_j}, \quad (7)$$

gdzie:

$$b_r = \begin{cases} 1 & \text{dla pojedynczych wiązań,} \\ 2 & \text{dla podwójnych wiązań,} \\ 3 & \text{dla potrójnych wiązań,} \\ 3/2 & \text{dla wiązań aromatycznych,} \end{cases}$$

Z_i oraz Z_j są liczbami atomowymi atomów i oraz j tworzących wiązanie r . Wartości parametru k_r dla większości wiązań, które występują w związkach organicznych przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3. Parametr k_r dla różnych typów wiązań [24]

Typ wiązania	k_r
C—C	1,000
C=C	0,500
C≡C	0,333
Aromatyczne C—C	0,667
C—N	0,857
C=N	0,429
Aromatyczne C—N	0,571
C—O	0,750
C=O	0,375
N—N	0,735
N=N	0,368
C—F	0,667
C—Cl	0,353

4. PODZIAŁ INDEKSÓW TOPOLOGICZNYCH

4.1. Indeksy topologiczne oparte na macierzy sąsiadowania

Do indeksów topologicznych opartych na macierzy sąsiadowania należy zaliczyć m.in. ogólny indeks sąsiadowania, indeksy topologiczne opracowane przez naukowców z Zagrzebia, indeksy wiązalności cząsteczkowej Randicia i ich rozwinięcia dokonane przez Kiera i Halla, indeks Platta, oraz indeks Gordona–Scantlebury'ego. Dalej omówiono najważniejsze z nich.

4.1.1. Indeksy topologiczne Gutmana. Pierwszymi indeksami topologicznymi, opartymi na macierzy sąsiadowania, były indeksy wyprowadzone przez grupę naukowców z Zagrzebia [25, 26]:

$$M_1 = \sum_{i=1}^N v_i^2, \quad (8)$$

$$M_2 = \sum_{\substack{\text{wszystkie} \\ \text{stopnie}}} (v_i v_j), \quad (9)$$

gdzie v_i jest stopniem wierzchołka w „bezwodorowym” grafie (graf, którego wierzchołkami są atomy związku chemicznego, z wyjątkiem atomów wodoru). *Stopniem wierzchołka v_i nazywamy liczbę przyległych (sąsiednich) wierzchołków lub inaczej liczbę krawędzi incydentnych na dany wierzchołek.*

4.1.2. Indeksy wiązalności cząsteczkowej. Indeks topologiczny χ , podobny do indeksu M_2 , był wprowadzony przez Randicia [27] celem scharakteryzowania wiązań molekuly:

$$\chi = \sum_i (\delta_i \delta_j)^{-1/2}. \quad (10)$$

Na podstawie indeksu Randicia Kier i Hall [28–35] opracowali metodę wiązalności cząsteczkowej, pozwalającą na ilościowy opis struktury cząsteczki i prowadzącą do wartości liczbowych zwanych indeksami wiązalności cząsteczkowej ${}^m\chi_t$ (gdzie: m – stopień indeksu topologicznego, t – typ podgrafu). Indeks Randicia m -tego rzędu wynosi

$${}^m\chi_t = \sum_{j=1}^{n_m} \prod_{i=1}^{m+1} (\delta_i)_j^{-1/2}, \quad (11)$$

gdzie δ_i oznacza stopień i -tego wierzchołka, t – rodzaj podgrafów oraz n_m – liczbę podgrafów typu t , których stopień jest równy m .

Wygodny jest podział podgrafów na następujące kategorie:

- podgrafy typu pierwszego $t = P$ (*path*), tzw. wyrażenia „drogowe” o wartościowościach nie większych niż 2;
- podgrafy typu drugiego $t = C$ (*cluster*) – tzw. wyrażenia klasterowe, o wartościowościach, przynajmniej w jednym wypadku, 3 lub 4, nigdy 2;
- podgrafy typu trzeciego $t = PC$ (*path-cluster*), tzw. wyrażenia drogo-klasterowe o wartościowościach 2 w połączeniu z 3 i/lub 4;
- podgrafy typu czwartego $t = CH$ (*chain*) – tzw. wyrażenia łańcuchowe, w którym to przypadku sekwencja krawędzi zawiera przynajmniej jeden pierścień.

Przyjęto, że stopień wierzchołka grafu δ jest równy liczbie łuków wchodzących i wychodzących z wierzchołka.

Opisana procedura dla węglowodorów nasyconych została rozszerzona na węglowodory nienasycone oraz inne związki organiczne zawierające heteroatomy. Przykładowym podejściem jest wyznaczenie wartościowości topologicznych δ^v związanych z liczbą elektronów powłoki walencyjnej atomu tworzącego wierzchołek grafu [30]:

$$\delta^v = Z^v - h, \quad (12)$$

gdzie: Z^v jest liczbą elektronów walencyjnych danego wierzchołka atomu, h – liczbą atomów wodoru związanych z danym wierzchołkiem, symbol v zaś wskazuje, że stopień wierzchołka δ obliczono na podstawie Z^v .

Kier i Hall [31] przedstawili ogólny sposób obliczania δ^v dla różnych heteroatomów, pozwalający na rozróżnienie atomów należących do tej samej grupy układu okresowego, na podstawie równania:

$$\delta^v = \frac{Z^v - h}{Z - Z^v - 1}, \quad (13)$$

gdzie Z jest liczbą atomową atomu tworzącego wierzchołek, Z^v i h zaś określone zostały poprzednio. Tak obliczane indeksy wiązalności cząsteczkowej oznacza się jako ${}^m\chi_i^v$. W tab. 4 zamieszczono wartości δ^v dla atomów chlorowców obliczone ze wzoru (13) [31].

Omówione indeksy wiązalności cząsteczkowej były przedmiotem wielu różnych modyfikacji [36–43]. Pogliani [43] m.in. wprowadził modyfikację indeksu, pozwalającą na rozróżnienie izomerów o konfiguracji *cis* (Z) i *trans* (E).

Tabela 4. Wartości δ^v dla atomów chlorowców obliczone ze wzoru (13) [31]

Atom	δ^v
– F	7,0
– Cl	0,78
– Br	0,26
– J	0,16

4.1.3. Indeks topologiczny Platla [44]. Platt [44] wyprowadził indeks F , obliczany jako suma stopni wszystkich krawędzi w molekułe:

$$F = \sum_{j=1}^A f_j, \quad (14)$$

gdzie f_j oznacza stopień krawędzi j , który jest równy liczbie krawędzi sąsiadujących z krawędzią j , A zaś jest ogólną liczbą krawędzi.

4.1.4. Indeks topologiczny Gordona–Scantlebury’ego [45]. Indeks Gordona–Scantlebury’ego N_2 zdefiniowany jest równaniem:

$$N_2 = \frac{1}{2} \sum_i v_i(v_i - 1), \quad (15)$$

gdzie v_i jest stopniem i -tego wierzchołka. Indeks ten w prosty sposób jest powiązany z indeksem Platla oraz indeksem Gutmana M_1 i połową sumy elementów (K) macierzy sąsiedowania A :

$$N_2 = \frac{1}{2} F, \quad (16)$$

$$N_2 = \frac{1}{2} M_1 - K. \quad (17)$$

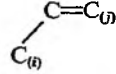
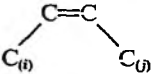
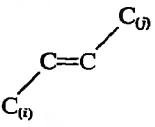
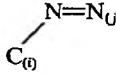
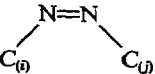
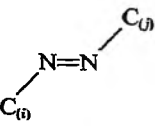
4.2. Indeksy topologiczne oparte na macierzy odległości

Do indeksów topologicznych opartych na macierzy odległości należy zaliczyć m.in.: indeks Wienera, liczbę polarności, indeks Rouvraya–Crafforda, indeks sumy odległości, indeks wiązalności średniej sumy odległości (Balabana), funkcję addytywności Smoleńskiego, wielomian Altenburga, indeks topologiczny średniego kwadratu odległości, indeks Hosoya, wielomian odległości, optyczny indeks topologiczny, stereoizomeryczny indeks topologiczny oraz indeks topologiczny Schultza (MTI). Dalej omówiono te spośród nich, które są przedmiotem najczęstszych badań.

4.2.1. Indeks Wienera [46–49]. 50 lat temu Wiener zapoczątkował badania nad strukturą i właściwościami fizycznymi nasyconych węglowodorów. W tym

celu Wiener zaproponował indeks oparty na odległościach między atomami węgla (są to najkrótsze odległości). Indeks ten jest równy połowie sumy wszystkich elementów pozadiagonalnych macierzy odległości:

Tabela 5. Elementy macierzy odległości dla izomerów o konfiguracji *cis* i *trans* [72]

Ścieżka	Odległość d_{ij}
	1,323
	1,500
	2,291
	1,089
	1,225
	1,925

$$W = \frac{1}{2} \sum_{i,j} d_{ij}. \quad (18)$$

Zaproponowany indeks został rozszerzony również na węglowodory nienasycone oraz inne związki organiczne zawierające heteroatomy, poprzez wprowadzenie nowych elementów macierzy odległości (por. p. 3.3 niniejszej pracy). Wówczas indeks Wienera można przedstawić równaniem:

$$W = \sum_i d_{ii} + \frac{1}{2} \sum_{i,j} d_{ij}, \quad (19)$$

gdzie d_{ii} oraz d_{ij} są elementami zmodyfikowanej macierzy odległości.

Indeks Wienera był przedmiotem szerokiego zastosowań i modyfikacji [41, 50–71]. W celu rozróżnienia izomerów geometrycznych o konfiguracji *cis* (*Z*) i *trans* (*E*) zaproponowano określone odległości między atomami tworzącymi wiązania charakterystyczne dla omawianej izomerii [72]. Odległości między atomami tworzącymi izomerię *cis* lub *trans* podano w tab. 5.

4.2.2. Indeks Rouvray–Crafforda [24, 25]. Rouvray i Crafford zaproponowali indeks R , który oblicza się jako sumę wszystkich elementów macierzy odległości:

$$R = \sum_i d_{ii} + \sum_{i,j} d_{ij}. \quad (20)$$

4.2.3. Liczba polarności [46, 49, 73]. Wiener sformułował również liczbę polarności p . Oblicza się ją jako liczbę par wierzchołków rozdzielonych przez trzy krawędzie lub jako połowę liczby odległości równych trzy w macierzy odległości:

$$p = \frac{1}{2} \sum_i d_{3,i}. \quad (21)$$

4.2.4. Indeks Balabana I_B [24, 74]. Indeks Balabana został zdefiniowany jako:

$$I_B = \frac{q}{(\mu + 1)} \sum_k (s_i s_j)^{-1/2}, \quad (22)$$

gdzie k oznacza krawędzie. We wzorze tym μ jest liczbą cyklomatyczną grafu. Liczba cyklomatyczna grafu G wskazuje na liczbę niezależnych cykli (pierścieni) w G i równa się minimalnej liczbie „cięć” (usunięć krawędzi) potrzebnych do przekształcenia grafu G w drzewo (graf acykliczny). Można ją obliczyć ze wzoru:

$$\mu = q - N + 1, \quad (23)$$

gdzie N jest liczbą atomów w molekuale (bez atomów wodoru), q zaś jest liczbą sąsiedztw (liczba podgrafów utworzonych przez sąsiednie wierzchołki v_i oraz v_j).

Indeks s_i [24] wyrażony wzorem:

$$s_i = \sum_j d_{ij} \quad (24)$$

jest sumą wszystkich elementów w wierszu macierzy odległości. Indeks ten jest miarą połączenia atomu i z resztą molekuly. Stąd wynika użyteczność tego indeksu, która związana jest z wpływem podstawników na fizyczne, chemiczne i biologiczne właściwości molekuł. Zaproponowano również modyfikację indeksu Balabana w postaci tzw. wagowego indeksu topologicznego [75].

4.2.5. Indeksy topologiczne A , 0B , 1B , 2B , 2B_q , 3B , 3B_q , C [41, 72]. Pyka [41, 72] zaproponowała szereg indeksów topologicznych opartych na macierzy odległości:

$$A = \sqrt{\sum_i^{n_m} (S_i)_i^2}, \quad (25)$$

$${}^0B = \sum_i^{n_m} (S_i)_i^{-1/2}, \quad (26)$$

$${}^1B = \sum_i^{n_m} (S_i S_j)_i^{-1/2}, \quad (27)$$

$${}^2B = \sum_i^{n_m} (S_i S_j S_k)_i^{-1/2}, \quad (28)$$

$${}^2B_q = \frac{q}{\mu + 1} \sum_i^{n_m} (S_i S_j S_k)_i^{-1/2}, \quad (29)$$

$${}^3B = \sum_i^{n_m} (S_i S_j S_k S_r)_i^{-1/2}, \quad (30)$$

$${}^3B_q = \frac{q}{\mu + 1} \sum_i^{n_m} (S_i S_j S_k S_r)_i^{-1/2}, \quad (31)$$

gdzie S_i, S_j, S_k, S_r oznaczają sumy odległości odpowiednio i -tego, j -tego, k -tego, r -tego wierzchołka grafu od wszystkich pozostałych wierzchołków grafu; i, j oraz i, j, k oraz i, j, k, r oznaczają sąsiednie wierzchołki w podgrafie l ; q jest liczbą możliwych podgrafów utworzonych przez sąsiednie wierzchołki i, j, k oraz i, j, k, r ; μ zaś jest liczbą cykloatomiczną obliczaną wg równania (23). Zaproponowano również indeks topologiczny C , który jest iloczynem indeksu Randicia drugiego rzędu ${}^2\chi^v$ i indeksu topologicznego 0B :

$$C = {}^2\chi^v \cdot {}^0B. \quad (32)$$

4.2.6. Optyczny indeks topologiczny (I_{opt}) [76–78]. Optyczny indeks topologiczny (I_{opt}) zaproponowany został w celu rozróżnienia izomerów optycznych (d oraz l). Celem jego obliczenia konstruuje się n -wymiarowy wektor kolumnowy $\vec{Z} = \|Z_i\|$, w którym i -ty element odpowiada i -temu wierzchołkowi grafu G . Wszystkim wartościom $i, i = 1, 2, \dots, n$ przyporządkowuje się $Z_i = 1$, z wyjątkiem wierzchołka reprezentującego optycznie aktywny atom węgla. W wypadku atomu węgla o konfiguracji d $Z_i = 1$ i $Z_j = -1$ dla atomu węgla o konfiguracji l . Zakładając, że

$$\begin{aligned} \|S'_i\| &= S', \\ \vec{S} &= D \cdot \vec{Z}, \end{aligned}$$

gdzie D jest macierzą odległości, \vec{Z} oznacza wektor kolumnowy, zaś \cdot oznacza mnożenie macierzy odległości przez wektor kolumnowy, prowadzące do otrzymania wektora kolumnowego \vec{S}' , składającego się z elementów S'_i , oblicza się I_{opt}

$$I_{opt} = \sum_{i=1}^n S'_i. \quad (33)$$

4.2.7. Stereoizomeryczny indeks topologiczny (I_{STI}) [77–79]. Celem obliczenia stereoizomerycznego indeksu topologicznego (I_{STI}) konstruuje się n -wymiarowy wektor kolumnowy $\vec{V} = \|V_i\|$, którego i -ty element odpowiada i -temu wierzchołkowi grafu G . Wszystkim wartościom $i, (i = 1, 2, \dots, n)$ przyporządkowuje się $V_i = \delta_i^y$, z wyjątkiem wierzchołków grafu, których atomy znajdują się w aksjalnej lub ekwatorialnej pozycji oraz w pozycji *cis* lub *trans*. W wypadku atomów w pozycji aksjalnej lub *cis* $V_i = \delta_i^y$; natomiast w pozycji ekwatorialnej lub *trans* $V_i = -\delta_i^y$. W wyniku wymnożenia macierzy odległości D i wektora kolumnowego \vec{V} otrzymujemy wektor kolumnowy \vec{S}'' , który składa się z elementów S''_i . Wówczas stereoizomeryczny indeks topologiczny obliczamy ze wzoru:

$$I_{STI} = \sum_{i=1}^n S''_i. \quad (34)$$

Schultz i wsp. [80] zaproponowali ponadto indeks $D_N^N(G_{vw})$ umożliwiający również rozróżnienie stereoizomerycznych związków organicznych. Podstawo-

wym elementem do obliczania tego indeksu jest sumowanie macierzy odległości D i transponowanej macierzy odległości D^T .

4.2.8. Indeks Hosoyi [25, 81–86]. Hosoya zdefiniował indeks topologiczny dla dowolnego grafu G :

$$Z = \sum_k p(G, k), \quad (35)$$

gdzie $p(G, k)$ jest liczbą dróg, w których k z wszystkich q krawędzi grafu G można wybrać tak, aby żadne dwie drogi nie były sąsiednie (przyległe). Dla drzew (grafów acyklicznych) Z można zdefiniować jako sumę wartości bezwzględnych współczynników wielomianu charakterystycznego (własnego):

$$\sum (-1)^k p(G, k) x^{N-2k} = (-1)^N \det |A - E|, \quad (36)$$

gdzie: N oznacza liczbę atomów, A – macierz sąsiedzowania, zaś E – macierz jednostkową. Hosoya i współpracownicy zestawili w obszernych tabelach wartości indeksu Z dla różnych cyklicznych i acyklicznych grafów.

Analogicznie do wielomianu charakterystycznego wyprowadzonego z macierzy sąsiedztwa, Hosoya wprowadził wielomian odległości

$$(-1)^N \det |D - E| (-1)^N \det |D - E|, \quad (37)$$

wywodzący się z macierzy odległości D .

4.2.9. Indeks topologiczny Schultza (MTI) [87–90]. Opracowany w ostatnich latach „Molekularny Indeks Topologiczny” (MTI – *Molecular Topological Index*) [87] należy do indeksów mało zdegenerowanych. Cechą charakterystyczną tego indeksu jest to, że do jego obliczenia wykorzystujemy zarówno macierz odległości D , jak i macierz sąsiedztwa A . Trzecim elementem potrzebnym do obliczenia indeksu MTI jest wektor \bar{v} , którego elementami są stopnie wierzchołków. Indeks MTI jest sumą elementów iloczynu $\bar{v}(A + D)$ i można go obliczyć ze wzoru:

$$\text{MTI} = \sum_i \left(\sum_j v_j (A_{ij} + D_{ij}) \right), \quad (38)$$

gdzie i jest numerem wiersza, a j jest numerem kolumny.

4.3. Centryczne indeksy topologiczne

Najważniejszymi spośród indeksów centrycznych jest nowa klasa indeksów topologicznych wyprowadzona przez Balabana [91–93] dla acyklicznych grafów na podstawie centrum grafu. Wierzchołek v_i jest centrum grafu, gdy jego maksymalna odległość d_{ij} do każdego innego wierzchołka v_j

w grafie jest minimalna. Centryczny indeks topologiczny B zdefiniowano na podstawie wzoru:

$$B = \sum_{i=1}^N \delta_i^2, \quad (39)$$

gdzie N jest liczbą wierzchołków grafu, δ_i – sekwensem liczb wskazujących liczbę wierzchołków usuniętych w poszczególnych krokach skrawania „drzewa grafu” ku jego centrum.

4.4. Indeksy oparte na teorii informacji

W wypadku cząsteczek związków chemicznych informację rozważa się jako miarę ich różnorodności, urozmaicenia czy też złożoności. Stosujemy wówczas tzw. zawartość informacji w strukturze. Struktura zawiera pewną liczbę elementów N . Elementy te mogą być rozłożone na podzbiory elementów równoważnych; wówczas rozkład prawdopodobieństwa ma postać:

$$\left(\begin{array}{c} N_1, N_2, \dots, N_k \\ p_1, p_2, \dots, p_k \end{array} \right), \quad (40)$$

gdzie $p_i = N_i/N$ oznacza prawdopodobieństwo tego, że dowolnie wybrany element należy do i -tego podzbioru o N_i elementach.

Średnia ilość informacji (\bar{I}), zawarta w każdym elemencie struktury, jest entropią rozkładu prawdopodobieństwa elementów struktury:

$$\bar{I} = - \sum_{i=1}^k p_i \log_2 p_i. \quad (41)$$

Ogólną zawartość informacji (I) w strukturze możemy przedstawić wzorem:

$$I = N\bar{I} = N \log_2 N - \sum_{i=1}^k N_i \log_2 N_i. \quad (42)$$

Wielkości te stanowią podstawę zdefiniowania następujących indeksów:

- a) molekularnych indeksów informacyjnych,
- b) informacyjnych indeksów elektronowych,
- c) informacyjnych indeksów topologicznych [21, 82, 92, 94-97].

4.4.1. Molekularny indeks informacyjny. Molekularny indeks informacyjny I zawiera informację o rodzajach atomów w molekule. Rozkład składu atomowego w molekule jest utworzony z k podzbiorów atomów tego samego pierwiastka. Poszczególne prawdopodobieństwa wynoszą $p_i = N_i/N$, gdzie N_i jest liczbą atomów i -tego pierwiastka w danej molekule, a N – liczbą wszystkich jej atomów. Indeks ten oblicza się ze wzoru (42).

4.4.2. Informacyjny indeks elektronowy. Informacyjny indeks elektronowy zwany jest również elektropią. Charakteryzuje on rodzaj atomów i rozmieszczenie elektronów w molekuale, rozróżniając elektrony w zależności od tego, jaką rolę odgrywają w tworzeniu wiązań chemicznych w połączeniu z poszczególnymi fragmentami struktury molekuly. Oblicza się go ze wzoru:

$$\varepsilon = \log_2(N!) - \sum_{i=1}^k \log_2(N_i!), \quad (43)$$

gdzie N jest ogólną liczbą elektronów w molekuale, rozdzielonych pomiędzy k sfer, N_i — liczbą elektronów w i -tej sferze.

4.4.3. Informacyjne indeksy topologiczne. Informacyjne indeksy strukturalne definiuje się na podstawie macierzy odległości i wzorów (41) i (42):

– Zawartość informacji w odległościach w grafie molekularnym

$$I_D^W = -W \sum_i L_i \frac{k_i}{W} \log_2 \frac{k_i}{W}, \quad (44)$$

gdzie L_i jest liczbą odległości o wartości k_i w grafie molekularnym, W zaś oznacza indeks Wienera. Ponadto, każda odległość k_i pojawia się $2k_i$ razy w macierzy odległości ($1 \leq k_i \leq N-1$).

– Średnia zawartość informacji w odległościach w grafie molekularnym

$$\bar{I}_D^W = \frac{I_D^W}{W}. \quad (45)$$

– Zawartość informacji o rozkładzie odległości w grafie molekularnym

$$I_D^E = \frac{N(N-1)}{2} \sum_i \frac{2L_i}{N(N-1)} \log_2 \frac{2L_i}{N(N-1)}, \quad (46)$$

gdzie L_i jest liczbą odległości o wartości k_i w grafie molekularnym.

– Średnia zawartość informacji o rozkładzie odległości w grafie molekularnym

$$\bar{I}_D^E = \frac{2}{N(N-1)} I_D^E. \quad (47)$$

Indeksy topologiczne oparte na teorii informacji są ciągle rozwijane i udoskonalane [98–102].

Należy również zwrócić uwagę na podstawowe artykuły przeglądowe polskich uczonych na temat indeksów topologicznych. Ekiert, Bojarski i Mokrosz [103] przedstawili zagadnienia dotyczące zastosowania indeksów wiązalności cząsteczkowej w badaniach fizykochemicznych, chromatograficznych, biologicznych i kinetycznych. Szafran [104] przedstawił znaczenie indeksów topologicznych do przewidywania właściwości fizycznych ciekłych związków organicznych.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] L. Euler, *Sci. Am.*, 1953, **189**, 66.
- [2] G. R. Kirchoff, *Ann. Phys. Chem.*, 1847, **72**, 497.
- [3] A. Cayley, *Phil. Mag.*, 1857, **13**, 172.
- [4] N. Deo, *Teoria grafów i jej zastosowania w technice i informatyce*, PWN, Warszawa 1980.
- [5] A. Battersby, *Network Analysis for Planning and Scheduling*, St. Martins Press, New York 1967.
- [6] T. C. Hu, *Integer Programming and Network Flows*, Addison-Wesley, Reading, Mass. 1969.
- [7] H. Frank, I. T. Frisch, *Communications, Transmission, and Transportation Network*, Addison-Wesley, Reading, Mass. 1971.
- [8] C. Berge, A. Ghouila-Houri, *Programming, Games and Transportation Networks*, John Wiley, New York 1965.
- [9] J. R. Abrahams, G. P. Coverley, *Signal Flow Analysis*, Pergamon Press, New York 1965.
- [10] G. Salton, *Automatic Information Organization and Retrieval*, Mac Graw-Hill, New York 1968.
- [11] Z. Harris, *Mathematical Structure of Language*, John Wiley, New York 1968.
- [12] C. Flément, *Applications of Graph Theory to Group Structure*, Prentice-Hall, New York 1963.
- [13] F. Harary, *Graph Theory and Its Applications*, B. Harris, red., Academic Press, New York 1970.
- [14] S. Anderson, *Graph Theory and Finite Combinatorics*, Markham Publishing Company, Chicago 1970.
- [15] A. A. Zykov, *Theory of Graphs and Its Applications*, M. Fiedler, red., Academic Press, New York 1964.
- [16] R. J. Wilson, L. W. Beineke, *Applications of Graph Theory*, Academic Press, London 1979.
- [17] M. Randić, *J. Chem. Educ.*, 1992, **69**, 713.
- [18] A. Graovac, I. Gutman, N. Trinajstić, *Topological Approach to the Chemistry of Conjugated Molecules*, New York 1976.
- [19] J. Kulikowski, *Zarys teorii grafów*, PWN, Warszawa 1986.
- [20] R. J. Wilson, *Wprowadzenie do teorii grafów*, PWN, Warszawa 1985.
- [21] N. Trinajstić, *Chemical Graph Theory*, CRC Press, Boca Raton, Florida 1992.
- [22] Z. Mihalić, N. Trinajstić, *J. Chem. Educ.*, 1992, **69**, 701.
- [23] D. H. Rouvray, B. C. Crafford, *South African J. Sci.*, 1976, **72**, 47.
- [24] M. Barysz, G. Jashari, R. Lall, V. Srivastava, N. Trinajstić, *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*, 1983, **28**, 222.
- [25] A. Balaban, A. Chiriac, I. Motoc, Z. Simon, *Lecture Notes in Chemistry No 15, Steric Fit in Quantitative Structure-Activity Relations*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1980.
- [26] I. Gutman, M. Ruscić, N. Trinajstić, C. F. Wilcox, *J. Chem. Phys.*, 1975, **62**, 3399.
- [27] M. Randić, *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 6609.
- [28] L. B. Kier, L. H. Hall, *Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research*, Academic Press, New York 1976.
- [29] L. B. Kier, W. Murray, M. Randić, L. H. Hall, *J. Pharm. Sci.*, 1976, **65**, 1226.
- [30] L. B. Kier, L. H. Hall, *ibid.*, 1976, **65**, 1806.
- [31] L. B. Kier, L. H. Hall, *ibid.*, 1983, **72**, 1170.
- [32] L. H. Hall, L. B. Kier, W. J. Murray, *ibid.*, 1975, **64**, 1974.
- [33] W. J. Murray, L. H. Hall, L. B. Kier, *ibid.*, 1975, **64**, 1978.
- [34] L. B. Kier, W. J. Murray, L. H. Hall, *J. Med. Chem.*, 1975, **18**, 1272.
- [35] L. B. Kier, L. H. Hall, W. J. Murray, M. Randić, *J. Pharm. Sci.*, 1975, **64**, 1971.
- [36] E. J. Kupchik, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, 1988, **7**, 57.

- [37] E. J. Kupchik, *ibid.*, 1986, 5, 95.
[38] E. J. Kupchik, *ibid.*, 1989, 8, 98.
[39] M. Randić, P. J. Hansen, P. C. Jurs, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1988, 28, 60.
[40] A. H. Stead, R. Gill, A. T. Evans, A. C. Moffat, *J. Chromatogr.*, 1982, 234, 277.
[41] A. Pyka, *J. Planar Chromatogr.*, 1991, 4, 334.
[42] M. Randić, P. J. Hansen, P. C. Jurs, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1988, 28, 60.
[43] L. Pogliani, *ibid.*, 1994, 34, 801.
[44] J. R. Platt, *J. Chem. Phys.*, 1947, 15, 419.
[45] D. Bonchev, O. Mekenyan, J. Fritsche, *Cryst. Growth*, 1980, 49, 90.
[46] H. Wiener, *J. Am. Chem. Soc.*, 1947, 69, 2636.
[47] H. Wiener, *ibid.*, 1947, 69, 17.
[48] H. Wiener, *J. Chem. Phys.*, 1948, 52, 1082.
[49] H. Wiener, *J. Phys. Colloid Chem.*, 1948, 52, 425.
[50] I. Gutman, Y.-N. Yeh, *Math. Slovaca*, 1995, 45, 327.
[51] W. Ch. Shiu, P. Ch. B. Lam, I. Gutman, *Graph Theory Notes of New York*, 1996, XXX, 21.
[52] Z. Mihalić, D. Veljan, D. Amić, S. Nikolić, D. Plavšić, N. Trinajstić, *J. Math. Chem.*, 1992, 11, 223.
[53] I. Lukovits, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1994, 34, 1079.
[54] I. Lukovits, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, 1990, 9, 227.
[55] I. Lukovits, *Reports in Molecular Theory*, 1990, 1, 127.
[56] I. Lukovits, *Int. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp.*, 1992, 19, 217.
[57] I. Lukovits, I. Gutman, *Match*, 1994, 31, 133.
[58] I. Lukovits, *Croat. Chem. Acta*, 1995, 68, 99.
[59] I. Lukovits, *Comput. Chem.*, 1995, 19, 27.
[60] D. J. Klein, I. Lukovits, I. Gutman, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, 35, 50.
[61] S. Nikolić, N. Trinajstić, *Croat. Chem. Acta*, 1995, 68, 105.
[62] I. Gutman, E. Estrada, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1996, 36, 541.
[63] I. Gutman, Y. N. Yeh, S. L. Lee, Y. L. Luo, *Ind. J. Chem.* 1993, 32A, 651.
[64] D. J. Klein, Z. Mihalić, D. Plavšić, N. Trinajstić, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1992, 32, 304.
[65] D. J. Klein, I. Lukovits, I. Gutman, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, 35, 50.
[66] A. Graovac, T. Pisanski, *J. Math. Chem.*, 1991, 8, 53.
[67] M. Juvan, B. Mohar, A. Graovac, S. Klavžar, J. Žerovnik, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, 35, 834.
[68] B. Mohar, T. Pisanski, *J. Math. Chem.*, 1988, 2, 267.
[69] T. Pisanski, J. Žerovnik, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, 34, 395.
[70] D. Bonchev, O. Mekenyan, V. Kamenska, *J. Math. Chem.*, 1992, 11, 107.
[71] D. Plavšić, S. Nikolić, N. Trinajstić, D. J. Klein, *Croat. Chem. Acta*, 1993, 66, 345.
[72] A. Pyka, *J. Planar Chromatogr.*, 1992, 5, 435.
[73] H. Wiener, *J. Chem. Phys.*, 1947, 15, 766.
[74] A. Balaban, *Chem. Phys. Lett.*, 1982, 89, 399.
[75] A. T. Balaban, C. Catană, M. Dawson, I. Niculescu-Duvăz, *Rev. Roum. Chim.*, 1990, 35, 997.
[76] A. Pyka, *J. Planar Chromatogr.*, 1993, 6, 282.
[77] A. Pyka, *J. Serb. Chem. Soc.*, 1997, 62, 251.
[78] I. Gutman, A. Pyka, *ibid.*, 1997, 62, 261.
[79] A. Pyka, *J. Planar Chromatogr.*, 1994, 7, 389.
[80] H. P. Schultz, E. B. Schultz, T. P. Schultz, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, 35, 864.
[81] H. Hosoya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1971, 44, 2332.
[82] A. T. Balaban, I. Motoc, D. Bonchev, O. Mekenyan, *Top. Curr. Chem.*, 1983, 114, 21.

- [83] H. Hosoya, *Int. J. Quant. Chem.*, 1972, **6**, 801.
- [84] H. Hosoya, *J. Chem. Doc.*, 1972, **12**, 181.
- [85] H. Hosoya, *Fibonacci Quart.*, 1973, **3**, 255.
- [86] F. Harary, *Graph Theory*, Addison-Wesley, Reading, Mass. 1972.
- [87] H. P. Schultz, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1989, **29**, 227.
- [88] H. P. Schultz, E. B. Schultz, T. P. Schultz, *ibid.*, 1994, **34**, 1151.
- [89] H. P. Schultz, T. P. Schultz, *ibid.*, 1993, **33**, 240.
- [90] E. Estrada, I. Gutman, *ibid.*, 1996, **36**, 850.
- [91] A. T. Balaban, I. Motoc, *Match*, 1979, **5**, 197.
- [92] A. T. Balaban, *Theor. Chim. Acta*, 1979, **53**, 355.
- [93] D. Bonchev, A. T. Balaban, O. Mekenyan, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1980, **20**, 106.
- [94] N. Trinajstić, *Chemical Graph Theory*, Florida CRC Press, Boca Raton 1983.
- [95] M. Kołaski, J. Nowakowski, J. Włodarz, *Zastosowania informatyki w chemii*, skrypt Uniwersytetu Śląskiego nr 482, Katowice, 1993.
- [96] D. Bonchev, N. Trinajstić, *J. Chem. Phys.*, 1977, **67**, 4517.
- [97] S. C. Basak, V. K. Magnuson, G. J. Niemi, R. R. Regal, *Disc. Appl. Math.*, 1988, **19**, 17.
- [98] M. Hô, R. P. Sagar, V. H. Smith Jr., R. O. Esquivel, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.*, 1994, **27**, 5149.
- [99] M. Hô, R. P. Sagar, J. M. Pérez-Jordá, V. H. Smith Jr., R. O. Esquivel, *Chem. Phys. Lett.*, 1994, **219**, 15.
- [100] R. O. Esquivel, A. L. Rodriguez, *Phys. Rev. A*, 1996, **54**, 259.
- [101] M. Hô, R. P. Sagar, H. Schmider, D. F. Weaver, V. H. Smith Jr., *Int. J. Quant. Chem.*, 1995, **53**, 627.
- [102] M. Hô, R. P. Sagar, D. F. Weaver, V. H. Smith Jr., *Int. J. Quant. Chem.: Quant. Chem. Symp.*, 1995, **29**, 109.
- [103] L. Ekiert, J. Bojarski, J. L. Mokrosz, *Wiad. Chem.*, 1986, **40**, 65.
- [104] M. Szafran, *Wiad. Chem.*, 1993, **47**, 477.

Praca wpłynęła do Redakcji 17 grudnia 1996

**TOPOLOGICZNE SYSTEMY REPREZENTACJI
STRUKTUR CZĄSTECZEK**
**TOPOLOGICAL SYSTEMS FOR STRUCTURAL
REPRESENTATION OF MOLECULES**

Jarosław Tomczak

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*

Abstract

Wstęp

Podstawowe pojęcia teorii grafów

Rozwój pierwszych systemów reprezentacji struktur cząsteczek

Stos połączeń

Tablice połączeń stosowane w Chemical Abstracts Service

Systemy BCT i EBCT

Grafi zredukowane

Tablica połączeń fragmentów

Dwupoziomowe zwarte tablice połączeń

Kodowanie uwzględniające geometrię cząsteczki

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

ABSTRACT

The description of the molecular topology in terms of graph theory is one of the most important aspects of chemical information handling and retrieval. There are two main groups of methods for representation of molecular constitution: linear notations and topological systems. This review presents the history and current trends of topological systems, and their application in existing data bases and computational software.

In this article we refer to topological systems as connection table or matrix representations (and their enhancements) of the topology of chemical substances as contrasted with their representation as linear sequence of symbols (called the linear notation).

The earliest reference to the use of connection-table representations of structure is that of Wheland [4, 5], who has shown that acetaldehyde, for example, could be represented as well by a table of the form of Tab. 2 as by the diagrams *a-c* (Fig. 1). In 1951, Mooers [6] suggested that a chemical structure could conveniently be represented as a tabulation of atoms and bonds. In 1962, Meyer and Wenke [9] employed a six-column table, the columns of which had the significance shown in Tab. 3. The tabular representations of structure developed by Meyer and Wenke are substantially similar to those developed later by Gluck and his colleagues at DuPont [17, 18]. About the same time as the work of Meyer and Wenke, Spialter [11] reported a "new unambiguous universal symbolism" for chemical compounds which he called the Atom Connectivity Matrix (ACM). The ACM is exactly analogous to Wheland's matrix, except that the atom symbols are placed along the principal diagonal, rather than at the heads of columns and rows. The off-diagonal symbols of the ACM can contain bond symbols or other features of structure as desired. Other papers worth to be mentioned of that period are those of Ray and Kirsch [7] from the National Bureau of Standards; Oppler and Norton [8] from the Dow Chemical Company; Dyson, Cossum, Lynch and Morgan [15] and the most important one of Morgan [16] at Chemical Abstracts Service.

Further enhancements of representations of structures can be divided into a several groups:

(a) A compression of information stored in a connection table. A good example can be the connectivity stack proposed by Kudo and Sasaki [19], which is a sequence of elements of the connectivity matrix, obtained by application of special correspondence rules.

(b) Changing the type of data stored within graph vertices and edges. The development in this area is the most spectacular. The main achievements are the Chemical Abstracts Service registry system [20]; the Block-Cutpoint and Extended Block-Cutpoint trees by Hakayama and Fujiwara [21, 22]; Reduced Graphs described by Lynch *et al.* [25] for the GENSAL project; Fragment Connection Table [28] used in the Beilstein system and the Two-Level Compact Connectivity Tables of Wentang *et al.* [30].

(c) A replacement tables and matrices by more effective data structures, like e.g. incidence lists, what was applied for the machine storage for a Weighted Oriented Bond-Valence graphs [32].

WSTĘP

Ogromna liczba istniejących i syntezowanych związków chemicznych wymusiła powstanie wielu baz danych gromadzących dane o ich strukturze oraz właściwościach. Przy tworzeniu takich baz danych jednym z kluczowych problemów jest przełożenie informacji o topologii cząsteczki na postać danych akceptowaną przez systemy baz danych. Proces taki można opisać jako trój-etapowy: najpierw opisuje się konstytucję cząsteczki, używając pojęć teoriografowych, następnie tworzy się reprezentacje maszynowe skonstruowanych typów grafów, a w fazie końcowej implementuje się takie reprezentacje. Etap trzeci jest dobrze opanowany przez teorię i praktykę programowania i nieciekawym z punktu widzenia chemii. Pierwsze dwa etapy decydują o efektywności reprezentacji (mierzonej na przykład szybkością wyszukiwania struktury) i będąc z pogranicza chemii strukturalnej, teorii grafów i programowania, są najciekawsze dla chemików. Z tego też względu będą one omówione w niniejszym artykule. Wyniki badań nad omawianymi problemami wykorzystywane są nie tylko przy tworzeniu baz danych. Znajdują one zastosowanie również w wielkości programów obliczeniowych, wymagających informacji o strukturze i topologii cząsteczek, zwłaszcza z zakresu chemii kwantowej i kombinatorycznej. Rush [1] dzieli zastosowania reprezentacji struktur cząsteczek na dwie główne kategorie: przechowywanie informacji o właściwościach cząsteczek (bazy danych) oraz modelowanie tych własności (programy używane w chemii kwantowej, wizualizacji itp.) Z teoriografowym opisem struktury cząsteczek bezpośrednio związane są problemy algorytmiczne – metody wyszukiwania cykli w grafach, znajdowania podgrafów izomorficznych itd., które są naturalnym uzupełnieniem opisanych dalej struktur danych, ale ich różnorodność i rozległość daleko wykraczają poza temat niniejszego opracowania.

Metody opisu topologii cząsteczek rozwijają się w dwóch kierunkach: notacji liniowej, omówionej już kilka lat temu na łamach „Wiadomości Chemicznych” [2] oraz tzw. systemów topologicznych. Rush [1] definiuje systemy topologiczne jako reprezentacje w postaci tablicy połączeń bądź innej macierzowej. Pojęcie to jednak nie uwzględnia całej gamy rozwiązań, które nie używają macierzy jako reprezentacji maszynowej grafu, a wykorzystują nowsze metody, będące odbiciem rozwoju metod i języków programowania. Na potrzeby niniejszego artykułu zdefiniujemy więc systemy topologiczne jako wszystkie metody reprezentacji cząsteczek, nie będące notacją liniową.

PODSTAWOWE POJĘCIA TEORII GRAFÓW

Celem dokładniejszego omówienia najważniejszych metod reprezentacji struktur cząsteczek wprowadzimy kilka podstawowych pojęć, niezbędnych przy dalszym omawianiu zagadnienia.

Graf G jest zdefiniowany jako para (X, U) , gdzie $X = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$ jest zbiorem wierzchołków, a $U = \{u_1, u_2, \dots, u_m\}$ jest zbiorem krawędzi, które określone są przez iloczyn kartezyjski $U \subseteq X \times X = \{(x, y): x \in X, y \in X\}$. Graf jest *zorientowany*, jeśli jego krawędzie mają wyróżniony kierunek. *Drogą* w grafie G nazywamy sekwencję krawędzi, w której końcowy wierzchołek jednej krawędzi jest wierzchołkiem początkowym następnej. Drogę, która nie przechodzi dwa razy przez tę samą krawędź, nazywamy *cyklem*, jeśli początkowy wierzchołek jest również jej wierzchołkiem końcowym. Zwłaszcza cykl składający się z jednej krawędzi nazywamy *pętlą*. Graf jest *spójny*, jeżeli dwa dowolne wierzchołki można połączyć co najmniej jedną drogą. Liczba krawędzi wychodzących z wierzchołka określana jest jako *stopień (rzęd)* wierzchołka i jest oznaczana przez $\deg x$. *Długość drogi* $x_0 x_1 \dots x_n$ to liczba krawędzi (n) w drodze. *Długość drogi (ścieżki)* między dwoma wierzchołkami x_1 i x_2 nazywana jest *odległością* $d(x_1, x_2)$. Mówimy, że graf G jest *prosty*, jeśli spełnione są dwa warunki: (1) nie ma pętli, (2) dwa dowolne wierzchołki połączone są co najwyżej jedną krawędzią. Dla danego grafu $G = (X, U)$, graf $G' = (Y, (Y \times Y) \cap U)$ z $Y \subset X$ jest jego podgrafem. Spójny graf bez cykli nazywamy *drzewem*. Graf $G = (X, U)$ jest *bigrafem* lub grafem *dwudzielnym*, jeżeli zbiór X może być podzielony na dwa podzbiory $(X = X_1 \cup X_2, X_1 \cap X_2 = \phi)$ tak, że wszystkie krawędzie z U mają jeden wierzchołek końcowy w X_1 , a drugi w X_2 . *Wierzchołkiem centralnym* w grafie spójnym jest ten, który od najdalej położonego wierzchołka grafu dzieli najmniejszą odległość. Wierzchołek x grafu niezorientowanego $G = (X, U)$ jest *punktem artykulacji*, jeśli usunięcie tego wierzchołka i wszystkich incydentnych z nim krawędzi powoduje zwiększenie liczby składowych spójnych grafu. Graf niezorientowany nazywamy *dwuspójnym*, jeśli jest on spójny i nie zawiera punktów artykulacji. Dowolny maksymalny podgraf dwuspójny grafu G nazywamy *składową dwuspójną* lub *blokiem* tego grafu.

Tabela 1. Lista równoważnych pojęć matematycznych i chemicznych używanych do opisu pojęć teoriografowych w chemii

Termin matematyczny	Chemiczny odpowiednik
Wierzchołek	Atom
Krawędź	Wiązanie chemiczne
Graf chemiczny	Wzór strukturalny
Drzewo	Cząsteczka acykliczna
Drzewo dwudzielne	Cząsteczka tautomeryczna
Stopień wierzchołka	Walencyjność atomu
Łańcuch n wierzchołków	n -polien
Cykl n wierzchołków	n -anulen
Liczba cyklomatyczna	Liczba pierścieni
Wielomian charakterystyczny	Wielomian sekularny
Macierz sąsiedowania	Macierz topologiczna

Zwykle struktury związków chemicznych traktowane są jako proste i spójne grafy niezorientowane. W tab. 1 znajduje się przedstawiona przez Rouvraya [3] uproszczona lista pojęć z zakresu teorii grafów i odpowiadających im terminów chemicznych.

ROZWÓJ PIERWSZYCH SYSTEMÓW REPREZENTACJI STRUKTUR CZĄSTECZEK

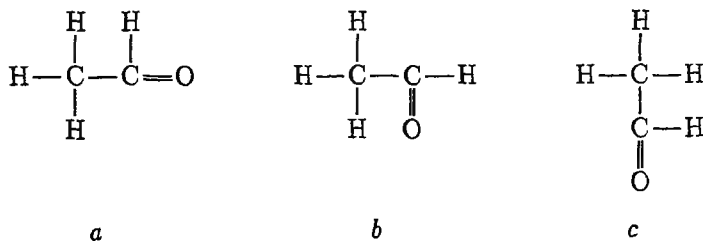
Początkowo topologiczne systemy reprezentacji struktur cząsteczek opierały się wyłącznie na różnego rodzaju tablicach połączeń. Najwcześniejsze użycie takiej reprezentacji znajdujemy u Whelanda, w jego wykładach zaawansowanej chemii organicznej na Uniwersytecie w Chicago [4], które później opublikował w pełnej postaci [5]. Wheland przykładowo pokazał, że acetaldehyd może być reprezentowany zarówno poprzez tablicę połączeń przedstawioną w tab. 2, jak i wzory strukturalne *a-c* (rys. 1), ponieważ znaczenie geometryczne wzorów jest nie większe od tablicy czy pełnej nazwy.

Ten stan rzeczy utrzymał się do 1951 r., kiedy to amerykański matematyk z Cambridge (Massachusetts) Calvin N. Mooers [6] zaproponował reprezentowanie struktur chemicznych przy użyciu tablic atomów i wiązań, umożliwiając tym samym wyszukiwanie żądanych struktur czy ich fragmentów. Jednak sam Mooers nigdy nie zajął się realizacją tego pomysłu.

Kilka lat później ukazały się dwie znaczące prace, w których autorzy stworzyli opisy topologiczne cząsteczek, ale nie udało im się odnieść sukcesu w praktycznych zastosowaniach. Ray i Kirsch [7] z National Bureau of Standards zastosowali reprezentację Mooersa w stworzonym przez siebie systemie wyszukiwania struktur chemicznych. Jako wierzchołki grafu uwzględnili jedynie atomy nie będące wodorami. Niestety, ich program był bardzo powolny

Tabela 2. Tablica połączeń dla acetaldehydu

	C	C	H	H	H	H	O
C	—	1	1	1	1	0	0
C		—	0	0	0	1	2
H			—	0	0	0	0
H				—	0	0	0
H					—	0	0
H						—	0
O							—



Rys. 1. Równoważne wzory strukturalne dla acetaldehydu

i wrażliwy na błędy przy wprowadzaniu danych. W drugiej pracy — Opplera i Nortona [8] z Dow Chemical Company — jako wierzchołków użyto większych fragmentów cząsteczki (bez szczegółowej ich analizy), co powodowało, że system nie był w stanie wyszukiwać wszystkich potencjalnie możliwych struktur.

W 1962 r. Meyer i Wenke [9] przedstawili wyniki swoich prac nad połączeniem i rozszerzeniem przedstawionych reprezentacji tablicowych. Jako danych wejściowych używali fragmentów strukturalnych, które następnie były automatycznie dekodowane na atomy. Zaproponowali tablicę składającą się z sześciu kolumn, których znaczenie przedstawiono w tab. 3. Zakodowali w ten sposób około 1000 struktur i na początku 1959 r. wykonali pierwsze przeszukiwanie takiej bazy na komputerze IBM w Paryżu [10]. Po wykonaniu tego eksperymentu było jasne, że szybkość ówczesnych komputerów była o kilka rzędów za mała oraz że ręczne kodowanie zaproponowanych tablic jest zbyt pracochłonne.

Tabela 3. Reprezentacja tablicowa Meyera i Wenke

Kolumna	Znaczenie
1	Numer atomu (na podstawie oryginalnej struktury)
2	Rodzaj atomu (oznaczenie liczbowe)
3-6	Numery atomów połączonych z atomem, którego numer pojawia się w pierwszej kolumnie danego wiersza

Kolejnym krokiem była praca Spialtera [11], który przedstawił nową metodę opisu struktur chemicznych z zastosowaniem macierzy połączeń atomów (*Atom Connectivity Matrix* — ACM), która jest analogiczna do macierzy Wheelanda, z tą różnicą, że symbole atomów są umieszczane na jej diagonalu, a nie jako opisy wierszy i kolumn. Elementy pozadiagonalne macierzy ACM mogą zawierać inne potrzebne informacje, jak np. symbole wiązań. Spialter dodatkowo wprowadził wielomian charakterystyczny dla macierzy ACM (ACMCP), który początkowo miał służyć jako jednoznaczna reprezentacja struktury, co jednak zostało zanegowane [12, 13]. Dodatkową wadą ACMCP jest to, że na jego podstawie nie można odtworzyć macierzy ACM i może służyć jedynie jako swoisty „numer rejestracyjny”. Później jednak znaleziono prostsze metody wyprowadzania takich numerów „rejestracyjnych” na podstawie struktury [14].

W 1963 r. Dyson, Cossum, Lynch i Morgan opisali metodę tworzenia reprezentacji macierzowej na podstawie notacji IUPAC [15]. Mimo że praca ta była rozwijana dalej przez innych, niewątpliwie Dyson z zespołem jako pierwsi zauważyli rolę reprezentacji macierzowej jako języka komunikacji między różnymi programami.

Najważniejszymi pracami podsumowującymi ten okres były opisy struktur chemicznych zaproponowane przez Morgana z Chemical Abstracts Service [16],

których uaktualniona postać będzie omówiona dalej, oraz Glucka i jego współpracowników (użyli tablicy analogicznej do wprowadzonej przez Meyera i Wenkego) z koncernu DuPont [17, 18]. Stworzyli oni mocne matematyczne podstawy rozważanego problemu i głęboko zbadali problem jednoznaczności reprezentacji struktury.

Modyfikacje wspomnianych klasycznych metod reprezentacji idą w kilku kierunkach:

- (a) kompresji informacji zawartej w całej tablicy połączeń;
- (b) kompresji informacji wewnątrz pojedynczego wierzchołka grafu, poprzez zmianę rodzaju informacji w nim umieszczonej;
- (c) zastąpienie tablic bardziej efektywnymi strukturami, na przykład listami incydencji.

STOS POŁĄCZEŃ

Przykładem metod dokonujących kompresji informacji zawartych w macierzy połączeń jest tzw. stos połączeń, będący pewnym ciągiem elementów tej macierzy. Jeśli a_{ij} są elementami macierzy, to elementy stosu $a_1, a_2, \dots, a_k, \dots$ jednoznacznie im odpowiadają po zastosowaniu pewnych reguł transformacji. Kudo i Sasaki [19] zaproponowali przechowywanie macierzy trójkątnej górnej wierszami (reguła 1) lub kolumnami (reguła 2), czyli:

$$\text{reguła 1: } k = N(i-1) - i(i+1)/2 + j \quad (i < j);$$

$$\text{reguła 2: } k = i + (j-2)(j-1)/2 \quad (i < j),$$

gdzie N jest rzędem macierzy.

Jedynka na stosie oznacza istnienie wiązania między dwoma odpowiednimi atomami, zero — jego brak. Zwykle jedna struktura może być reprezentowana przez kilka różnych stosów połączeń. Przykładowo dla trzech różnych izomerów butanu istnieje 20 różnych stosów połączeń, co przedstawiono w tab. 4. Połączenie między atomami i oraz j jest reprezentowane jako k -ta cyfra stosu, gdzie k jest otrzymywana z reguł transformacji (r_1, r_2). Jeśli cyfrą jest 1, to

Tabela 4. Stosy połączeń dla izomerów butanu

Stos	Zawartość	r1	r2	Stos	Zawartość	r1	r2
S1	111000	1	2	S11	011100	3	3
S2	110100	2	1	S12	011010	3	3
S3	110010	1	2	S13	011001	3	3
S4	110001	2	1	S14	010110	3	3
S5	101100	1	2	S15	010101	3	3
S6	101010	2	1	S16	010011	3	3
S7	101001	1	2	S17	001110	3	3
S8	100110	2	1	S18	001101	3	3
S9	100101	1	2	S19	001011	3	3
S10	100011	2	1	S20	000111	3	3

występuje połączenie między i a j , jeśli 0 – połączenia brak. Liczby 1, 2, 3 w kolumnach r1, r2 oznaczają odpowiednio izomery butanu: izobutan, metylocyklopropan oraz n -butan.

Jak widać, jeden stos może reprezentować różne cząsteczki, zależnie od reguł transformacji, jak również jedna cząsteczka może być reprezentowana przez różne stopy. Aby móc określić daną cząsteczkę, wprowadzono jednoznaczny regułę kanonizacji, dzięki której można wybrać jeden stos opisujący daną strukturę przy danej regule transformacji. Reguła wybiera stos, który potraktowany jako liczba dziesiętna ma największą wartość, w przypadku izomerów butanu pozostają stopy S1, S2, S3.

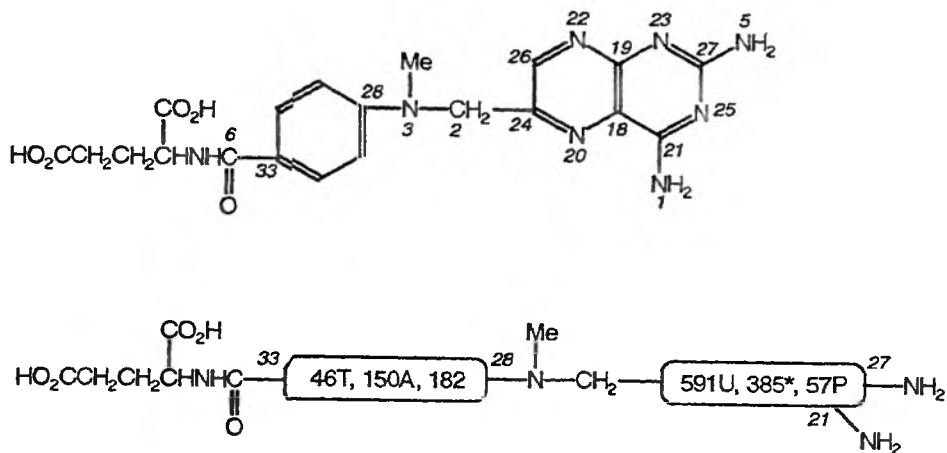
TABLICE POŁĄCZEŃ STOSOWANE W CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE

Większość metod opiera się jednak na umieszczaniu w wierzchołkach grafu całych podstruktur zamiast pojedynczych atomów. Różnią się one między sobą przyjętymi kryteriami definiowania fragmentów molekularnych.

Jednym z największych projektów mających na celu m.in. gromadzenie struktur cząsteczek jest Chemical Abstracts Service (CAS). Każda substancja w systemie CAS jest reprezentowana przez tzw. unikatowy chemiczny rekord rejestracji (*Unique Chemical Registry Record*), którego jedną z czterech składowych jest informacja o topologii [20]. Jednoznaczna tablica połączeń opisuje wierzchołki acykliczne (nie należące do cykli w grafie) oraz połączenia, wiązania między nimi. Wierzchołki cykliczne lub pierścieniowe są zdefiniowane poprzez swoje identyfikatory (*Ring Identifier*). Zdefiniowano również ich połączenia z innymi wierzchołkami cyklicznymi lub acyklicznymi. Konwersja struktury polega na przypisaniu poszczególnym pierścieniom i układom cyklicznym ich identyfikatorów w systemie, które są traktowane przez system jako adresy maszynowe podstruktur, co przykładowo pokazano na rys. 2. Ostatecznie jednoznaczna tablica połączeń składa się z:

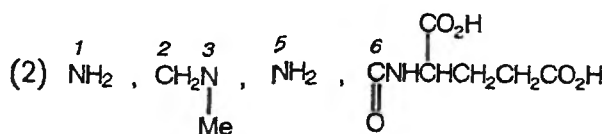
- (1) listy identyfikatorów pierścieni,
- (2) reprezentacji atomów i wiązań acyklicznych w postaci tablicy połączeń,
- (3) połączeń pomiędzy pierścieniowymi i acyklicznymi składowymi strukturami,
- (4) odnośnik dla wierzchołków pierścieniowych wiążący numerowanie pierścieni z numerowaniem w ramach danej substancji.

Pierścienie przechowywane są w osobnym pliku w postaci jednoznacznej tablicy połączeń. Dla podanej struktury pełną tablicę połączeń pokazano na rys. 3, a na rys. 4 – informacje o pierścieniach przechowywane w osobnym pliku.



Rys. 2. Konwersja przykładowej struktury w CAS

(1) 591U.385*.57P
46T.150A.182



(3) 1-21, 2-24, 3-28, 5-27, 6-33

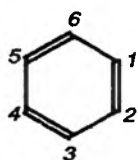
(4) 591U.385*.57P

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
18	19	21	20	22	23	25	24	26	27

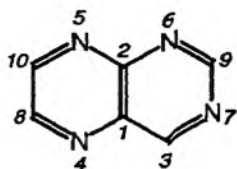
46T.150A.182

1	2	3	4	5	6
28	29	30	31	32	33

Rys. 3. Jednoznaczna tablica CAS dla struktury z rysunku 2



Identyfikator pierścienia 46T.150A.182



Identyfikator pierścienia 591U.385*.57P

Rys. 4. Informacja o układach cyklicznych przechowywana niezależnie od struktury

SYSTEMY BCT I EBCT

Przykładem metody bardziej eleganckiej matematycznie jest kodowanie za pomocą drzew blokowo-złączowych BCT (*Block-Cutpoint Tree*) [21] i poszerzonych drzew blokowo-złączowych EBCT (*Extended Block-Cutpoint Tree*) [22].

Twórcy struktur BCT i EBCT, tak jak i inni, zauważyli, że przy rozpoznawaniu struktur chemicznych bezpośrednio połączenia między atomami nie zawsze muszą być dostrzegane. Twierdzą, że między pojedynczymi atomami a całą cząsteczką można wyróżnić wiele pośrednich jednostek, które nazwali blokami. W odróżnieniu jednak od większości rozwiązań prezentowanych w tym artykule, metoda Hakayamy i Fujiwary jest precyzyjnie zdefiniowana przy użyciu teorii grafów i nie wymaga bazy wiedzy o fragmentach strukturalnych cząsteczek i arbitralnego ich wyboru.

Celem dokładniejszego omówienia ich reprezentacji należy jednak wprowadzić kilka dodatkowych pojęć teoriografowych. Drzewo blokowo-złączowe BCT jest zdefiniowane następująco dla danego grafu G : $T(Z, W)$ jest grafem blokowo-złączowym grafu G (oznaczanym jako $bc(G)$), jeśli:

(1) $Z = C \cup B$ jest zbiorem wierzchołków, gdzie $C = \{c_1, \dots, c_n\}$ jest zbiorem wszystkich złączy, a $B = \{B_1, \dots, B_m\}$, to zbiór wszystkich bloków grafu G (B_i oznacza zbiór wierzchołków bloku),

(2) $W = \{w_{ij}, \dots, w_{ij}\} = \{(B_i, c_j) : B_i \in B, c_j \in C, c_j \in B_i\}$.

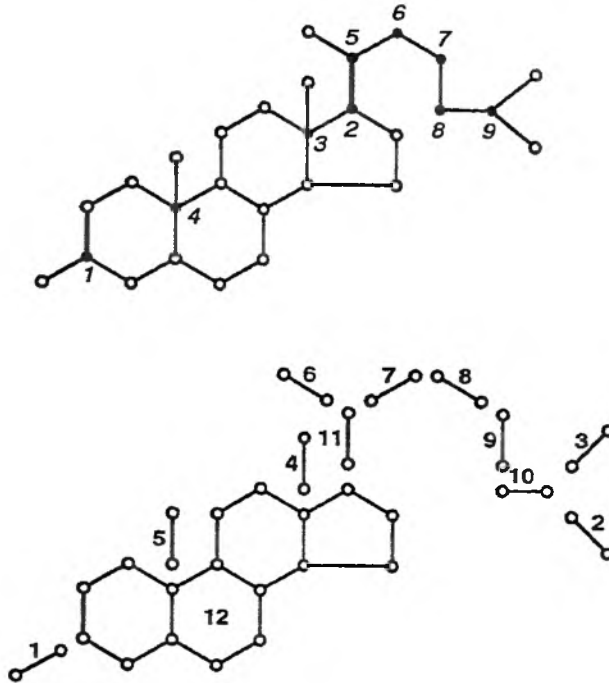
Graf $bc(G)$ ma następujące własności: (1) jest grafem dwudzielnym, (2) ma tylko jeden wierzchołek centralny, (3) jest drzewem, (4) wierzchołki terminalne są blokami. Ze względu na własność (3) graf blokowo-złączowy nazywany jest drzewem (BCT).

Przykładowy podział na bloki grafu reprezentującego cholesterol przedstawiono na rys. 5. Na rys. 6 przedstawiono reprezentację BCT dla tej samej cząsteczki; węzły są oznaczone czarnymi kółkami, bloki – kółkami pustymi.

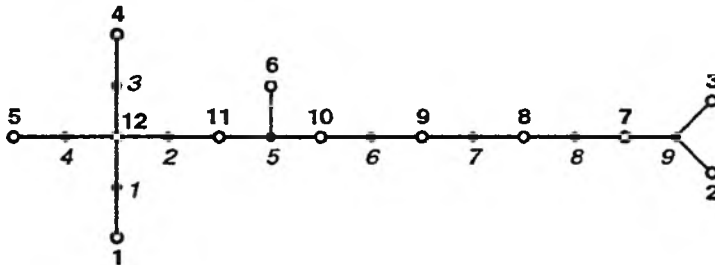
Jako reprezentację maszynową drzew BCT zaproponowano formę kanoniczną dwudzielnej tablicy połączeń BCT (zwanej tablicą BCT). Dla grafu z m blokami i n węzłami numery wierszy macierzy $m \times n$ odnoszą się do bloków, a numery kolumn – do złączy. Tablicę BCT dla cząsteczki cholesterolu przedstawiono w tab. 5. Bloki przechowywane są w osobnym słowniku bloków.

Formę kanoniczną tablicy BCT otrzymuje się następująco:

- (1) tworzenie formy kanonicznej BCT
 - (a) korzeń BCT jest przypisany do wierzchołka centralnego,
 - (b) dany wierzchołek x należy do poziomu i , jeśli $d(x, x_0) = i$, gdzie x_0 jest korzeniem. (Korzeń jest jedynym wierzchołkiem na poziomie 0.)



Rys. 5. Podział grafu reprezentującego cholesterol na bloki i odpowiadający mu graf



Rys. 6. Reprezentacja BCT dla cholesterolu

(c) wierzchołki na poziomie i są ustawione w kolejności wzrastającej wartości i wg następujących reguł:

reguła 1: wierzchołki mające wspólnego przodka stanowią grupę. Wierzchołki w grupie są ustawione w sposób ciągły na następnym poziomie za przodkiem.

reguła 2: wierzchołki w grupie są ustawione w malejącej kolejności liczby ich potomków.

reguła 3: jeśli dwa wierzchołki w grupie mają tę samą liczbę potomków, brane są pod uwagę poddrzewa, których korzeniami są te dwa wierzchołki. Leksykograficzne porównanie dwóch sekwencji potomków w obu poddrze-

Aby wyznaczyć tablicę BCT, należy najpierw wyznaczyć podział grafu na bloki i złącza. Twórcy BCT opierają się na algorytmach Harary'ego [23].

Reprezentacja EBCT (*Extended Block-Cutpoint Tree*) jest poszerzeniem BCT uwzględniającym formuły Markusha, zwane też strukturami ogólnymi. Formuły Markusha są związane szczególnie z prawami patentowymi [24]. Składają się z dwóch rodzajów części: części stałej i części zmiennych, zwanych podstawnikami (*substituents*). Grupa Markusha to zbiór różnych podstawników, z których jeden jest połączony z częścią stałą albo inną częścią zmienną struktury. Przykładowa struktura Markusha przedstawiona jest na rys. 8.

Rozszerzona reprezentacja BCT dla formuł Markusha opisuje część stałą formuły jako BCT, a każdą grupę Markusha traktuje jako wierzchołek odnoszący się do bloku, zwany wierzchołkiem ogólnym (*generic node*). Tak więc w EBCT zbiór wierzchołków bloków składa się z wierzchołków specyficznych i ogólnych. Autorzy wyróżniają trzy typy połączeń między wierzchołkami, zależnie od typu struktury współdzielonej przez wierzchołki (rys. 9):

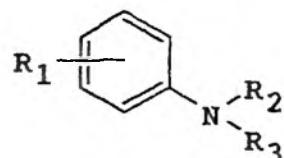
(a) typ mostkowy (*bridge type*) – dwa wierzchołki połączone są mostkiem, nie mają wspólnych atomów;

(b) typ spiro (*spiro type*) – dwa wierzchołki mają wspólny atom;

(c) fuzja (*fusion type*) – dwa wierzchołki dzielą więcej niż jeden atom.

Połączenia między opisanymi wierzchołkami są reprezentowane przez rozszerzoną macierz połączeń (ECM – *Extended Connectivity Matrix*). i -ty wiersz ECM opisuje, jak i -ty wierzchołek połączony jest z pozostałymi. Element C_{ij} zawiera informację o typie i miejscu przyłączenia wierzchołków i oraz j . Położenie połączenia jest identyfikowane przez jedną albo kilka liczb przypisanych atomowi (wierzchołkowi) i . Istnieją cztery typy wyrażen na elementy C_{ij} przedstawione w tab. 7, gdzie d_i ($i = 1, 2, \dots$) wskazuje numer pozycji.

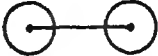

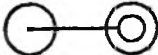
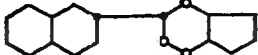

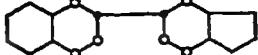







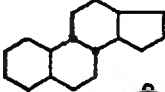

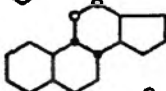

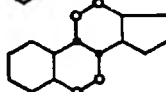
Przykładowa reprezentacja EBCT dla struktury ogólnej przedstawiona jest na rys. 10.



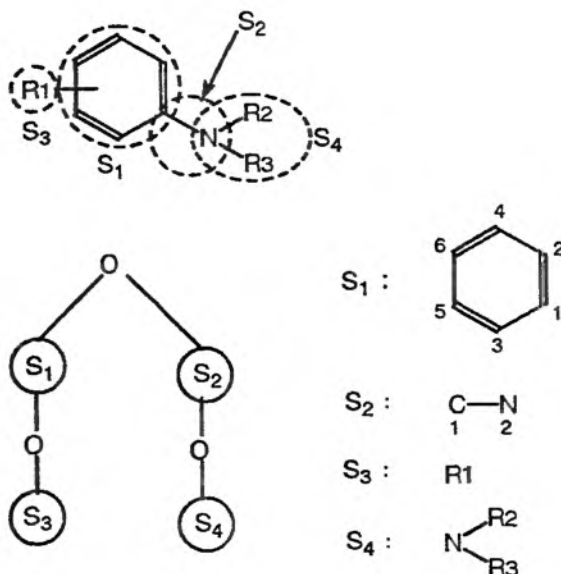
Rys. 8. Przykładowa formuła Markusha. $R_1 = \{\text{alkil [1-4]}\}$; $R_2 = \{\text{H, cykloparafina [3-6]}\}$; $R_3 = \{\text{H, alkoksy}\}$

Tabela 7. Cztery rodzaje elementów ECM (C_{ij})

Typ	Wyrażenie
Specyficzny	d_1
Mostkowy	$b(d_1, \dots, d_k)$
Spiro	$s(d_1, \dots, d_l)$
Fuzja	$f((d_{11}, \dots, d_{1n}), \dots, (d_{m1}, \dots, d_{mn}))$

Typ połączenia	Typ pozycji zbioru	Przykłady
Mostkowy		
		
		
Spiro		
		
		
Fuzja		
		
		

Rys. 9. Możliwe połączenia w EBCT



Rys. 10. Reprezentacja EBCT struktury ogólnej

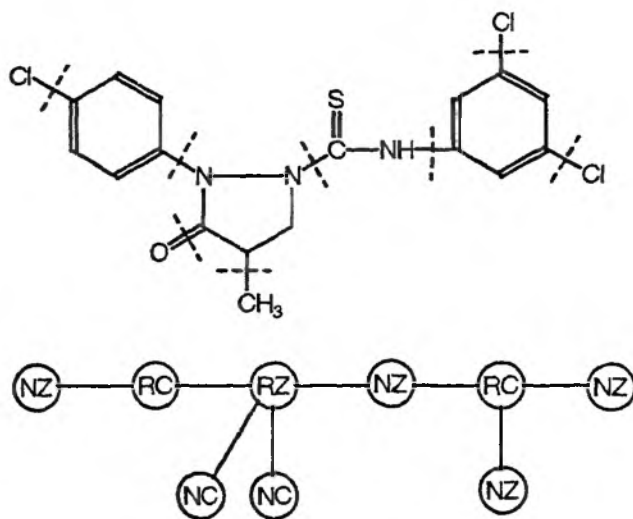
GRAFY ZREDUKOWANE

Inną metodą modyfikacji postaci grafu molekularnego jest redukcja grafu opisana przez Lyncha i in. [25]. Ich zdaniem redukcja grafu umożliwia uogólnienie pewnych cech struktury chemicznej, zarówno ogólnych, jak i specyficznych. Celem takiej redukcji jest otrzymanie grafu z mniejszą liczbą wierzchołków, które mogą być szybciej przeszukiwane. Znalezione struktury w postaci grafów zredukowanych są następnie poddane pełnej analizie. Autorzy proponują dwie główne metody redukcji:

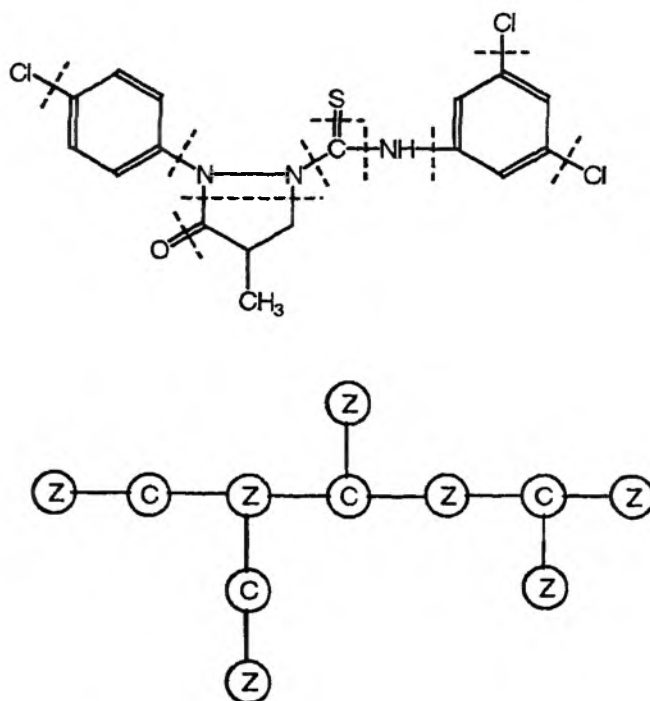
(a) Redukcja na podstawie podziału składników grafu chemicznego na liniowe i pierścieniowe (rys. 11). Oznaczenia: NC – układ acykliczny z atomami węgla, NZ – układ acykliczny zawierający heteroatomy, RC – układ pierścieniowy bez heteroatomów, RZ – układ pierścieniowy z heteroatomami.

(b) Redukcja na podstawie agregacji ciągłych zespołów atomów węgla lub heteroatomów w pojedyncze wierzchołki (rys. 12); Oznaczenia: C – pojedynczy atom węgla lub agregat atomów węgla, Z – pojedynczy heteroatom bądź agregat.

Obie metody redukcji zakładają, że (a) pomija się atomy wodoru, (b) w wypadku redukcji do grafu pierścień/niepierścień pierścienie składają się wyłącznie z atomów pierścienia i wewnętrznych wiązań (difenyl np. jest trakto-



Rys. 11. Redukcja grafu poprzez podział składowych na pierścieniowe i acykliczne



Rys. 12. Redukcja grafu według podziału na atomy węgla i heteroatomy

wany jako dwa połączone cyklicznie wierzchołki), (c) agregaty heteroatomów wielokrotnie połączone z agregatami węglowymi mogą tworzyć pierścienie co najmniej czteroelementowe.

Grafy zredukowane są szeroko zastosowane w badaniach w ramach projektu GENSAL [26, 27], dotyczącego kodowania informacji chemicznej do celów patentowych.

TABLICA POŁĄCZEŃ FRAGMENTÓW

Jeszcze inną metodę redukcji grafu za pomocą tablic połączeń fragmentów (*Fragment Connection Table* – FCT) zastosowano w systemie Beilsteina [28]. Częsteczka dzieli się na mniejsze fragmenty aż do momentu, gdy można je dokładnie zlokalizować w bibliotece systemu. Punkty fragmentacji traktowane są jako tzw. wierzchołki fragmentaryczne grafu (*fragment vertices*) i oznaczone numerami ich atomów. Połączenia między wierzchołkami fragmentarycznymi są traktowane jako krawędzie grafu i oznaczone liczbą pośrednich atomów węgla. Samotne atomy węgla, łańcuchy węglowe oraz pierścienie węglowe są grafami punktowymi. Wszystkie możliwe rodzaje wierzchołków przedstawiono w tab. 8.

Tabela 8. Rodzaje wierzchołków w FCT

Typ	Znaczenie
V1	Łańcuch węglowy
V2	Połączone łańcuchy węglowe
V3	Heteroatom lub grupa heteroatomów w otwartym łańcuchu
V4	Pierścień węglowy
V5	Połączenie pierścienia z łańcuchem
V6	Połączenie dwóch pierścieni
V7	Heteroatom w pierścieniu

Aby dokonać pełnego opisu cząsteczki, trzeba dodatkowo uwzględnić wartościowości wiązań (tab. 9) oraz oddalenie wiązania od wierzchołka głównego.

Na podstawie takich informacji można utworzyć tablicę połączeń fragmentów. Aby jednak uzyskać jednoznaczną tablicę typu FCT, należy dodatkowo wprowadzić kanoniczne numerowanie wierzchołków. Najniższy numer przypisany jest wierzchołkowi, który ma:

1. największą wartość wierzchołka,
2. największą wartość liczby atomowej lub grupy funkcyjnej,

Tabela 9. Wartościowości wiązań

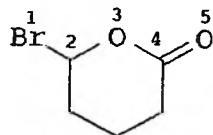
Typ	Znaczenie
B1	Wiązanie pojedyncze
B2	Wiązanie podwójne
B3	Wiązanie potrójne
B4	Wiązanie zdelokalizowane
B5	Wiązanie niekowalencyjne
B6	Ładunek dodatni
B7	Ładunek ujemny

3. największą wartość liczby atomowej wierzchołka liganda,
4. najwyższy numer atomu węgla w wierzchołku,
5. najwyższy numer atomu węgla w wierzchołku liganda,
6. najwyższy numer sąsiadującego wierzchołka.

Przykładowo dla struktury przedstawionej na rys. 13: (1) typ wierzchołka V wprowadza podział na trzy klasy (V3, V5, V7), (2) liczba atomowa dzieli je na cztery klasy (separuje atomy nr 1 oraz 5), wreszcie (3) liczba atomowa sąsiedniego liganda wprowadza ostateczny podział na pięć klas. Kolejne etapy przenumerowania FCT przedstawiono w tab. 10.

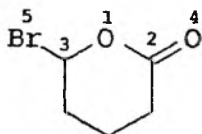
Tabela 10. Kolejne etapy przenumerowywania struktury reprezentowanej przez FCT

Numer	Typ V	1. porządek	Atom	2. porządek	Atom	3. porządek
1	3	3	Br	4		5
2	5	2	C	2	Br	3
3	7	1	O	1		1
4	5	2	C	2	O	2
5	3	3	O	3		4



Rys. 13. Przykładowa struktura i jej arbitralna numeracja

Rys. 14 przedstawia strukturę przenumerowaną zgodnie z opisanymi regułami, a tab. 11 – otrzymaną tablicę połączeń fragmentów. W tablicy tej LL oznacza wierzchołki ligandów o najniższych numerach, do których istnieje droga z danego wierzchołka, C no. – liczby przystających atomów węgla, a BV – walencyjność wiązania.



Rys. 14. Struktura przenumerowana poprawnie

Tabela 11. FCT dla przykładowej struktury

Numer	Atom	LL	C no.	BV's
1	O			
2	C	1	0	1
3	C	1,2	0,3	1,1
4	O	2	0	2
5	Br	3	0	1

DWUPOZIOMOWE ZWARTE TABLICE POŁĄCZEŃ

Metoda zaproponowana przez Feibaiego i in. [29] jest swoistym połączeniem systemów topologicznych z notacją liniową. Pierwotnie zaproponowali oni zwartą tablicę połączeń [29] (*Compact Connectivity Table*), zbudowaną z wierzchołków podstawowych; wyróżniono trzy rodzaje wierzchołków:

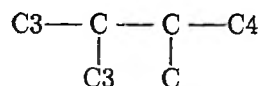
1) atomowe – opisane za pomocą standardowych oznaczeń pierwiastków,

2) wierzchołki kodów liniowych – grupy takie, jak OH, NO₂, COOH, SO₃H, CO, SO₂, NH, NH₂, PO; nierozgałęzione węglowodory są opisane poprzez ogólny wzór: C_n = d₁, d₂, ... #t₁, t₂, ..., gdzie n oznacza liczbę atomów węgla, d₁, d₂, ... są pozycjami wiązań podwójnych, a t₁, t₂, ... – potrójnych. Przykładowo 1,3-butadien może być zapisany jako C₄ = 1,3. Rozgałęzione węglowodory dzielone są na dwa rodzaje fragmentów: pojedynczy atom węgla z trzema lub czterema łańcuchami oraz proste łańcuchy węglowe. Przykładowo zapis 5-metylo-4-propylo-nonanu przedstawiono na rys. 15. Związki mostkowe są opisane jako: L_n = d₁, d₂, ... [b₁, b₂, ...], gdzie n jest całkowitą liczbą pierścieni, a d₁, d₂, ... wskazują na położenie wiązań podwójnych. Numery atomów tworzących mostki oznaczone są w nawiasach kwadratowych: [b₁, b₂, ...]. Jeśli zamiast węgla występują heteroatomy, używa się notacji ZXx₁, x₂, ..., gdzie X jest oznaczeniem heteroatomu, a x₁, x₂, ... są jego położeniami w pierścieniu. Na przykład bicyklo[2.2.1]hept-2-en można zapisać jako L₇ = 2[2,2,1], a 2-oksa-7-tia-5-azabicyclo[2.2.2]octan jako L₈ZO₂S₇N₅[2,2,2].

3) wierzchołki graficzne – związki wielocykliczne, które są dekodowane kody jako liniowe.

Cała struktura może być reprezentowana przez tablicę połączeń wierzchołków podstawowych (*Basic Node Connectivity Table*, *BNC Table*), składającą się z czterech jednowymiarowych tablic; pierwsza z nich przechowuje wierzchołki podstawowe, a trzy pozostałe powiązania pomiędzy tymi wierzchołkami. Struktura przykładowego barwnika została przedstawiona na rys. 16a, a odpowiadająca jej tablica BNC w tab. 12. W dodatkowej pierwszej kolumnie umieszczono numer wierzchołka, w drugiej sam wierzchołek, w trzeciej (C1) tablicę pozycji połączeń (cyfra przed kropką jest numerem wierzchołka podstawowego umieszczonego na początku wiązania, cyfra za kropką – numer pozycji w pierścieniu), w czwartej (C2) – wierzchołek podstawowy na drugim końcu wiązania i jego pozycja w pierścieniu, wreszcie CN oznacza typ wiązania, cyfry 1, 2, ..., 6 oznaczają odpowiednio wiązanie pojedyncze, podwójne, potrójne, zjonizowane, koordynacyjne i aromatyczne.

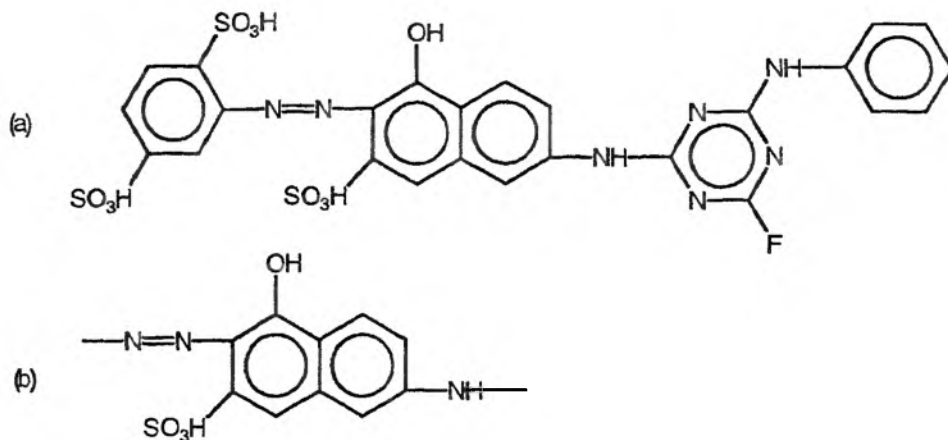
Dalszym rozszerzeniem tablic BNC są tablice połączeń rozszerzonych wierzchołków [30] (*Expanded Node Connectivity Table*), w których



Rys. 15. Zapis struktury 5-metylo-4-propylo-nonanu z użyciem pojęcia wierzchołków podstawowych

Tabela 12. Tablica BNC dla struktury z rysunku 16a

Numer	Wierzchołek	C1	C2	CN
1	A	1.2	2	1
2	N:N	1.1	8	1
3	A2	1.4	9	1
4	NH	2	3.7	1
5	AZN246	3.3	4	1
6	NH	3.6	10	1
7	A	3.8	11	1
8	SO ₃ H	4	5.1	1
9	SO ₃ H	5.3	6	1
10	SO ₃ H	5.5	12	1
11	OH	6	7.1	1
12	F			



Rys. 16. (a) Struktura przykładowej cząsteczki, (b) fragment użyty jako wierzchołek rozszerzony

wprowadzono wierzchołki rozszerzone. Są one kodowane jako wierzchołki podstawowe z dwoma lub więcej gałęziami w połączeniu z ich pierwszą warstwą wierzchołków podstawowych. Fragment struktury przedstawiony na rys. 16b może być opisany przez wierzchołek rozszerzony następującej postaci: A2;1-OH,2-N:N,3-SO₃H,6-NH, gdzie A2 jest wierzchołkiem podstawowym reprezentującym pierścień naftalenu, człony po średniku reprezentują cztery sąsiadujące wierzchołki podstawowe i składają się z trzech części: (1) pozycji przyłączenia, (2) symbolu typu wierzchołka, (3) listy dalszych przyległych wierzchołków. Wierzchołek rozszerzony jest więc rodzajem podstruktury dokładnie ukazującej połączenia atomu centralnego (grupy atomów lub pierścienia) z przyległymi doń podstawnikami. Tablica połączeń rozszerzonych wierzchołków składa się również z czterech kolumn, pierwsza z nich opisuje wierzchołki rozszerzone, a trzy pozostałe – połączenia pomiędzy nimi (ECN1 i ECN2 – numery wierzchołków na obu końcach wiązań, ECN – typ wiązań). W tab. 13 przedstawiono tablicę ENC reprezentującą tę samą strukturę co tablica BNC w tab. 12.

Macierz połączeń wygenerowana arbitralnie może nie być unikatowa i wymagane jest sprowadzenie jej do postaci kanonicznej. Celem uniknięcia

Tablica 13. Tablica ENC dla struktury z rysunku 16

Numer	Wierzchołek rozszerzony	N	EC1	EC2	ECN
1	A;1-SO ₃ H,2-N:N,4-SO ₃ H	1	1	2	1
2	N:N;1-A,1-A2	2	2	3	1
3	A2;3-NH,6-SO ₃ H,7-N:N,8-OH	3	3	4	1
4	NH;1-A2,1-AZN246	4	4	5	1
5	AZN246;1-NH,3-NH,5-F	5	5	6	1
6	NH;1-A,1-AZN246				

redundancji macierzy należy przenieść wierzchołki rozszerzone na podstawie pięciu podanych poniżej atrybutów.

(1) Kod wierzchołka (*Node Code* – NC) liczba całkowita przypisana wierzchołkowi na podstawie porządku alfabetycznego.

(2) Liczba rozgałęzień (*Branch Number* – BN) dla danego wierzchołka.

(3) Wszechstronny kod wiązań (*Bond Comprehensive Code* – BCC) charakteryzuje wszystkie wiązania danego wierzchołka i jest zdefiniowany następująco:

$$BCC = 0,1N_1 + N_2 + 2,5N_3 + 3N_4 + 5N_5 + 8N_6,$$

gdzie N_1, N_2, \dots, N_6 są liczbami wiązań pojedynczych, podwójnych itd., wychodzących z danego wierzchołka.

(4) Kod przystających wierzchołków (*Adjacency Node Code* – ANC). Jest on następująco zdefiniowany przez uporządkowane kody sąsiadujących wierzchołków ($NC_1 > NC_2 > NC_3 > \dots$):

$$ANC = NC_1 + NC_2/10^2 + NC_3/10^3 + \dots + NC_i/10^2(i-1).$$

(5) Kod przystających gałęzi (*Adjacency Branch Code* – ABC) zdefiniowany jako:

$$ABC = BN_1 + BN_2/10 + BN_3/10^2 + \dots + BN_i/10^{i-1}.$$

gdzie BN_i są liczbami rozgałęzień, przy czym $BN_1 > BN_2 > BN_3 > \dots$

Kanonizacja tablicy ENC jest prowadzona zgodnie z następującą procedurą:

(1) najpierw wyszukuje się główny wierzchołek zgodnie mający maksymalną wartość pierwszego z możliwych atrybutów: BN, NC, BCC, ANC, ABC.

(2) Następnie spośród sąsiadów głównego wierzchołka wybiera się następny, stosując te same reguły.

(3) Analogicznie postępuje się dla pozostałych wierzchołków.

Postać kanoniczną tablicy ENC dla struktury z rys. 16 przedstawiono w tab. 14.

Numery pozycji w pierścieniu również muszą być skanonizowane. Algorytm normalizacji pozycji opiera się na następujących regułach:

(a) minimalny numer pozycji heteroatomu z sekwencji O, S, N, ...,

Tabela 14. Postać kanoniczna tablicy ENC dla struktury z rys. 16

Numer	Wierzchołek rozszerzony	N	EC1	EC2	ECN
1	A2;3-NH,6-SO3H,7-N:N,8-OH	1	1	2	1
2	N:N;1-A,1-A2	2	1	3	1
3	NH,1-A2,1-AZN246	3	2	4	1
4	A;1-SO3H,2-N:N,4-SO3H	4	3	5	1
5	AZN246;1-NH,3-NH,5-F	5	5	6	1
6	NH;1-A,1-AZN246				

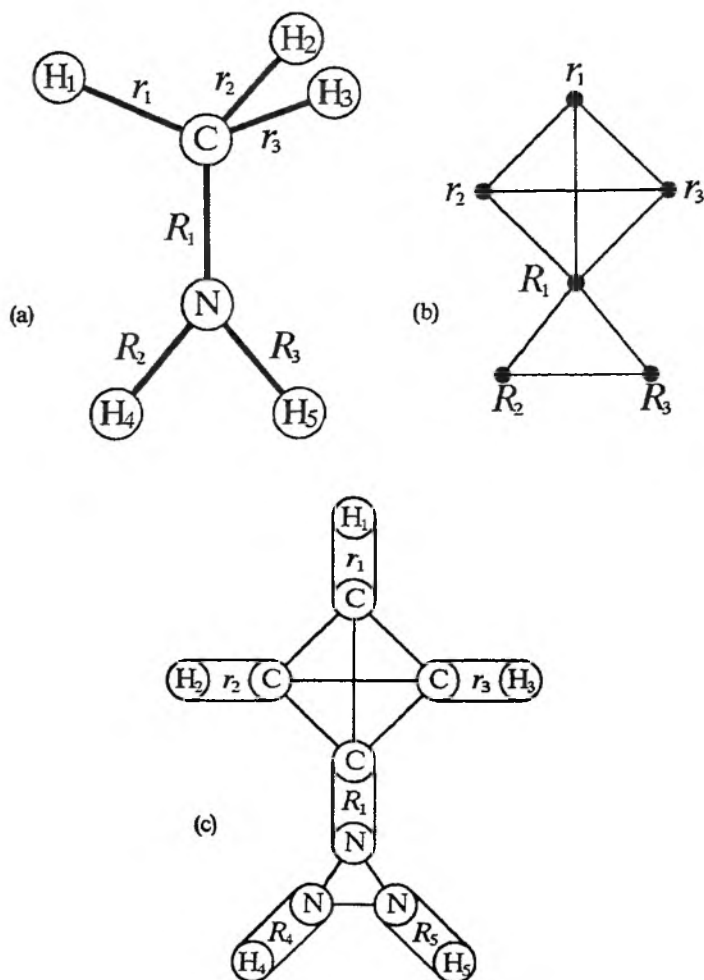
(b) minimalny numer pozycji podwójnego wiązania,

(c) minimalny numer pozycji podstawników.

Reprezentacja ta została zaimplementowana i wykorzystana między innymi do komercyjnej bazy danych barwników [31].

KODOWANIE UWZGLĘDNIAJĄCE GEOMETRIĘ CZĄSTECZKI

Niektóre z metod reprezentacji informacji topologicznej próbują uwzględnić dane o geometrii molekuly, co umożliwia tworzenie efektywniejszego oprogramowania obliczeniowego. Przykładem takiej metody są grafy WBV (*Weighted Bond-Valence*) i WOBV (*Weighted Oriented Bond-Valence*) [32], których



Rys. 17. Struktura metyloaminy (a) oraz odpowiadający jej graf WBV (b) i WOBV (c)

wierzchołkami są wiązania (w nich zakodowana jest informacja o długości wiązań), a ważone krawędzie opisują kąty pomiędzy wiązaniami. W grafie WOBV dodatkowo każdy wierzchołek (wiązanie) jest zorientowany, tzn. stanowi swoisty dwuwierzchołkowy podgraf, zbudowany z atomów tworzących wiązanie. Na rys. 17 przedstawiono strukturę cząsteczki metyloaminy (a) oraz odpowiadające jej grafy WBV (b) oraz WOBV (c). Reprezentację maszynową opisanych grafów zrealizowano poprzez zdublowaną listę incydencji. Metoda została zastosowana do obliczania wartości elementów macierzy energii kinetycznej G , gdzie z jednej strony grafy były przeszukiwane celem znalezienia podgrafów izomorficznych ze strukturami, dla których zdefiniowane są wyrażenia na elementy macierzy, a z drugiej niezbędna jest pełna informacja o geometrii cząsteczki.

PODSUMOWANIE

W artykule zostały przedstawione najważniejsze metody reprezentacji struktur cząsteczek, które mają kluczowe znaczenie w szerokiej klasie zagadnień. Interesujące jest, że metody przechowywania struktur, opracowane pierwotnie na potrzeby chemii, znalazły zastosowanie w innych dziedzinach nauki. Z wyników tych badań korzysta się przy opisie obwodów elektrycznych, w mechanice (na przykład w dokumentacji schematów) itd. Odpowiedzi na pytanie, dlaczego chemicy byli na czele w dziedzinie badań nad kodowaniem i przeszukiwaniem struktur udziela Meyer [10]. Wymienia on kilka przyczyn takiego stanu rzeczy, m.in. to, że w chemii mamy do czynienia z dobrze określonymi pojęciami (atom, cząsteczka), co znacznie ułatwia opis ich reprezentacji, a również to, że chemia opiera się na ogromnej liczbie powtarzalnych faktów, które są często użyteczne po wielu dziesięcioleciach (przykładem są choćby metody syntezy). Z tego też względu rozwój metod dokumentacji chemicznej jest szczególnie intensywny i wart wysiłków. Wystarczy powiedzieć, że korzenie systemu Beilsteina sięgają pierwszej edycji podręcznika Fryderyka Konrada Beilsteina z 1881 r., a sam system został stworzony i przetestowany między 1907 a 1912 rokiem przez Pragera, Jacobsona, Schmidta i Sterna [28].

Znaczenia roli systemów topologicznej reprezentacji struktur cząsteczek nie można przeceniać, zważywszy ilość oprogramowania chemicznego, dla którego wspomniany problem jest kluczowy i decyduje o jego jakości oraz efektywności.

Autor pragnie serdecznie podziękować panu prof. dr hab. Jerzemu Piotrowi Hawrankowi za zasugerowanie tematu niniejszego artykułu i cenną dyskusję.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. E. Rush, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1976, **16**, 202.
- [2] G. Nowak, *Wiad. Chem.*, 1988, **42**, 593.
- [3] D. H. Rouvray, *The Topological Matrix in Quantum Chemistry*, [w:] *Chemical Applications of Graph Theory*, A. T. Balaban (red.), Academic Press Inc. (London) Ltd. 1976, 174.
- [4] G. W. Wheland, *Syllabus for Advanced Organic Chemistry 321*, The University of Chicago, Chicago 1946.
- [5] G. W. Wheland, *Advanced Organic Chemistry*, Wiley, New York 1959.
- [6] C. N. Mooers, *Ciphering Structural Formulas — The Zatorpleg System*, [w:] *Zator Tech. Bull.*, 1951, 59.
- [7] L. C. Ray, R. A. Kirsch, *Science*, 1957, **3227**, 814.
- [8] A. Oppler, T. R. Norton, *Chem. Eng. News*, 1956, **34**, 2812.
- [9] E. Meyer, K. Wenke, *Nachr. Dok.*, 1962, **13**, 13.
- [10] E. Meyer, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1991, **31**, 68.
- [11] L. Spialter, *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **85**, 2012.
- [12] A. T. Balaban, F. Harary, *J. Chem. Doc.*, 1971, **11**, 258.
- [13] W. C. Herndon, *ibid.*, 1974, **14**, 150.
- [14] M. J. Ebersole, M. S. Thesis, The Ohio State University, Columbus, Ohio 1971.
- [15] G. M. Dyson, W. E. Cossum, M. F. Lynch, H. L. Morgan, *Inf. Storage Retr.*, 1963, **2-3**, 69.
- [16] Anon., *Chem. Eng. News*, 1963, **41(49)**, 35.
- [17] D. J. Gluck, *J. Chem. Doc.*, 1965, **5**, 43.
- [18] H. L. Morgan, *ibid.*, 1965, **5**, 107.
- [19] Y. Kudo, S. I. Sasaki, *ibid.*, 1974, **14**, 200.
- [20] P. G. Dittmar, R. E. Stobaugh, C. E. Watson, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1976, **16**, 111.
- [21] T. Hakayama, Y. Fujiwara, *ibid.*, 1980, **20**, 23.
- [22] T. Hakayama, Y. Fujiwara, *ibid.*, 1983, **23**, 80.
- [23] L. J. Brown, *ibid.*, 1991, **31**, 2.
- [24] I. C. Ross, F. Harary, *Manage. Sci.*, 1955, **1**.
- [25] V. J. Gillet, G. M. Downs, A. Ling, M. F. Lynch, P. Venkataram, J. V. Wood, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1987, **27**, 127.
- [26] M. F. Lynch, J. M. Barnard, S. M. Welford, *ibid.*, 1981, **21**, 148.
- [27] M. F. Lynch, J. M. Barnard, S. M. Welford, *ibid.*, 1981, **21**, 151.
- [28] R. Walentowski, *ibid.*, 1980, **20**, 181.
- [29] Y. Feibai, Y. Xiaochun, C. Wentang, O. Yong, *Representation of Chemical Structure by Compact Connectivity Table System*, [w:] *Proceedings of the 4th Asian Chemistry Congress*, 1991.
- [30] C. Wentang, Z. Ying, Y. Feibai, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1993, **33**, 604.
- [31] Y. Feibai, C. Wentang, Z. Ying, Q. Yong, *A Database of Structure Information of Commercial Dyes*, [w:] *Proceedings of 13th International CODATA Conference*, 1992.
- [32] J. Tomczak, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995, **35**, 199.

**IMMUNOCHEMICZNE METODY
OZNACZANIA PESTYCYDÓW TRIAZYNOWYCH
W GLEBIE, WODZIE I ŻYWNOŚCI**

**IMMUNOCHEMICAL METHODS
OF TRIAZINE PESTICIDES DETERMINATION
IN SOIL, WATER AND FOOD**

Joanna Masłowska, Alina Owczarek, Joanna Leszczyńska

*Zespół Chemii Bionieorganicznej i Analitycznej, Instytut Podstaw Chemii Żywności,
Politechnika Łódzka, ul. B. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

Abstract

Budowa, własności oraz działanie toksyczne pestycydów triazynowych

Metody oznaczania herbicydów triazynowych

Metody tradycyjne

Charakterystyka ilościowych metod immunologicznych (immunoassays)

Czynniki wpływające na podwyższenie czułości metody ELISA

Wpływ stałego podłoża

Wpływ rodzaju enzymu na charakterystykę uzyskanego koniugatu przeciwciało-enzym lub antygen-enzym

Wpływ zastosowania odpowiedniego przeciwciała

Metodyka postępowania w metodzie ELISA

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

ABSTRACT

Chemical compounds, including pesticides, are the major contaminants in water, soil and food [1-4], bringing about the incidence of poisoning and various forms of allergy [5-9]. Due to numerous applications of herbicides in agriculture [10, 11], new and better methods for their determination are constantly searched for [12].

In the present study, we deal with s-triazine derivatives (formulas I-III and Tab. 1) which are slightly soluble in water, readily excreted from the organism and characterised by relatively low toxicity (Tab. 2) [13]. These herbicides are determined still by HPLC, GC and TLC methods [2, 14-16] which are very effective but require an expensive and modern equipment. Therefore, in the seventies, researchers started to use the TLC method in combination with the inhibition phenomena of enzymatic processes [17-20]. These studies are continued [21, 22], although in the nineties, immunoassays were used for the analysis of water and food. These methods have gained great appreciation due to the fact that they are equally sensitive as HPLC and GC methods, but they also allow one to determine a given compound selectively among many others without any sample separation and concentration. The immunochemical procedures may be defined as methods which utilise the reaction of bonding between antibody and antigen, with one of the process components being a tracer (fluorescence label, isotope or enzyme). There are qualitative methods such as the immunomorphological ones and quantitative such as the immunoassays [23], as shown in Fig. 1.

In the immunoenzymatic methods, the tracer is an enzyme, while the spectrophotometric measurement of the substrate colour is a quantitative measure of the process. The most popular is the indirect method known as ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) in which an antibody or antigen is immobilised on a solid substrate. This method has been used for several years to determine pesticides in water, soil and food [24]. The sensitivity of the ELISA method can be increased by such factors as the type of solid substrate used (magnetic particles [25-30], microplates [31], modified silicone capillaries [32-35], the use of suitable enzyme as tracer [32, 36] and the use of an appropriate antibody [36-44] which is selectively linked with the given antigen.

It has been shown in papers [25-30] that the use of magnetic particles makes it possible to detect pesticides in quantities at a level of several ppb (Tab. 3) in water and soil. These are the quantities comparable with those determined by conventional methods, with the correlation coefficient of both methods being close to unity. The recovery of atrazine [31] by the ELISA method with the use of magnetic particles is the same as that in the case of using microplates (Tab. 4). The sensitivities of both methods are also comparable, although the scatter of results is lower in the first method.

The literature review and our experimental studies [24] have shown that ELISA methods are suitable for the examination of toxic components in water, soil and food, and, moreover, they can successfully replace the methods used so far. They are relatively easy in use and characterised by a high sensitivity and specificity. The relatively short time required to carry out the analysis makes it possible to use these methods to test raw materials and final products, as well as to inspect the course of technological processes.

W ostatnich latach chemikalia w wodzie, glebie i żywności stają się tematem priorytetowym ze względu na bezpieczeństwo konsumentów. Dotyczy to w dużej mierze stosowanych pestycydów. Pomimo dość znacznej biodegradacji w środowisku naturalnym obserwuje się wzrost ich zawartości w wodzie, glebie i żywności [1–4]. Są one powodem nie tylko ostrych zatruć, lecz i przyczyną występowania u ludzi i zwierząt różnych form alergii [5–9]. Pestycydy, ze względu na dużą toksyczność, wpływ na organizmy wodne oraz szerokie stosowanie głównie w rolnictwie i leśnictwie, wymagają szczególnej uwagi [10, 11]. W 1993 r. w USA herbicydy stanowiły 70–80% wszystkich produkowanych pestycydów, w tym około 30% stanowiły pochodne triazyny, stosowane głównie w ochronie upraw kukurydzy, zbóż i ryżu. W Polsce ze względu na inny charakter upraw rolnych te ilości są niższe i wynoszą odpowiednio 60 i 14%. Z tych przyczyn wciąż poszukuje się nowych i bardziej czułych metod oznaczania pestycydów, szeroko wykorzystując możliwości nowych technik badawczych, takich jak np. techniki immunochemiczne [12].

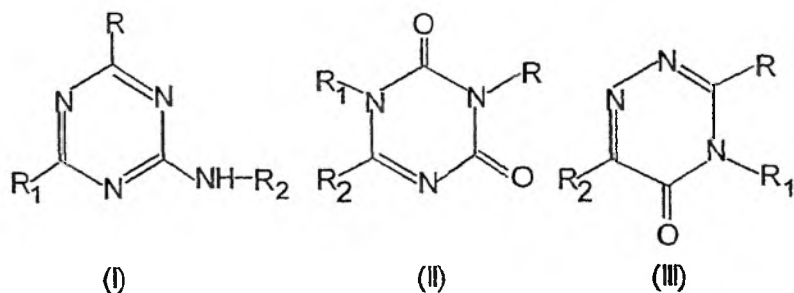
BUDOWA, WŁASNOŚCI ORAZ DZIAŁANIE TOKSYCZNE PESTYCYDÓW TRIAZYNOWYCH

Środki chemiczne służące do zwalczania różnego typu szkodliwych organizmów w zależności od przeznaczenia i stosowania dzielimy na 6 grup: fungicydy (grzybobójcze), herbicydy (chwastobójcze), insektycydy (owadobójcze), moluskocydy (ślimakobójcze), nematocydy (do zwalczania nicieni) oraz rodentocydy (do zwalczania gryzoni). Do grupy fungicydów zalicza się również środki chemiczne działające zabójczo na organizmy wywołujące choroby, takie jak: grzyby (fungi), bakterie (bakteriocydy) i roztocza (akarycydy). Grupa ta obejmuje także antybiotyki.

Ze względu na budowę chemiczną pestycydy dzieli się na nieorganiczne i organiczne. W większości wypadków najczęściej używane pestycydy należą do organicznych związków przynależnych do różnych klas. Są to związki chloroorganiczne, fosforoorganiczne, pochodne mocznikowe, pochodne kwasu octowego, karbaminianowe, triazynowe, pochodne fenolu, syntetyczne pyretroidy itp.

Znaczenie gospodarcze herbicydów triazynowych jest związane przede wszystkim ze skutecznym zwalczaniem chwastów w uprawach rolnych, co niejednokrotnie powoduje częściowe zastąpienie niektórych zabiegów agrotechnicznych. Do rolnictwa zostały one wprowadzone w połowie lat 50., za sprawą firmy szwajcarskiej Geigy SA, a następnie Ciba-Geigy [3].

Do pestycydów triazynowych zaliczamy głównie pochodne symetrycznej (s) triazyny, czyli 1,3,5-triazyny (wzór I), pochodne 1,3,5-triazyno-2,4-dionu (wzór II) i niesymetrycznej (as) triazyny, czyli 1,2,4-triazyny (wzór III).



Najliczniejszą grupę stanowią pochodne s-triazyny, które można podzielić na trzy podgrupy: 2-chloro-s-triazyny, 2-metylotio-s-triazyny i 2-metoksy-s-triazyny (tab. 1).

Tabela 1. Nazwy i budowa cząsteczek herbicydów triazynowych (wzory I-III)

Pochodne	Nazwa	Wzór ogólny	R	R ₁	R ₂
s-Triazyny (wzór I)	symazyna	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	Cl	NHC ₂ H ₅	C ₂ H ₅
	atrazyna	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	Cl	NHC ₂ H ₅	CH(CH ₃) ₂
	terbutylazyna	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	Cl	NHC ₂ H ₅	C(CH ₃) ₃
	propazyna	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	Cl	NHCH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂
	cyjanazyna	C ₉ H ₁₃ ClN ₆	Cl	NHC ₂ H ₅	C(CN)(CH ₃) ₂
	azyprotryna	C ₇ H ₁₁ SN ₇	SCH ₃	N ₃	CH(CH ₃) ₂
desmetryna	C ₈ H ₁₅ SN ₅	SCH ₃	NHCH ₃	CH(CH ₃) ₂	
symetryna	C ₈ H ₁₅ SN ₅	SCH ₃	NHC ₂ H ₅	C ₂ H ₅	
ametryna	C ₉ H ₁₇ SN ₅	SCH ₃	NHC ₂ H ₅	CH(CH ₃) ₂	
prometryna	C ₁₀ H ₁₉ SN ₅	SCH ₃	NHCH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂	
terbutryna	C ₁₀ H ₁₉ SN ₅	SCH ₃	NHC ₂ H ₅	C(CH ₃) ₂	
metoprotryna	C ₁₁ H ₂₁ OSN ₅	SCH ₃	NH(CH ₂) ₃ OCH ₃	CH(CH ₃) ₂	
atraton	C ₉ H ₁₇ ON ₅	OCH ₃	NHC ₂ H ₅	CH(CH ₃) ₂	
s-Triazyn- -2,4-dionu (wzór II)	heksazininon	C ₁₂ H ₂₀ O ₂ N ₄	C ₆ H ₁₁	CH ₃	N(CH ₃) ₂
as-Triazyn- -5-onu (wzór III)	metribuzin	C ₈ H ₁₄ OSN ₄	SCH ₃	NH ₂	C(CH ₃) ₃

Pestycydy triazynowe są substancjami stałymi, bezbarwnymi lub białymi. Dobrze rozpuszczają się w rozpuszczalnikach organicznych, słabiej w wodzie. Związki te nie kumulują się w organizmie zwierząt i są wydalone przez układ moczowy. Dlatego dopuszczalne ilości pozostałości tych pestycydów w owocach i zbożu są dość wysokie i wynoszą od 0,1 do 1,0 mg/kg (tab. 2) [13]. Toksyczność ostra tych herbicydów dla ssaków oraz pszczoł jest niewielka. Dawki LD₅₀ dla szczura wynoszą od 1,3 g/kg dla symazyny do 6,0 g/kg dla propazyny. Mechanizm toksycznego działania tych związków na rośliny po-

Tabela 2. Własności fizykochemiczne i toksyczność herbicydów triazynowych [13]

Pestycyd	Temp. topnienia [°C]	Rozpuszczalność [mg/dm ³]	Toksyczność ostra LD ₅₀ [g/kg]	Dopuszczalna zawartość w żywności [mg/kg]
Symazyna	225–227	woda – 5 etanol – 300 metanol – 400 chloroform – 900	szczur – 1,3–4,0	woda – 0,0024 ziarna zbóż – 1,0 owoce – 0,2 winogrona – 0,05
Atrazyna	171–174	woda – 70 etanol – 12 000 metanol – 18 000 chloroform – 52 000	królik – 3,8 szczur – 1,4–3,0	ziarna zbóż – 0,1
Propazyna	213–215	woda – 8,6 słaba w rozpuszczalnikach organicznych	szczur – 5,0–6,0	ziarna zbóż – 0,2
Metribuzin	124–126	woda – 1200	szczur – 2,2	ziarna zbóż – 0,1 pomidory – 0,1

lega na zakłócaniu procesu fotosyntezy w wyniku hamowania reakcji przeniesienia elektronu. Stwierdzono, że oporność kukurydzy i zbóż na toksyczne działanie herbicydów triazynowych polega na metabolicznych przemianach, jakim one ulegają przy udziale naturalnego składnika tych roślin, a mianowicie pochodnej benzoksazonu [3]. Następuje reakcja hydroksylacji w pozycji 2 pierścienia heterocyklicznego triazyn, co powoduje całkowity zanik własności fitotoksycznych tych związków. Procesy chemiczne związane z przemianami tych związków w glebie są powolne. Ocenia się, że pełny rozkład np. atrazyny w glebie trwa 18–20 miesięcy.

METODY OZNACZANIA HERBICYDÓW TRIAZYNOWYCH

METODY TRADYCYJNE

W analizie fizykochemicznej pestycydów znalazły zastosowanie rozmaite metody chromatograficzne, a wśród nich metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej (*high performance liquid chromatography* – HPLC), chromatografia gazowa (*gas chromatography* – GC) oraz chromatografia cienkowarstwowa (*thin-layer chromatography* – TLC). Metody te są w dalszym ciągu często stosowane w oznaczaniu pestycydów, w tym także triazynowych [2, 14–16]. Pozwalają one nie tylko na rozdzielenie mieszanin, ale i na ich oznaczenie. Herbicyd dicamba można oznaczyć na poziomie 1 ppb w wodzie i 10 ppb w glebie [14], a atrazynę i produkty jej degradacji na poziomie 0,4 ppb w wodzie i 40 ppb w glebie [2] oraz atrazynę w wodzie w zakresie 1–500 ppt [15]. Są to metody bardzo efektywne, lecz wymagają drogiej aparatury i nowo-

czesnego oprzyrządowania. Ze względu na ustaloną już renomę metod HPLC i GC są one obecnie stosowane bardzo często jako metody porównawcze, podczas opracowywania i wprowadzania do praktyki analitycznej nowych metod analitycznych. W wielu wypadkach skomplikowane i kosztowne badania metodami HPLC i GC nie są konieczne, gdyż często chodzi tylko o ustalenie poziomu danego pestycydu. Dlatego w latach 1972–1979 do rozdzielania i identyfikacji pestycydów zaczęto stosować znacznie prostszą i znacznie mniej kosztowną, a zarazem efektywną metodę chromatografii cienkowsarstwowej (TLC) w połączeniu z wykorzystaniem zjawiska inhibicji reakcji enzymatycznej (*enzymatic inhibition* – EI). Metoda ta została nazwana metodą TLC-EI [17–20]. W pracach dotyczących tej metody wiele uwagi poświęcono takim problemom, jak: warunki ekstrakcji badanych pestycydów z próbek, warunki wykonywania rozdzielania chromatograficznego (dobór odpowiednich nośników oraz układów rozwijających), wybór enzymu, który ulegałby wyraźnej inhibicji pod wpływem danego pestycydu oraz dobór odpowiedniego substratu dla danego enzymu, bez konieczności stosowania dodatkowej reakcji barwnej na wykrycie na chromatogramach produktów reakcji enzymatycznej. Prace badawcze nad szerszym wykorzystaniem metod TLC i TLC-EI są w dalszym ciągu prowadzone zarówno w zakresie analizy jakościowej, jak i ilościowego oznaczania pestycydów triazynowych z zastosowaniem bardzo złożonych indykatorów organicznych [21, 22]. Obecnie w związku z koniecznością kontroli toksycznych składników w żywności, wodzie i glebie zmierza się także do wprowadzania bardzo szybkich i tanich, a zarazem czułych metod przydatnych w laboratoriach kontrolnych. Takie wymagania spełniają niewątpliwie metody immunologiczne.

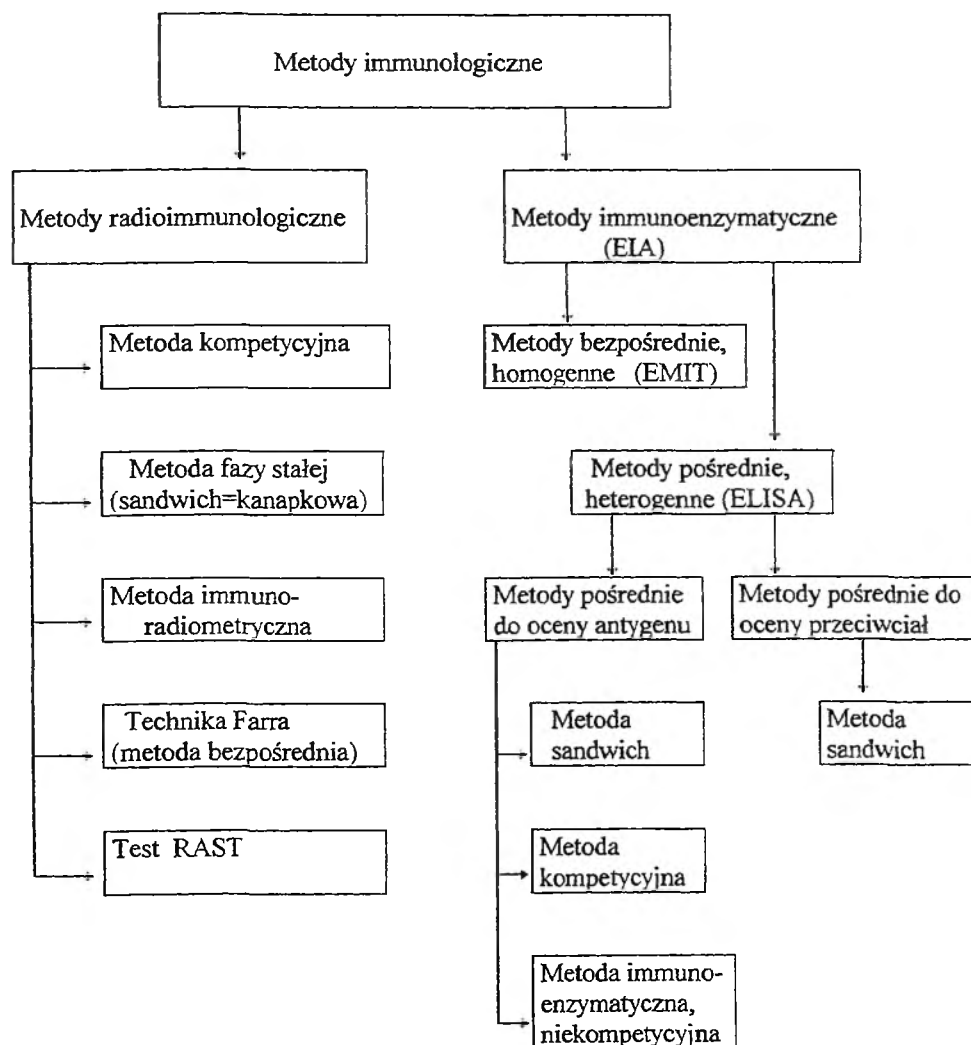
CHARAKTERYSTYKA ILOŚCIOWYCH METOD IMMUNOLOGICZNYCH (IMMUNOASSAYS)

Wprowadzenie metod immunologicznych do analizy żywności nastąpiło w latach 90. bieżącego stulecia. Metody te zdobyły duże uznanie ze względu na to, że są bardzo czułe i pozwalają wybiórczo oznaczać dany związek obok wielu innych. Są one ponadto stosunkowo tanie, gdyż nie wymagają skomplikowanej aparatury i umożliwiają jednoczesne dokonanie analizy dużej liczby próbek (monitoring).

Metody immunologiczne można zdefiniować jako metody wykorzystujące reakcje wiązania przeciwciała z antygenem. Ich ogólną zasadą jest związanie jednego ze składników reakcji ze znacznikiem (markerem), dzięki czemu można precyzyjnie określić stopień przereagowania. Rolę znacznika może pełnić fluorochrom, izotop lub enzym. Typ zastosowanego znacznika określa rodzaj reakcji. Fluorochromy, takie jak: izotiocyanian fluoresceiny (FITC) lub izotiocyanian tetrametylorodaminy (TRITC), związane zazwyczaj ze swoistym przeciwciałem, stosuje się do określenia miejsca występowania antygeny w tkan-

ce lub komórkach. Reakcje przeciwciało-antygen natomiast, gdzie znacznikiem jest izotop lub enzym, wykorzystuje się zarówno w metodach immunomorfologicznych (jakościowych), jak i ilościowych metodach immunologicznych (*immunoassays*) [23].

Ilościowe metody immunologiczne można zatem podzielić na metody radioimmunologiczne oraz metody immunoenzymatyczne (rys. 1). Metody radioimmunologiczne stosuje się głównie w badaniach klinicznych. Używa się ich w endokrynologii do oznaczania niemal wszystkich znanych hormonów, w alergologii do oznaczania swoistych przeciwciał klasy IgE, w onkologii



Rys. 1. Podział ilościowych metod immunologicznych

do oceny białek towarzyszących nowotworom, a także do oznaczania witamin, leków itp. Czulość metod radioimmunologicznych obejmuje wielkości rzędu 10^{-12} g. W zależności od tego, czy stosuje się znakowany antygen, czy znakowane przeciwciało oraz czy reakcję prowadzi się w roztworze, czy jeden ze składników reakcji związany jest z podłożem (studzienka mikropłytki, ścianka probówki, cząsteczki magnetyczne), rozróżnia się pięć następujących metod: kompetycyjna, fazy stałej (*sandwich*), immunoradiometryczna, bezpośrednia (technika Farra) oraz test RAST (*radioallergosorbent test*).

W metodach immunoenzymatycznych zamiast znacznika izotopowego stosuje się enzym. Pomiar aktywności enzymu, najczęściej za pomocą spektrofotometrycznej oceny zmienionej barwy substratu, jest miernikiem ilościowym przebiegu reakcji. Metody immunoenzymatyczne (EIA — *enzymatic immunoassays*) dzieli się na bezpośrednie (homogenne), tzw. EMIT (*enzyme multiplied immunoassay technique*), oraz na metody pośrednie (heterogenne), tzw. ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Te ostatnie służą do określenia stężenia antygeny lub do określenia stężenia przeciwciał.

Techniki immunologiczne służące do oceny pozostałości pestycydów w żywności, w wodzie pitnej i w glebie rozwinęły się w ciągu ostatnich 10 lat. Największa liczba prac pochodzi z ostatnich pięciu lat i dotyczy głównie zastosowania metody ELISA. Koszt tych metod w porównaniu z metodami radioimmunologicznymi jest dużo niższy przy zachowaniu czulości tego samego rzędu. Produkcja odpowiednich mikropłytek oraz specjalistycznej aparatury do odczytu absorbancji w kolejnych mikrostudzienkach tych płytek (czytniki do testów ELISA), a również możliwość wyprodukowania na drodze biologicznej wysoce specyficznych przeciwciał monoklonalnych, potrzebnych do oznaczania danego antygeny, spowodowały, że metody ELISA stały się obecnie odrębną dziedziną wśród metod analitycznych.

W Polsce metody te są jeszcze mało stosowane, pomimo że odpowiednie testy do oznaczania wielu kancerogennych składników żywności są na naszym rynku dostępne (np. firmy Riedel-de Haën lub R-Biopharm GmbH). Uzyskane przez nas wyniki oznaczania atrazyny w produktach spożywczych i w wodach gruntowych przy użyciu tych testów opisaliśmy w pracy [24].

CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA PODWYŻSZENIE CZUŁOŚCI METODY ELISA

WPLYW STAŁEGO PODŁOŻA

W metodzie ELISA istotnymi zagadnieniami wpływającymi na precyzję i czulość tej metody są: zastosowanie odpowiedniego, specyficznego przeciwciała, zastosowanie odpowiedniego enzymu, a także substratu oraz zagadnienie wiązania przeciwciał czy antygeny ze stałym podłożem. Stałym podłożem jest

najczęściej ścianka mikrostudzienki płytki polistyrenowej, ścianka probówki, kulki szklane lub plastikowe oraz ostatnio stosowany dodatek cząstek obdarzonych ładunkiem magnetycznym. Ten ostatni układ jest bardziej stabilny, gdyż zwykle wyeliminowany jest problem desorpcji oraz problem związany z równomiernym pokryciem przeciwciałem lub antygenem ścianek mikrostudzienek. Metoda z użyciem magnetycznych proszków zastosowana w teście ELISA jest opisana w pracach Rubio i wsp. [25] oraz Itak i wsp. [26]. Wykorzystano je przy oznaczaniu cyjanazyny [27], metolachloru w wodzie i glebie [28], herbicydu 2,4-D i jego pochodnych w środowisku wodnym [29] oraz w opracowanej metodzie oznaczania tiasulfuronu w glebie i w roztworach wodnych [30]. W tych pracach wykazano, że użycie cząstek magnetycznych, oprócz zastosowania odpowiednich przeciwciał, pozwala wykryć badane pestycydy na poziomie ppb, czyli w ilościach porównywalnych z ilościami oznaczanymi metodą HPLC czy GC przy współczynniku korelacji dla obu metod bliskim jedności (tab. 3). Aga i Thurman [31] w badaniach metodą ELISA przy

Tabela 3. Porównanie wyników oznaczania herbicydów metodą ELISA przy zastosowaniu cząstek magnetycznych z metodami klasycznymi (HPLC, GC)

Herbicyd	Obiekt badany	Zakres oznaczania [ppb]	Liczba prób (n)	Współczynnik korelacji (r)	Literatura
Cyjanazyna	woda, gleba	0-15	55	0,964	[27]
Metolachlor	woda, gleba	0-6	58	0,976	[28]
2,4-D	woda	0-400	56	0,970	[29]
Tiasulfuron	gleba	0,1- 10	nie podano	0,960	[30]

zastosowaniu różnego podłoża stwierdzili, że odzysk atrazyny w obu wypadkach jest porównywalny (ok. 95%). Jednakże przy zastosowaniu cząstek magnetycznych większość oznaczeń oscyluje wokół wartości średniej przy niewielkim procencie błędu ($\pm 7,2\%$), przy zastosowaniu mikroplatek natomiast uzyskuje się duży rozrzut wyników od 86 do 112% (tab. 4). Chociaż czułość obu metod ELISA była porównywalna, to metoda z zastosowaniem cząsteczek magnetycznych daje większą precyzję oznaczeń (od 10 do 20%), co jest związane z większą szybkością zachodzących reakcji.

Ostatnio zaczęto stosować specjalne, modyfikowane kapilary silikonowe ze związanymi kowalencyjnie przeciwciałami [32]. Zmniejsza to ryzyko uwolnienia aktywnych przeciwciał, co w metodach immunochemicznych jest bardzo istotne, rzutując na czułość i powtarzalność metody. Użycie kapilar pozwala zredukować ilość wymaganego roztworu reagującego do 22 μl , wykonać pomiar metodą przepływową oraz zastosować elektrochemiczną detekcję, która jest bardziej czuła niż detekcja UV [33]. Zastosowanie kapilarnej metody immunoenzymatycznej z detekcją amperometryczną produktu reakcji enzymatycznej (*p*-aminofenolu) pozwoliło autorom [32] oznaczyć atrazynę w wodzie w granicach od 0,1 do 10 $\mu\text{l}/\text{dm}^3$ przy granicznej wykrywalności 0,1 $\mu\text{l}/\text{dm}^3$ oraz ob-

Tabela 4. Odzysk atrazyny dodanej do wody destylowanej i oznaczanej metodą SPE-ELISA z zastosowaniem mikropłytek lub cząstek magnetycznych [29]

Lp.	Stężenie atrazyny w wodzie [ng/dm ³]	Odzysk atrazyny przy zastosowaniu faz stałych [%]	
		cząstki magnetyczne	mikropłytki
1.	1	120 ± 55	112 ± 54
2.	5	96 ± 7	103 ± 10
3.	10	98 ± 7	97 ± 24
4.	15	94 ± 12	86 ± 23
5.	20	89 ± 8	89 ± 11
6.	25	97 ± 2	92 ± 14
7.	50	79 ± 11	86 ± 5

niżyć czas wykonywania pomiaru ze 180 min. w analizach chromatograficznych do < 60 min. Metodę tę zastosowano, z równie pomyślnym rezultatem, do oznaczania immunoglobulin mysich IgG [34] i digoksinu [35] na poziomie $6,7 \times 10^{-17}$ mola i $3,8 \times 10^{-12}$ mola odpowiednio. Zastosowanie kapilarnej metody immunoenzymatycznej z elektrochemiczną detekcją do oznaczania tak różnych związków pozwala sądzić, że w najbliższych latach będzie to metoda równie popularna jak metody ELISA.

WPLYW RODZAJU ENZYMU NA CHARAKTERYSTYKĘ UZYSKANEGO KONIUAGATU PRZECIWCIAŁO-ENZYM LUB ANTYGEN-ENZYM

Najczęściej do uzyskania odpowiednich koniugatów stosuje się peroksydazę (HRP) i fosfatazę zasadową (AP). Peroksydaza charakteryzuje się dużą stabilnością, łatwo wiąże się z białkiem, ma małą masę cząsteczkową i jest produktem stosunkowo tanim. Jako substrat stosuje się H₂O₂ w obecności dawcy elektronów (chromogenu), takiego jak chlorowodorek 3,3'-diamino-benzzydiny (DAB), 3,3',5,5'-tetrametylobenzzydiny (TMB) oraz soli sodowej kwasu 2,2'-azyno-di-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego) (ABTS). W przeważającej liczbie prac stosuje się koniugaty właśnie z peroksydazą zapewne dlatego, że są one stabilne w ciągu wielu miesięcy. Opublikowano zdecydowanie mniej prac, w których jako znacznik stosuje się fosfatazę zasadową. Bekheit i wsp. [36] zastosowali koniugat tego enzymu z IgG w kompetycyjnej metodzie ELISA do oznaczania bromacylu w próbkach wody. Otrzymane wyniki były zgodne ze znanymi poziomami bromacylu w wodzie w zakresie od 0,1 do 160 ppb. Jako substratu dla stosowanej fosfatazy zasadowej użyto tu fosforanu *p*-nitrofenylu, w pracy Tongo Jiange i wsp. [32] natomiast fosforanu *p*-aminofenylu.

WPLYW ZASTOSOWANIA ODPOWIEDNIEGO PRZECIWCIAŁA

Wielu autorów zajmowało się wyprodukowaniem, a następnie przetestowaniem otrzymanych przeciwciał monoklonalnych do oznaczania wielu herbicydów [36–44], w tym również triazynowych [41–44]. Jak bardzo zastosowanie właściwego przeciwciała decyduje o czułości metody i wpływa na wynik oznaczenia, wykazał w swojej pracy Schlaeppi ze wsp. [44]. Do oznaczania atrazyny i hydroksyatrazyny w pierwszym wypadku stosowane jest przeciwciało przeciwko hydroksyatrazynie oznaczone MAb 4009-85-3, a w drugim stosowane jest przeciwciało przeciwko atrazynie oznaczone MAb 4063-21-1. O ile zastosowanie przeciwciała przeciwko atrazynie jest możliwe przy oznaczaniu większych stężeń hydroksyatrazyny, o tyle zastosowanie przeciwciała przeciwko hydroksyatrazynie do oznaczania atrazyny mija się z celem. Wartość absorbancji pozostaje praktycznie stała mimo zmian stężenia atrazyny.

METODYKA POSTĘPOWANIA W METODZIE ELISA

W metodzie ELISA, oprócz reakcji immunologicznej, wykorzystano zdolność wiązania białek do stałego podłoża, jakim jest płytka polistyrenowa. Antygen lub przeciwciało jest absorbowane trwale na powierzchni wgłębienia – mikrostudzienki. Najprostsze i najczęściej stosowane warianty procedury ELISA w analizie żywności, wody czy gleby to metoda kompetycyjna (*competitive*) lub niekompetycyjna (*non-competitive*). W kompetycyjnej metodzie immunoenzymatycznej znakowane enzymem przeciwciało miesza się z płynem zawierającym poszukiwany (badany) antygen. Nadmiar znakowanego przeciwciała reaguje z badanym antygenem z próbki, a nie związane przeciwciała reagują z antygenem w fazie stałej. W jednej z odmian metody kompetycyjnej badany antygen współzawodniczy z antygenem znakowanym enzymem o ograniczoną ilość przeciwciał związanych z fazą stałą. W metodzie niekompetycyjnej do każdej studzienki płytki opłaszczonej przeciwciałami dodaje się roztwór zawierający odpowiednie antygeny. Po inkubacji i przemyciu dodaje się roztwór koniugatu przeciwciała związanego z enzymem. Następnie po kolejnej inkubacji i przemyciu oznacza się aktywność enzymu, która jest skorelowana z zawartością danego antygeny w próbce. Wybór wariantu metody jest uzależniony od możliwości uzyskania znakowanego enzymem odczynnika (antygeny czy przeciwciała). Z reguły łatwiejsze jest uzyskanie znakowanego przeciwciała niż znakowanego antygeny.

Przy oznaczaniu pestycydów triazynowych autorzy najczęściej stosowali immunoenzymatyczną metodę kompetycyjną ELISA, w której do studzienek mikropłytetek opłaszczonych przeciwciałami przeciwko danemu pestycydowi (np. atrazynie) dodaje się badaną próbkę, a następnie roztwór koniugatu an-

tygenu (atrazyny) z enzymem. Po 4 godz. inkubacji studzienki przemywa się 4–5-krotnie buforem fosforanowym o pH 7,5 z 0,1% dodatkiem Tweenu 20 w celu wymycia nie związanego antygeny i koniugatu antygen-enzym. Następnie dodaje się roztwór substratu dla danej reakcji enzymatycznej. W wypadku peroksydazy autorzy stosowali przeważnie tetrametylobenzydynę (TMB), a w wypadku fosfatazy kwaśnej fosforan *p*-nitrofenylu. Ilość utworzonego w reakcji enzymatycznej produktu barwnego jest proporcjonalna do ilości antygeny (np. atrazyny) w próbce badanej. Może być ona zmierzona metodą spektralną przy zastosowaniu specjalnego czytnika umożliwiającego pomiar absorbancji przy danej długości fali w każdej mikrostudzience płytki.

PODSUMOWANIE

Metody immunologiczne, początkowo stosowane tylko w medycynie, obecnie są stosowane również do oznaczania składników żywności, do kontroli pozostałości związków chemicznych w żywności wynikających z procesów technologicznych i ze stosowania surowców pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego, które mogą zawierać substancje obce, takie jak pestycydy, toksyny bakterii i grzybów, hormony, antybiotyki lub niektóre alkaloidy. Zastosowanie metody ELISA może również mieć wpływ na poprawę procesów technologicznych, łatwiejszą i pełniejszą kontrolę jakości produktów, wykrywanie zafałszowań itp.

Daje się również zauważyć, że dotychczas stosowane w takich analizach techniki HPLC lub GC są wypierane przez metody immunologiczne, które są tańsze, nie wymagają drogiej aparatury oraz są łatwe w wykonaniu, gdyż zazwyczaj nie wymagają specjalnego sposobu przygotowania próbki do analizy (ekstrakcja, oczyszczenie). Metody te charakteryzują się ponadto bardzo dużą czułością i specyficznością, a krótki czas uzyskania wyniku umożliwia zastosowanie ich zarówno do szybkiego oznaczania badanych związków w końcowych produktach, jak i do kontroli przebiegu procesu technologicznego na każdym jego etapie.

Praca została wykonana w ramach grantu KBN nr 5 PO6 G 008 09.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. N. Lerch, W. W. Donald, *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 922.
- [2] T. R. Steinheimer, *ibid.*, 1993, **41**, 588.
- [3] J. Różański, *Wiad. Chem.*, 1984, **38**, 949; *ibid.*, 1985, **39**, 225; *ibid.*, 1985, **39**, 427; *ibid.*, 1987, **41**, 55; *ibid.*, 1987, **41**, 533; *ibid.*, 1987, **41**, 783.
- [4] K. E. Keller, J. B. Weber, *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1076.
- [5] M. Kaczmarski, *Alergie i nietolerancje pokarmowe*, Sanmedia, Warszawa 1993.
- [6] R. Romański, M. Kurek, M. Świątkowski, *Alergia na pokarmy*, Akademia Medyczna w Gdańsku, filia w Bydgoszczy, Bydgoszcz 1982.

- [7] B. Korczakowska, L. Jędrychowski, J. Grabka, *Przem. Spoż.*, 1991, **45**, 173.
- [8] B. Wróblewska, L. Jędrychowski, *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1994, **44**, 45.
- [9] W. Ambroziak, J. Wyczółkowska, *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej, Technologia i Chemia Spożywcza*, 1996, z. **55**, 61.
- [10] J. Namieśnik, J. Jaśkowski, *Zarys ekotoksykologii*, EKO-Pharma, Gdańsk 1995.
- [11] B. Ranke-Rybicka, J. Płachta, D. Życiński, *Rocz. PZH*, 1995, **46**, 175.
- [12] R. J. Bushway, T. S. Fan, *Food Technol.*, 1995, **49**, 108.
- [13] W. A. Sanin, A. F. Grapow, *Pestycydy*, Technika, Kijów 1985.
- [14] A. J. Krzyszowska, G. F. Vance, J. Agric. Food Chem., 1994, **42**, 1693.
- [15] Z. Cai, V. M. Sadagopa Ramanujam, D. E. Giblin, M. L. Gross, R. F. Spalding, *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 21; *ibid.*, 1993, **65**, 2372.
- [16] E. Kynclova, F. Soevogjarto, P. Krieg, E. R. Schmid, *Ernährung (Vienna)*, 1993, **17**, 141.
- [17] H. Ackermann, *J. Chromatogr.*, 1968, **36**, 309.
- [18] J. Maśłowska, A. Owczarek, *Wiad. Chem.*, 1989, **43**, 553.
- [19] J. Maśłowska, A. Owczarek, *Przem. Chem.*, 1990, **69**, 74.
- [20] J. Maśłowska, A. Owczarek, *Przem. Spoż.*, 1991, **45**, 79.
- [21] H. S. Rathore, T. Begum, *J. Chromatogr.*, 1993, **643**, 271.
- [22] J. Sherma, J. Plenar, *Chromatogr.-Mod. TLC*, 1994, **7**, 265.
- [23] S. Mackiewicz, *Immunologia*, PZWL, Warszawa 1986.
- [24] J. Leszczyńska, J. Maśłowska, A. Owczarek, *Chem. Anal. (w druku)*.
- [25] F. M. Rubio, J. A. Itak, A. M. Scutellaro, M. Y. Selisker, D. P. Herzog, *Food Agric. Immunol.*, 1991, **3**, 113.
- [26] J. A. Itak, M. Y. Selisker, D. P. Herzog, *Chemosphere*, 1992, **24**, 11.
- [27] T. S. Lawruk, Ch. E. Lachman, S. W. Jourdan, J. R. Fleeker, D. P. Herzog, F. M. Rubio, *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 747.
- [28] T. S. Lawruk, Ch. E. Lachman, S. W. Jourdan, J. R. Fleeker, D. P. Herzog, F. M. Rubio, *ibid.*, 1993, **41**, 1426.
- [29] T. S. Lawruk, C. S. Hottenstein, J. R. Fleeker, J. C. Hall, D. P. Herzog, F. M. Rubio, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1994, **52**, 538.
- [30] J.-M. A. Schlaepi, A. Kessler, W. Fory, *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 1914.
- [31] D. S. Aga, E. M. Thurman, *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 2894.
- [32] T. Jiang, H. B. Halsall, W. R. Heineman, T. Giersch, B. Hock, *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1098.
- [33] R. Q. Thomson, G. C. Barone, H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Anal. Biochem.*, 1991, **192**, 90.
- [34] H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Clin. Chem.*, 1988, **34**, 1701.
- [35] N. Kanecki, Y. Xu, A. Kumari, H. B. Halsall, W. R. Heineman, P. T. Kissinger, *Anal. Chim. Acta*, 1994, **287**, 253.
- [36] H. K. M. Bekheit, A. D. Lucas, F. Szurdoki, S. G. Gee, B. D. Hammock, *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 2220.
- [37] M. Franek, V. Kolar, M. Granatova, Z. Nevorankova, *ibid.*, 1994, **42**, 1369.
- [38] A. E. Karu, M. H. Goodrow, D. J. Schmidt, B. D. Hammock, M. W. Bigelow, *ibid.*, 1994, **42**, 301.
- [39] M.-P. Marco, S. J. Gee, H. M. Cheng, Z. Y. Liang, B. D. Hammock, *ibid.*, 1993, **41**, 423.
- [40] M. F. Katmeh, G. Frost, W. Aherne, D. Stevenson, *Analyst*, 1994, **119**, 431.
- [41] B. Dunbar, B. Riggle, G. Niswender, *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 433.
- [42] R. O. Harrison, M. H. Goodrow, B. D. Hammock, *ibid.*, 1991, **39**, 122.
- [43] T. Giersch, *ibid.*, 1993, **41**, 1006.
- [44] J.-M. A. Schlaepi, W. Fory, K. Ramsteiner, *ibid.*, 1989, **37**, 1532.

**WĘGLOWODORY NIEMETANOWE (NMHC)
W POWIETRZU ATMOSFERYCZNYM
CZEŚĆ II. PROBLEMY ANALITYCZNE***
**NONMETHANE HYDROCARBONS (NMHC)
IN THE AMBIENT AIR
PART II. ANALYTICAL PROBLEMS**

Magdalena Kurdziel, Elżbieta Szczepaniec-Cięciak

*Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński,
30-060 Kraków, ul. R. Ingardena 3*

Abstract

Wprowadzenie

1. Metody jednoczesnego poboru i analizy próbek
 2. Metody poboru próbki bez wzbogacania (*whole-air sampling*)
 - 2.1. Pojemniki na próbki powietrza
 3. Pobieranie wzbogaconych próbek powietrza
 - 3.1. Wzbogacanie pasywne
 - 3.2. Denudacja
 - 3.3. Wzbogacanie aktywne
 - 3.3.1. Wzbogacanie na sorbentach
 - 3.3.2. Wzbogacanie kriogeniczne
 - 3.4. Metody uwalniania wzbogaconej próbki powietrza atmosferycznego
 4. Chromatograficzne metody oznaczania niemetanowych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym
 5. Metody kalibracji układów pomiarowych
- Piśmiennictwo cytowane

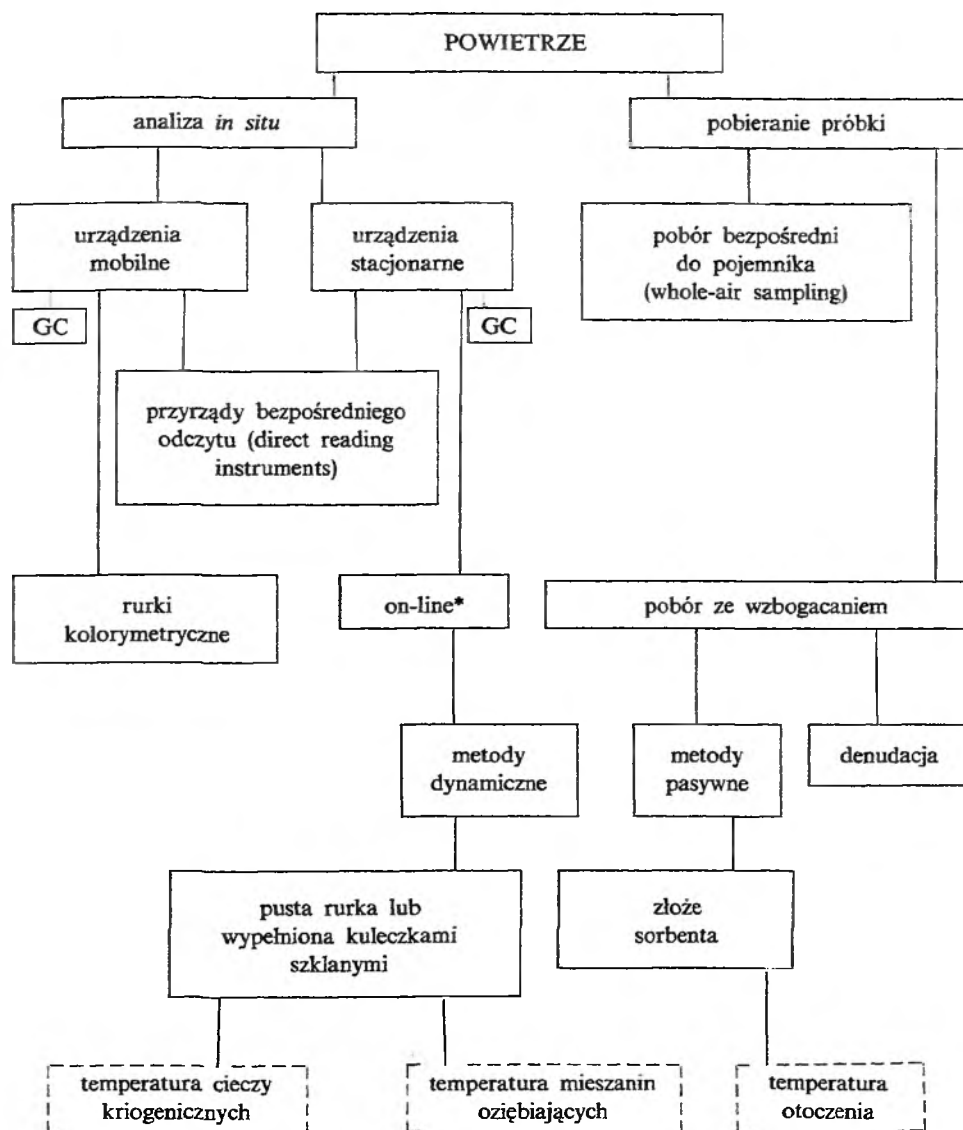
* Por. M. Kurdziel, E. Szczepaniec-Cięciak, *Węglowodory niemetanowe (NMHC) w powietrzu atmosferycznym. Część I*, *Wiad. Chem.*, 1997, **51**, 335.

ABSTRACT

Air is a matrix very difficult to handle. In addition, non-methane hydrocarbons (NMHC) as the pollutants are usually present at very low concentrations, so their detection and quantitation require a preconcentration step. This paper describes the enrichment methods that may be used for sampling and measuring of nonmethane hydrocarbons in ambient air. The range of sample collection methods for NMHCs in ambient air has diversified over recent years. Sampling methods now include: passivated canisters, pumped air sampling onto sorbent tubes, diffusive (passive) monitoring, on-line air sampling and analysis. Also cryogenic techniques: cryogenic focusing (CF) and cryogenic trapping (CT) have been reported. These two techniques are becoming more prevalent in today's chromatography laboratory as very sensitive separation techniques. Gas chromatography with FID, PID or MS detection is the most often used analytical technique of determination of NMHCs in the air samples. Applications of different methods of sampling with preconcentration and the review of GC columns used for NMHCs separation have been presented. However, there are certain problems connected with each sampling procedure (air moisture, artefact formation, stability of samples, loss reactions).

WPROWADZENIE

Oznaczanie niemetanowych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym jest trudnym zagadnieniem analitycznym. Spowodowane jest to ogromną liczbą organicznych i nieorganicznych związków występujących w powietrzu, ich wzajemnymi reakcjami, dużą różnorodnością węglowodorów i śladowym za-



Rys. 1. Podział najczęściej stosowanych metod pobierania i analizy próbek powietrza atmosferycznego zawierającego NMHC [4, 6, 7]. *przrządy służące do bezpośredniego pomiaru

kresem ich stężeń. Szczególnego znaczenia nabiera przez to technika pobierania próbek w taki sposób, by spełniały one wszystkie wymagane warunki, a zwłaszcza reprezentatywności i zachowania składu analitów [1, 6]. Objętość próbek musi być dopasowana do czułości przyrządu i metody analitycznej oraz wielkości stężeń związków oznaczanych w próbce. Czasem zachodzi konieczność pobierania próbek powietrza o objętości nawet kilkudziesięciu dm³.

NMHC w powietrzu atmosferycznym mogą być oznaczane bądź jako pojedyncze indywidua, bądź w postaci sumy związków. Ze względu na ich różną reaktywność i różny stopień szkodliwości dla środowiska i zdrowia ludzi najbardziej cenne są pomiary stężeń poszczególnych związków, czasem jednak oznacza się wyłącznie sumę NMHC, a nawet razem z metanem jako całkowitą zawartość węglowodorów TH (*total hydrocarbons*). Jest to szczególnie niekorzystne ze względu na ogromne, w porównaniu z NMHC, stężenie metanu w powietrzu. Część analizatorów wykorzystujących katalityczne spalanie pozwala jedynie oznaczać sumę wszystkich palnych związków organicznych zawartych w powietrzu, czyli tzw. TOC (*total organic carbon*) [2, 3].

Na rys. 1 przedstawiono podział metod pobierania próbek powietrza atmosferycznego ze szczególnym uwzględnieniem sposobów najczęściej stosowanych przy oznaczaniu NMHC. Dobór metody zależy od wielu czynników: stosowanej techniki analitycznej, rodzaju badanych węglowodorów, ich stężeń w miejscu poboru próbki i panujących tam warunków – m.in. wilgotności powietrza – oraz specyficznych wymagań dotyczących pomiarów – oznaczenie stężenia chwilowego czy długotrwały monitoring [4, 5]. W monografiach [6, 95] można znaleźć szczegółowe omówienie zasad, metod i urządzeń stosowanych przy oznaczaniu organicznych zanieczyszczeń atmosfery.

1. METODY JEDNOCZESNEGO POBORU I ANALIZY PRÓBKII

Etap pobierania próbki, jej przechowywania i transportu, a następnie bezpośredniego przygotowania do analizy stwarza zawsze ryzyko zaburzenia jej pierwotnego składu przez zanieczyszczenie obcymi substancjami czy też utratę części próbki lub pewnych jej składników. Aby uniknąć tego ryzyka, stosuje się oznaczenie *in situ*, wykorzystując przenośne chromatografy gazowe.

Do celów monitoringowych służą stacje pomiarowe, wyposażone w oprzyrządowanie do oznaczania NMHC w powietrzu *in situ*, obsługiwane przez personel lub pracujące automatycznie. Urządzenia takie to albo chromatografy gazowe [8–13], albo układy wykorzystujące spektroskopię w podczerwieni lub ultrafiolecie [14, 15]. Konstruuje się spektrometry o długim, kilkudziesięcio-, a nawet kilkusetmetrowym torze pomiarowym, umieszczając źródło promieniowania i odbiornik promieni w terenie, w miejscach znacznie od siebie oddalonych, lub stosuje się kuwety White'a [14, 16].

Wymienione urządzenia zalicza się do grupy przyrządów służących do bezpośredniego pomiaru (*on-line instruments*).

Inne metody jednoczesnego poboru i analizy próbki wykorzystują przyrządy bezpośredniego odczytu (*direct-reading instruments*). Pozwalają one najczęściej na określenie wyłącznie całkowitej zawartości węglowodorów w powietrzu, bez żadnych możliwości identyfikacji występujących związków. Aparaty pomiarowe tego typu pracują na podstawie różnych metod detekcji – fotjonizacji promieniowaniem UV, katalitycznego spalania, analizy w podczerwieni, jonizacji płomieniowej. Wykorzystuje się również metody kolorymetryczne, oparte na zastosowaniu kolorymetrycznych rurek absorpcyjnych, które używane są jednak rzadko ze względu na ich liczne wady [7, 17].

2. METODY POBORU PRÓBKI BEZ WZBOGACANIA (*WHOLE-AIR SAMPLING*)

Jest to najłatwiejszy do wykonania sposób pobierania próbek. Najprostsza procedura polega na otwarciu, a następnie zamknięciu zaworów odpompowanego wcześniej pojemnika (*grab sampling*). Objętość tak pobranej próbki równa jest pojemności stosowanego zbiornika. Większą ilość próbki można pobrać, stosując większe pojemniki lub sprężając próbkę.

Przy pobieraniu sprężonej próbki wymagany jest dodatkowy sprzęt – pompka lub zbiornik z cieczą kriogeniczną. Próbki powietrza sprężane kriogenicznie pobiera się do metalowych, ciśnieniowych zbiorników, zanurzając cały zbiornik bezpośrednio przed i w trakcie pobierania próbki w medium chłodzącym, najczęściej ciekłym azocie. Ochłodzone ściany naczynia działają jak kriopompa. Stosowanie oziębianych pojemników metalowych jest bardziej kłopotliwe niż użycie pompki tłoczącej, lecz powoduje minimalne ryzyko kontaminacji próbek [5, 18, 19].

2.1. POJEMNIKI NA PRÓBKĘ POWIETRZA

Pojemniki na próbki wytwarzane są z tworzyw sztucznych, szkła lub metalu. Pojemniki (woreczki) ze sztucznych tworzyw są najtańsze i najwygodniejsze w użyciu [20]. Wykonuje się je z tworzyw o handlowych nazwach: Saran (polichlorek winylidenu), Halar (kopolimer etylenu i trifluoroetyleny), Tedlar (polifluorek winylu), Teflon (PTFE – politetrafluoroetylen lub FEP – kopolimer fluorowanego etylenu i propylenu) oraz Mylar. Mogą one mieć dodatkowo powierzchnię pokrytą warstwą aluminium.

Z użyciem pojemników z tworzyw sztucznych związane jest największe ryzyko zmiany składu pobranej próbki powietrza. Zmianę tę mogą wywołać: permeacja (przenikanie) próbki lub pewnych jej składników przez ścianki pojemnika, chemiczne reakcje składników próbki między sobą lub skład-

nikami tworzywa zachodzące na ściankach, czy też sorpcja analitów na ściankach pojemnika. Może zajść też kontaminacja próbki substancjami wydzielanymi przez tworzywo, z jakiego jest wykonany woreczek. Ogólnie przyjmuje się, że pojemniki z tworzyw mogą być stosowane wyłącznie przy pobieraniu próbek powietrza silnie zanieczyszczonego, w którym stężenia analitów są rzędu co najmniej kilku $\mu\text{g}/\text{m}^3$ [5–7].

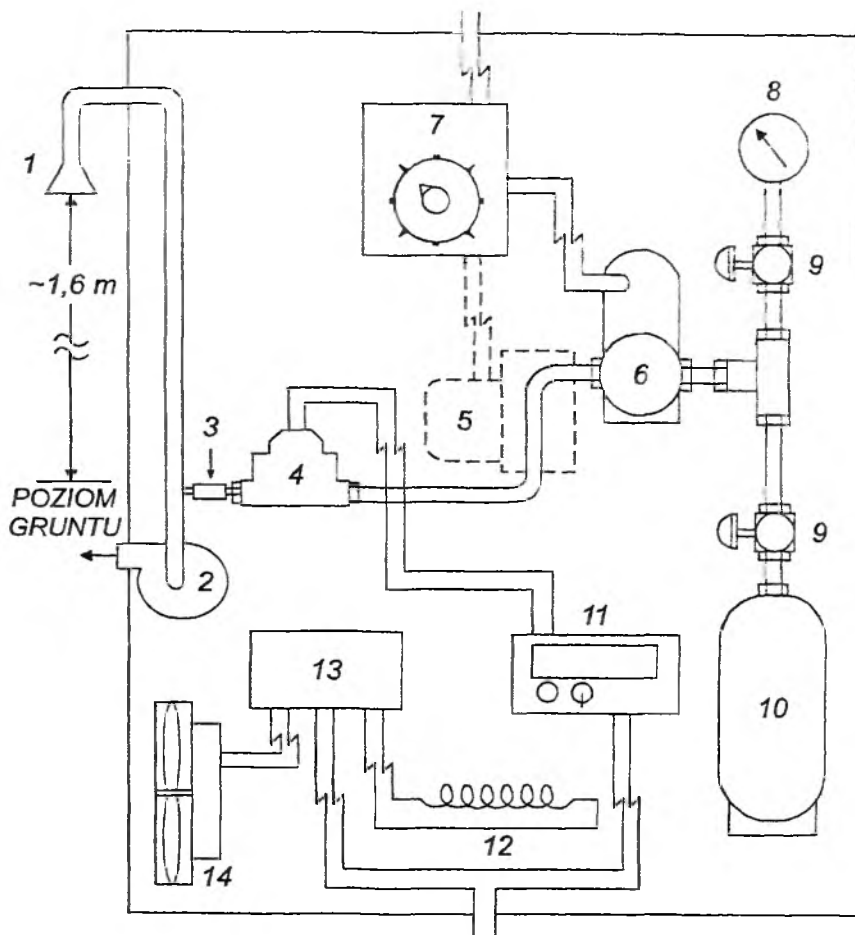
Szklane pojemniki – pipety gazowe [21], gazoszczelne strzykawki [6] czy inne naczynia szklane [22] – stwarzają o wiele mniejsze niebezpieczeństwo zanieczyszczenia próbki, lecz są bardzo niewygodne w użyciu i transporcie ze względu na swoją kruchość. Obecnie coraz częściej odstępuje się od ich użycia na rzecz pojemników metalowych [1, 5].

Pojemniki metalowe, zwane potocznie kanistrami, wykonane są z aluminium lub stali nierdzewnej. Najczęściej stosuje się pojemniki ze stali nierdzewnej (typ 304) z metalowymi zaworami typu Nupro SS-4H [23]. Przy ich konstrukcji unika się stosowania jakichkolwiek części niemetalowych, które mogłyby powodować sorpcję składników próbki [5]. Wewnętrzna powierzchnia pojemników jest poddawana specjalnemu procesowi elektropolerowania SUMMA, którego celem jest pasywacja ścianek i zredukowanie do minimum aktywnych centrów adsorpcji. Przed pobraniem próbki pojemniki muszą być oczyszczone i odpompowane. Zwykle osiąga się to przez przepłukanie pojemnika gazem obojętnym i odpompowanie go w podwyższonej temperaturze przez dłuższy czas (kilkanaście do kilkudziesięciu godzin) [5, 23–27]. W niektórych pracach zaleca się przepłukiwanie pojemników powietrzem nasyconym parą wodną lub dodawanie jej do próbki. Ma to na celu wysycenie cząsteczkami wody ewentualnych centrów aktywnych na wewnętrznej powierzchni pojemnika i zapobieżenie w ten sposób adsorpcji innych składników próbki [23, 26, 28, 29].

Najczęściej używane są pojemniki o pojemności 0,8–6,0 dm^3 . Pojemniki większe, o objętości 35 dm^3 , stosuje się znacznie rzadziej. Można do nich pobierać próbki pod ciśnieniem atmosferycznym [24, 30], sprężając za pomocą pompki [25, 27, 31] lub chłodząc kriogenicznie [19, 27].

Na rys. 2 przedstawiono układ do automatycznego pobierania próbek powietrza atmosferycznego do stalowych pojemników. Układ taki jest wykorzystywany m.in. w procedurze analizy lotnych substancji organicznych oznaczonej symbolem TO-14, opracowanej przez Agencję Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (US EPA) [23, 33].

Stabilność składu przechowywanej w pojemniku próbki zależy od wielu czynników: prężności par analitów, ich polarności, rozpuszczalności w wodzie, reaktywności, a także wilgotności pobranego powietrza, ciśnienia panującego w pojemniku, temperatury powietrza w chwili pobierania próbki i w trakcie przechowywania, charakterystyki powierzchni wewnętrznych ścianek pojemnika czy wreszcie jego poprzednich zastosowań [29, 34]. Generalnie, najbardziej stabilne są stężenia lekkich substancji niepolarnych [23, 30]. Wahaniom w tra-



Rys. 2. Schemat zestawu do automatycznego pobierania próbek powietrza [23]: 1 – wlot powietrza, 2 – pomocnicza pompa próżniowa, 3 – filtr, 4 – przepływomierz, 5 – pompa do sprężania próbki, 6 – zawór elektromagnetyczny, 7 – elektroniczny przełącznik czasowy, 8 – manowakuometr, 9 – zawór, 10 – pojemnik metalowy, 11 – regulator przepływu, 12 – grzejnik, 13 – termostat, 14 – wentylator

kie przechowywania podlegają natomiast stężenia związków polarnych oraz węglowodorów $> C_6$ [4, 5, 23, 27–29].

Wadą metalowych pojemników jest ich wysoka cena (powyżej 500 \$) i gabaryty utrudniające transport oraz żmudna procedura oczyszczania [28].

3. POBIERANIE WZBOGACONYCH PRÓBEK POWIETRZA

Bardzo szeroko rozpowszechnione są techniki pobierania próbek powietrza z jednoczesnym ich wzbogacaniem. Jest to szczególnie korzystne, jeśli stężenia oznaczanych substancji są bardzo niskie lub układ analizujący nie

wykazuje odpowiedniej czułości. Niektóre metody wzbogacania pozwalają dodatkowo na wstępną selekcję substancji zagęszczanych [36].

Znane metody wzbogacania organicznych zanieczyszczeń atmosfery można podzielić na trzy grupy [5–7, 37]:

- wzbogacanie pasywne,
- wzbogacanie denudacyjne,
- wzbogacanie dynamiczne (aktywne).

3.1. WZBOGACANIE PASYWNE

Wzbogacanie pasywne przeprowadza się przez ekspozycję próbnika (dozymetru) zawierającego sorbent przez określony czas w danym miejscu. Proces wzbogacania zachodzi wówczas wyłącznie na drodze dyfuzji lub permeacji (przenikania) przez odpowiednią membranę. Tę metodę stosuje się często w dozymetrach osobistych, służących do kontroli stężeń węglowodorów np. w pomieszczeniach zamkniętych lub do badania ekspozycji pracownika na substancje szkodliwe. Pomiaru takie pozwalają oznaczyć średnie stężenie badanych związków w sąsiedztwie dozymetru przez cały czas jego ekspozycji.

Dozymetry są zwykle proste w konstrukcji, lekkie, nie wymagają żadnego dodatkowego oprzyrządowania. Wadami ich jednak są: długi, w porównaniu ze wzbogacaniem aktywnym, czas pobierania próbki, mniejsza efektywność procesu, brak czułości na krótkotrwałe zmiany w stężeniach oznaczanych związków, konieczność wyznaczania efektywności wzbogacania dla poszczególnych substancji oraz możliwość zachodzenia reakcji chemicznych na powierzchni sorbentu.

Metodami pasywnymi pobiera się zwykle próbki przy oznaczeniach cięższych węglowodorów alifatycznych $> C_5$ i węglowodorów aromatycznych [1, 4, 7, 37–39].

3.2. DENUDACJA

Denudacja jest metodą pośrednią między wzbogacaniem pasywnym i aktywnym. Polega na przepuszczaniu strumienia gazu przez rurkę, której ścianki są pokryte odpowiednim sorbentem. Składniki ze strumienia dyfundują do sorbentu. Zaletą tej metody jest możliwość rozróżnienia i oddzielnego wzbogacania gazów i fazy skondensowanej, selektywność oraz przydatność do prowadzenia pomiarów długoterminowych [6, 37].

3.3. WZBOGACANIE AKTYWNE

Wzbogacanie aktywne polega na przepuszczeniu dużej objętości powietrza przez próbnik-pułapkę, w którym węglowodory zostają wychwycone ze strumienia powietrza i zatrzymane. Przy tej metodzie pobierania próbek nie-

zbędnym wyposażeniem są pompa i licznik przepływu gazu [38]. Rolę pułapki może pełnić rurka wypełniona odpowiednim sorbentem lub wzbogacenie może nastąpić na drodze kriogenicznego wymrażania. Czasem stosuje się kombinację obu metod, tzn. rurka zawierająca sorbent jest utrzymywana w obniżonej temperaturze.

Przegląd stosowanych metod wzbogacania NMHC w próbkach powietrza atmosferycznego przedstawiono w tab. 1a i 1b.

Tabela 1a. Metody wzbogacania niemetanowych węglowodorów w próbkach powietrza atmosferycznego – wzbogacanie kriogeniczne

Metoda	Pochodzenie próbki powietrza	Oznaczone węglowodory	Piśmienictwo
Rurka z kulkami szklanymi, chłodzona ciekłym azotem	miasto	C_2-C_{10}	[21, 22, 76]
	miasto	C_6-C_{10} arom.	[80]
	wieś, tereny podmiejskie	C_2-C_6	[20]
Rurka z kulkami szklanymi, chłodzona do $-100^\circ C$	obszary nie zanieczyszczone	C_2-C_{10}	[79]
	obszary silnie zanieczyszczone	C_2-C_8	[31]
	obszary nie zanieczyszczone	C_2-C_6	[50, 77, 82]
Dwie rurki – pierwsza z kulkami szklanymi, druga pusta, chłodzone ciekłym azotem	obszary nie zanieczyszczone	C_2-C_6	[50, 77, 82]
Rurka z kulkami szklanymi, chłodzona ciekłym tlenem lub argonem	miasto	C_2-C_{12}	[32, 52]
	miasto	C_2-C_6	[54]
	miasto	$> C_5$	[84]
Rurka z watą szklaną, chłodzona ciekłym azotem	miasto	suma $< C_4$ oraz C_5-C_6	[85]
Dwie rurki – z kulkami szklanymi i Chromosorbem A chłodzone ciekłym azotem	miasto	C_2-C_{10}	[9]
Rurka wypełniona Tenaxem GC i kriopułapka chłodzona ciekłym tlenem	miasto i teren podmiejski	C_2-C_8	[81]
Rurka wypełniona watą szklaną oraz fragment kolumny kapilarnej Pora PLOT Q	miasto	C_2-C_{12}	[25]
	tunel	C_2-C_{12}	[74]
Rurka z wypełnieniem Carbowax 20 M TPA na Chromosorbie oraz rurka z kulkami szklanymi, chłodzona ciekłym tlenem lub argonem	miasto	C_2-C_{12}	[35]

Tabela 1b. Metody wzbogacania niemetanowych węglowodorów w próbkach powietrza atmosferycznego – wzbogacanie na sorbentach

Metoda	Pochodzenie próbki powietrza	Oznaczone węglowodory	Piśmienictwo
Tenax	miasto	C_5 i $> C_5$	[78]
Tenax GC	miasto tunel	C_6 – C_{14} $> C_4$	[86] [71]
Tenax TA	miasto tunel	C_8 – C_{18} C_8 – C_{18}	[25] [34, 74]
Tenax TA lub Carbotrap	obszary mało zanieczyszczone	C_2 – C_8	[27]
Carbopack BHT, chłodzony do temperatury $-120^\circ C$	miasto	C_2 – C_{10}	[49]
Węgiel aktywny		C_2 – C_5 C_4 – C_6 alifat. C_6 – C_9 aromat. suma C_4 – C_{10}	[88] [62] [63, 65] [64]
Żel krzemionkowy, chłodzony do temp. $-78^\circ C$	miasto	C_2 – C_5	[48, 60, 89]
Żel krzemionkowy, chłodzony ciekłym azotem	miasto	C_2 – C_5	[80]
Sito molekularne 13X	miasto	C_2 – C_4	[90]
Carbowax 1540/Gas Chrom chłodzony ciekłym azotem	miasto	C_4 – C_8	[80]
Warstwy: Carbosieve B – żel krzemionkowy	obszary nie zanieczyszczone	C_2 – C_5	[30]
Warstwy: Tenax GC – sito molekularne 5A		C_2 – C_4	[43]
Warstwy: Tenax TA – Carbosphere S		C_2 – C_8	[24]
Warstwy: Spherosil XOA 200 – Carbosieve B, chłodzone do $-45^\circ C$	obszary nie zanieczyszczone	C_2 – C_5	[92]
Warstwy: Carbochrome – PSKT	miasto	C_4 – C_{11}	[46]
Warstwy: Carbotrap – Carbosieve S-III	obszary nie zanieczyszczone	C_2 – C_5	[10]
Warstwy: Tenax GC – sito molekularne 5A – Carbosieve S-II	miasto	C_2 – C_{10}	[59]
Warstwy: Tenax TA – Carbotrap – Carbosieve S-III	miasto	C_2 – C_8 C_2 – C_{10}	[93] [12]
Warstwy: Carbotrap C – Carbotrap – Carbosieve S-III	miasto	C_2 – C_8	[94]
Jw., chłodzone	obszary mało zanieczyszczone	C_2 – C_8	[8, 11]

3.3.1. Wzbogacanie na sorbentach

Rurki sorpcyjne są powszechnie stosowane do pobierania próbek powietrza atmosferycznego zanieczyszczonego węglowodorami. Wypełnione są najczęściej węglem aktywnym lub innymi sorbentami węglowymi – sitami molekularnymi (np. Carbosieve, Amberosorb, Carboxen), węglem grafityzowanym (np. Carbotrap, Carbopack) lub sorbentami polimerowymi (np. Tenax GC, Tenax TA) [1, 6, 41, 42]. Przez rurkę przepuszcza się z niewielką prędkością próbkę powietrza o objętości od kilkuset mililitrów do kilkudziesięciu litrów. Niektóre z wypełnień działają selektywnie w stosunku do różnych grup NMHC i stosując sorbenty mieszane można przeprowadzić już w trakcie pobierania próbki wstępny rozdział węglowodorów [8, 10, 24, 36, 43].

Dodatkowymi zaletami rurek sorpcyjnych jest ich niski koszt oraz łatwość stosowania i transportu.

Metoda ta ma jednak również wiele ograniczeń [9, 27, 36]. Sorbentów nie można stosować do najbardziej lotnych węglowodorów, które mogą być na sorbencie zatrzymywane ilościowo. Z kolei związki o dużej masie cząsteczkowej stwarzają problemy przy desorpcji. Na powierzchni sorbentu mogą zachodzić reakcje wiodące do powstawania tzw. artefaktów – związków tworzących się w trakcie przechowywania i analizy, a nie występujących w próbce pierwotnej. W trakcie desorpcji wiele sorbentów daje zbyt wysokie tło, które powstaje na skutek degradacji złoża sorbującego lub niecałkowitego jego oczyszczenia [40, 44].

Ze stosowaniem sorbentów związany jest ponadto problem przebiccia złoża: jeżeli zawartość analitów w próbce przekracza pojemność sorpcyjną złoża, to oznaczane substancje nie zostaną ilościowo zatrzymane [4, 36, 41]. Aby zapobiec temu zjawisku, stosuje się dwie warstwy wypełnienia w rurkach – obecność analitów w drugiej warstwie świadczy o przebicciu złoża pierwszego lub innych nieprawidłowościach poboru próbki [25, 43, 45]. Proces sorpcji bywa też często zakłócany przez obecność zbyt dużych ilości wilgoci w pobieranym powietrzu, co jest szczególnie zauważalne przy posługiwaniu się sorbentami o właściwościach hydrofilowych [6, 46].

3.3.2. Wzbogacanie kriogeniczne

Przy kriogenicznym wzbogacaniu próbki strumień powietrza przepuszcza się przez rurkę utrzymywaną w niskiej temperaturze za pomocą mediów chłodzących – mieszanin oziębiających lub cieczy kriogenicznych. Dają one możliwość uzyskania temperatur w przedziale od około -50°C (mieszanina lodu i CaCl_2) do -196°C (temperatura wrzenia ciekłego azotu) [47]. Próbniki do pobierania próbek z górnych warstw atmosfery chłodzi się za pomocą ciekłego neonu (-246°C) lub helu (-269°C) [19].

Automatyczne systemy chłodzenia pobieranych próbek powietrza zawierają układy do pompowania ciekłego azotu, czujniki poziomu środka chłodzącego i jego temperatury oraz element grzejny. Uzyskuje się dzięki temu możliwość selektywnego wzbogacania określonej frakcji składników, kondensujących w danym przedziale temperatur [6].

Innym rozwiązaniem technicznym stosowanym do chłodzenia pułapek do wzbogacania próbek powietrza są pompy cieplne (mikrochłodziarki), oparte na wykorzystaniu zjawiska adiabatycznego rozprężania gazów (efekt Joule'a-Thomsona), efektu Peltiera oraz efektu parowania [4, 6]. Schematy układów stosowanych do wzbogacania w anality próbek powietrza atmosferycznego można znaleźć w monografii [6].

Rurka używana jako pułapka kriogeniczna może być bądź pusta, o małej średnicy wewnętrznej, bądź wypełniona materiałem obojętnym – kuleczkami szklanymi, nośnikiem ceramicznym. Jego zadaniem jest zwiększenie powierzchni wewnętrznej pułapki. Oznaczane węglowodory zostają wymrożone i zatrzymane w postaci skondensowanej w kriopułapce. Czasem do wypełnienia pułapki używa się materiałów sorbujących, ponieważ niska temperatura sprzyja procesowi adsorpcji [24, 48]. Sorpcja w niskich temperaturach jest szczególnie polecaną techniką przy oznaczaniu najbardziej lotnych NMHC.

Wymrażanie węglowodorów z próbki powietrza prowadzi się bezpośrednio w miejscu jej poboru lub pobraną w terenie do stalowego pojemnika próbkę wzbogaca się kriogenicznie w laboratorium. Gdy analiza wykonywana jest z użyciem kolumn kapilarnych, zwykle niezależnie od tego, czy wcześniej już wzbogacano próbkę, konieczny jest drugi stopień wzbogacania, tzw. krioogniskowanie (*cryofocusing*) [26, 47, 49, 50]. Ma ono na celu zogniskowanie analitu przez wymrożenie dokładnie na czole kolumny [22, 24, 49] lub w prekolumnie [10, 18]. Prekolumnę stanowi rurka o małej objętości (lub krótki odcinek kolumny kapilarnej), zanurzona w cieczy kriogenicznej. Następuje w niej zagęszczenie węglowodorów w bardzo małej objętości i taka próbka, po termodesorpcji, jest przenoszona przez strumień gazu nośnego bezpośrednio na kolumnę chromatograficzną. Zwykle krioogniskuje się niewielkie objętości badanego powietrza – najczęściej od 200 cm³ do 1 dm³.

Przy metodach kriogenicznych najwięcej problemów stwarza występująca w powietrzu para wodna [1, 6, 7, 18, 47], której obecność w powietrzu atmosferycznym już o przeciętnej wilgotności może zaburzać proces wzbogacania i analizy próbki. W temperaturach poniżej 0 °C woda i lód mogą zmniejszyć światło przewodów i zablokować kapilary. Wilgoć powoduje osłabienie zdolności sorpcyjnej sorbentów [6]. Duże ilości wody dostające się na kolumnę wraz z próbką mogą spowodować dryft linii podstawowej [51], pojawianie się dodatkowych pików na chromatogramie [19] lub nawet znaczne przesunięcia czasów retencji [10, 30, 50]. Niektóre kolumny mogą ulec uszkodzeniu na skutek kontaktu wypełnienia z wodą. Duża zawartość pary wodnej w wypły-

wającym z kolumny gazu może zgasić płomień w palniku detektora FID, choć częściej powodowane jest to przez zaburzenia ciśnienia i prędkości przepływu gazu nośnego wywołane przemieszczaniem się „chmury” pary wodnej przez kolumnę [7, 52, 53].

Parę wodną można usunąć z powietrza przepuszczając strumień próbki przez warstwę substancji higroskopijnej – bezwodnego węgla potasu, nadchloranu magnezu, wodorotlenku sodu w różnych postaciach – granulowanego lub naniesionego na nośnik (tzw. askaryt). Stosowane środki suszące muszą efektywnie absorbować parę wodną, lecz nie mogą zaburzać składu próbki [8, 10, 18, 22, 27, 28, 30, 43, 45, 49, 52–54].

Do suszenia próbek powietrza stosuje się również metody permeacyjne. Wykorzystuje się w tym celu rurki wykonane z półprzepuszczalnego tworzywa Nafion. Strumień osuszanego gazu przepływa przez umieszczoną w pojemniku ciekłą rurkę wykonaną z tego tworzywa i omywaną przez strumień suchego gazu, płynącego w kierunku przeciwnym niż próbka. W tych warunkach para wodna dyfunduje przez ścianki membrany do ośrodka o niższej wilgotności. Czasem zamiast stosowania suchego gazu pojemnik wypełnia się stałym środkiem suszącym, zwykle sitem molekularnym [6, 10, 34, 55, 56].

Innymi, rzadziej stosowanymi metodami osuszania są zimne pułapki – U-rurki lub spiralne rurki zanurzone w kąpeli chłodzącej, w których kondensuje zawarta w próbce para wodna [28, 40] – albo technika usuwania wody na drodze suchej (*dry purge*) używana dla rurek sorpcyjnych – po zakończeniu poboru próbki rurkę przedmucha się suchym gazem nośnym o temperaturze około 20 °C [28].

Z próbek powietrza powinien być też usuwany dwutlenek węgla, który tak jak para wodna zestala się w niskich temperaturach, a na niektórych kolumnach może powodować zakłócenia w detekcji lekkich węglowodorów. Do usuwania CO₂ najczęściej stosowany jest NaOH [49].

Prowadzone badania wykazują jednak, że nie ma idealnego środka suszącego; prawie każdy z nich zaburza w jakiś sposób skład analizowanej próbki. Według opinii wielu autorów największe problemy stwarza ilościowe oznaczenie cięższych węglowodorów > C₆, które często adsorbowane są przez środek suszący, natomiast stosowanie membran z Nafionu powoduje zaniżenie stężeń butenów lub tworzenie się artefaktów. Generalnie, autorzy publikacji nie są zgodni w ocenie wpływu środka suszącego na skład analizowanej próbki. Niekiedy rezygnuje się z osuszania próbki, redukując jej objętość do minimum [9, 51].

Innym czynnikiem przeszkadzającym przy analizie węglowodorów w powietrzu ze wzbogacaniem zarówno sorpcyjnym, jak i niskotemperaturowym, jest ozon, który może reagować z węglowodorami z próbki, szczególnie nienasyconymi, powodując, że ich zawartość oznaczana w próbce jest mniejsza niż w rzeczywistości [57, 58].

3.4. METODY UWALNIANIA WZBOGACONEJ PRÓBK POWIETRZA ATMOSFERYCZNEGO

Ilościowe uwolnienie wzbogaonej próbki powietrza przeprowadza się przez desorpcję termiczną lub desorpcję za pomocą rozpuszczalnika (ekstrakcję).

Desorpcja termiczna znajduje zastosowanie zarówno w wypadku wzbogacania kriogenicznego, jak i wzbogacania na sorbentach [59–61], ekstrakcja natomiast służy do uwalniania składników zaadsorbowanych na złożu [1, 5, 7, 37, 38, 41, 45, 62–65].

Najmniejsze ryzyko zaburzenia składu próbki związane jest z desorpcją termiczną próbki wzbogacanej kriogenicznie bez złoża sorbującego. Ogrzewanie sorbentu powoduje bowiem zawsze niebezpieczeństwo jego degradacji i podwyższenia tła. Temperatura desorpcji powinna być tak dobrana, by spowodowała całkowite uwolnienie związków trudno lotnych lub silniej adsorbowanych, a zarazem nie wywołała rozkładu substancji termicznie nietrwałych [30]. Przy tej metodzie desorpcji unika się rozcieńczenia wzbogaonej próbki i do analizy można użyć jej całą objętość. Przy dobrze wykonanej desorpcji kriopułpkę i niektóre rurki z sorbentem można użyć ponownie bezpośrednio po jej zakończeniu.

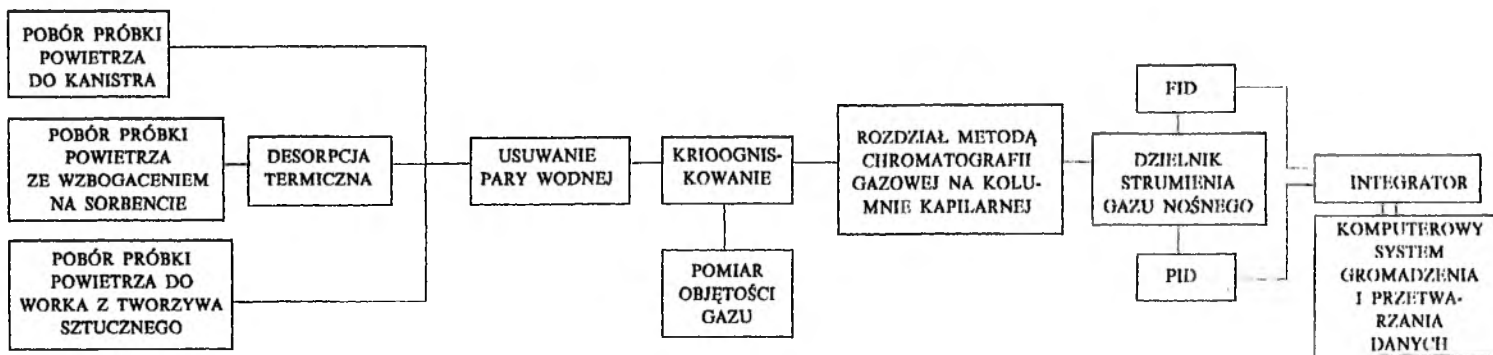
Ekstrakcja rozpuszczalnikiem nie wymaga żadnego dodatkowego oprzyrządowania i można za jej pomocą desorbować z taką samą wydajnością wszystkie związki. Do ekstrakcji wymagane są jednak bardzo czyste i w związku z tym kosztowne rozpuszczalniki. Większość z nich jest ponadto toksyczna, a szczególnie najszerszej stosowany, zwłaszcza do sorbentów węglowych, disiarczek węgla [45, 62–64].

4. CHROMATOGRAFICZNE METODY OZNACZANIA NIEMETANOWYCH WĘGLOWODORÓW W POWIETRZU ATMOSFERYCZNYM

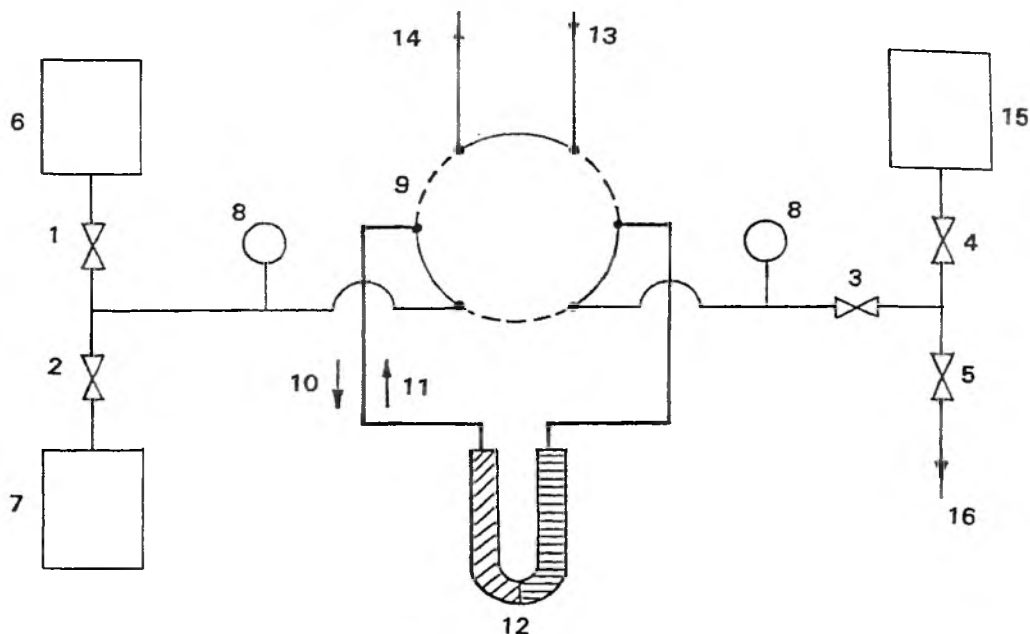
Spśród wszystkich metod analitycznych najczęściej stosowaną i powszechnie uznawaną za dającą najlepsze wyniki, zarówno jakościowe, jak i ilościowe, przy oznaczaniu lekkich węglowodorów w powietrzu atmosferycznym, jest chromatografia gazowa.

Opracowano wiele układów pomiarowych różniących się sposobem pobierania i wzbogacania próbki powietrza, dozowania próbek na kolumnę analityczną, rodzajem kolumny i jej wypełnieniem, stosowanymi detektorami oraz metodami kalibracji. Schemat najczęściej stosowanych rozwiązań przedstawiono na rys. 3.

W metodzie zastosowanej w pracy J. Rudolpha i in. [30] próbka pobrana do metalowego pojemnika jest następnie wzbogacana metodą sorpcyjną (rys. 4). Jako sorbent stosuje się porowatą krzemionkę i Carbosieve w temperaturze



Rys. 3. Schemat układów do pobierania i analizy próbek powietrza atmosferycznego na zawartość NMHC (na podstawie [52])

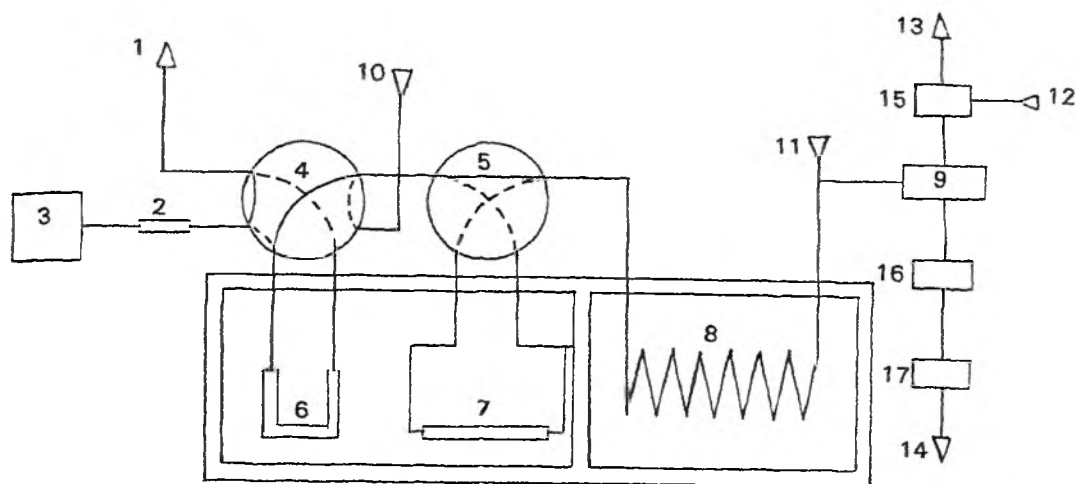


Rys. 4. Schemat układu do wzbogacania i oznaczania niemetalowych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym [30]: 1, 2, 3, 4, 5 – zawory, 6 – zbiornik z próbką, 7 – butla z mieszaniną kalibracyjną, 8 – manometry, 9 – zawór sześciodrożny, 10 – kierunek przepływu próbki przy wzbogacaniu, 11 – kierunek przepływu próbki przy dozowaniu, 12 – kolumna wzbogacająca z wypełnieniem warstwowym: porowata krzemionka i Carbosieve, 13 – wlot gazu nośnego (hel), 14 – wylot do kolumny chromatograficznej, 15 – objętość wzorcowa, 16 – połączenie z pompą próżniową

około -30°C . Wzbogacona próbka dozowana jest na kolumnę rozdzielającą przez termiczną desorpcję. Próbka osuszana jest bezpośrednio przed analizą chromatograficzną, już po etapie wzbogacania.

Układ skonstruowany przez F. J. Reineke i K. Bachmann [24] przystosowany jest do wzbogacania próbek powietrza pobieranych do kanistrów oraz do analizy próbek pobranych do rurek sorpcyjnych (rys. 5). Próbki z kanistrów przepuszcza się przez kolumnę wzbogacającą, wypełnioną dwiema warstwami sorbentu: Spherosil XOA 200 i Carbosieve B. Dozowanie na kolumnę rozdzielającą (kolumna kapilarna PLOT o długości 50 m, pokryta Al_2O_3) odbywa się przez desorpcję termiczną próbek z kolumny wzbogacającej lub z rurek sorpcyjnych. Do detekcji służy układ 3 detektorów ECD, PID i FID, co umożliwia równoczesne oznaczanie lotnych węglowodorów i ich halogenopochodnych.

W urządzeniu do pobierania i wzbogacania próbek powietrza atmosferycznego P. B. Shepsona i in. [40] para wodna z próbek jest wymrażana w spiralnych stalowych pułapkach zanurzonych w ciekłym argonie (rys. 6), gdzie ulega

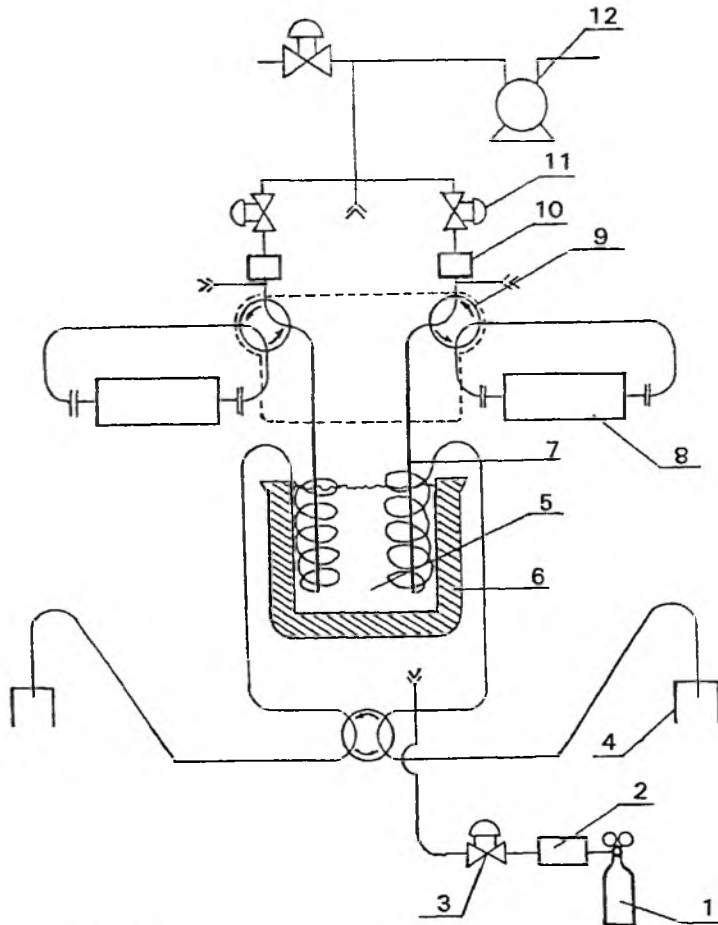


Rys. 5. Schemat układu do oznaczania węglowodorów C_2-C_8 i halogenowęglowodorów w powietrzu atmosferycznym metodą chromatografii gazowej z zastosowaniem kriogniskowania i trzech detektorów (PID, ECD i FID) [24]: 1 – pompa, 2 – rurka z $Mg(ClO_4)_2$, 3 – pojemnik metalowy z próbką powietrza, 4 – zawór sześciopiętowy, 5 – zawór czteropiętowy, 6 – kolumna wzbogacająca z wypełnieniem warstwowym: Spherosil XOA 200 i Carbosieve B, ziębiona do $-100^\circ C$ (wzbogacanie) i ogrzewana do $280^\circ C$ przy desorpcji, 7 – rurka sorpcyjna z wypełnieniem: Tenax TA i Carbosphere S, 8 – kolumna kapilarna 50 m, Alumina PLOT, 9 – dzielnik strumienia gazów, 10 – doprowadzenie gazu nośnego (helu), 11 – doprowadzenie gazu uzupełniającego I, 12 – doprowadzenie gazu uzupełniającego II, 13, 14 – wyloty gazu, 15 – detektor ECD, 16 – detektor PID, 17 – detektor FID

zestaleniu w postaci cienkiej warstewki lodu. W kriopułapkach następuje również wzbogacenie analitów. Następnie wzbogacona próbka przenoszona jest z ogrzanej wymrażarki w strumieniu gazu nośnego do rurek wypełnionych Tenaxem. Zaadsorbowana na Tenaxie próbka jest transportowana do laboratorium, desorbowana termicznie i analizowana metodą GC/MS.

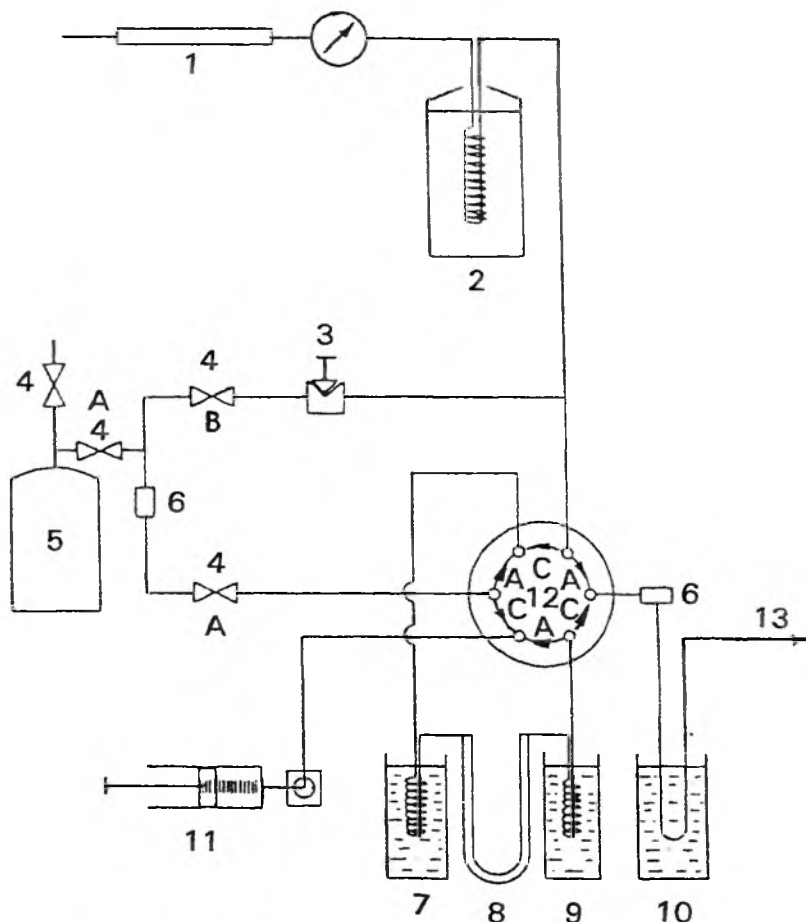
N. Schmidbauer i M. Oehme [50] do wzbogacania próbek powietrza atmosferycznego pobranych do metalowych pojemników stosowali dwustopniowe wzbogacanie kriogeniczne, w podwójnej pułapce chłodzonej ciekłym azotem. Zawartość kriopułapki po termodesorpcji jest kriogniskowana przed wprowadzeniem na kolumnę chromatograficzną w kapilarnej rurce stalowej (rys. 7).

Metoda analityczna oznaczania niemetanowych węglowodorów opracowana przez P. Matuskę i in. [49] wykorzystuje rozdzielanie węglowodorów na kolumnie kapilarnej CP-Sil-5-CB z programowanymi temperaturą i ciśnieniem. Próbki powietrza pobrane do pojemników metalowych osusza się za pomocą $NaOH$ i $Mg(ClO_4)_2$, a następnie wzbogaca w rurce sorpcyjnej wypełnionej sorbentem Carbopack BHT, chłodzonej do temperatury $-120^\circ C$ i kriogniskuje w początkowym odcinku kolumny chromatograficznej (rys. 8).



Rys. 6. Schemat urządzenia do pobierania i wzbogacania próbek powietrza atmosferycznego w celu oznaczenia niemetanowych węglowodorów [40]: 1 – butla z azotem, 2 – filtry, 3 – zawór, 4 – sonda, 5 – ciekły argon, 6 – naczynie Dewara, 7 – wymrażarka, 8 – rurka z sorbentem Tenax, 9 – zawór czterodrożny, 10 – przepływomierz, 11 – zawór, 12 – pompa

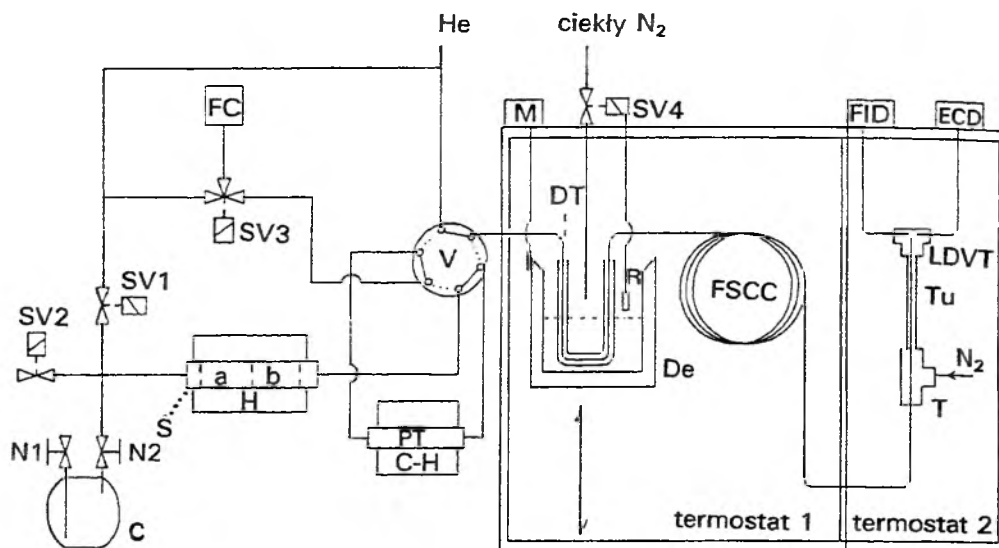
Układ opisany przez J. Mowrera i A. Lindskog [10] służy do automatycznego oznaczania węglowodorów niemetanowych C_2-C_5 w powietrzu atmosferycznym na obszarach nie zanieczyszczonych (Rörvik, Szwecja). Pomiary te prowadzono w ramach ogólnoeuropejskiego programu monitoringu antropogenicznych zanieczyszczeń powietrza (EUROTRAC). Na rys. 9 przedstawiono cztery etapy pracy automatycznego analizatora. Jego działanie obejmuje pobieranie próbek powietrza wzbogacanych na sorbentach, ich termiczną desorpcję, a następnie krioogniskowanie próbki i dozowanie jej na kolumnę rozdzielającą. Cały cykl powtarza się w ściśle określonych odstępach czasowych. Przykładowy chromatogram próbki powietrza atmosferycznego, gazu wzorcowego oraz gazu nośnego przedstawia rys. 10.



Rys. 7. Schemat aparatury do wzbogacania próbki powietrza atmosferycznego z zastosowaniem krioogniskowania [50]: 1 – rurka z sorbentem (węgiel aktywny i sito molekularne 5A) do oczyszczania gazu nośnego, 2 – kriopułapka (10 dm^3 ciekłego azotu) do oczyszczania gazu nośnego, 3 – zawór iglicowy, 4 – zawory odcinające, 5 – pojemnik metalowy z próbką powietrza, 6 – dozownik mieszaniny wzorcowej, 7, 9 – układ pułapek kriogenicznych, 8 – rurka z K_2CO_3 , 10 – prekolumna krioogniskująca, 11 – pomiar objętości, 12 – zawór sześciopiętrowy, 13 – połączenie z kolumną kapilarną; A – zawory otwarte w trakcie wzbogacania próbki, B – zawór otwarty w trakcie przepłukiwania układu helem, C – położenie zaworu w trakcie przenoszenia próbki do prekolumny krioogniskującej

W połączeniu z różnymi technikami wzbogacania próbki, chromatografia gazowa umożliwiła oznaczanie substancji organicznych występujących w powietrzu w stężeniach nawet rzędu kilku ppt. Aby jednak osiągnąć wymaganą czułość i niską granicę wykrywalności, konieczne jest dobranie odpowiedniej metody detekcji.

Przy oznaczeniach węglowodorów najczęściej stosowane są detektory jonizacyjne: płomieniowo-jonizacyjny (FID) lub fotojonizacyjny (PID). Dete-



Rys. 8. Schemat aparatury do wzbogacania próbki powietrza i oznaczania węglowodorów i halogenowęglowodorów metodą GC [49]: C – pojemnik metalowy z próbką powietrza, S – rurka sorpcyjna do usuwania CO_2 i H_2O , a – askaryt, b – $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, H – urządzenie grzewcze, FC – pomiar objętości, PT – pułapka kriogeniczna z wypełnieniem Carboxpack BHT, C-H – element chłodząco-grzewczy, V – zawór sześcioprogowy, DT – pułapka kriogeniczna, De – naczynie Dewara z ciekłym azotem, R – termometr oporowy, M – urządzenie do automatycznego opuszczania i podnoszenia naczynia Dewara, FSCC – kolumna kapilarna, N – zawór stalowy Nupro, SV1, SV2, SV3, SV4 – zawory elektromagnetyczne, T – łącznik Swageloka, Tu – kapilara, LDVT – dzielnik strumienia

ktor FID jest bardziej uniwersalny niż PID, którego nie można stosować do oznaczeń węglowodorów C_1 - C_4 . Detektor PID jest jednak znacznie czulszy od FID-u dla cięższych węglowodorów, a szczególnie dla węglowodorów aromatycznych [18, 66-68]. Granica wykrywalności dla detektora FID wynosi 100 pg, dla detektora PID zaś – 2 pg w odniesieniu do substancji, dla których detektory te są najbardziej czułe [69]. Czasem łączy się je szeregowo, przy czym detektor PID musi zawsze poprzedzać FID, który jest detektorem niszczącym. Do detekcji NMHC używa się też spektrometrów masowych sprzężonych z chromatografami gazowymi. Jest to szczególnie wygodna metoda przy identyfikacji składników złożonych mieszanin węglowodorowych [25, 32, 34, 40, 68, 70, 71].

Do separacji węglowodorów w próbkach powietrza używane były początkowo kolumny pakowane. Obecnie szeroko stosuje się kolumny kapilarne, mające o wiele większą zdolność rozdzielczą. Czasem używa się układów 2 kolumn (np. DB-1 i GS-Q), łącząc je w systemie wymywania zwrotnego (*back-flush*) [18]. Przegląd najczęściej stosowanych wypełnień kolumn chromatograficznych używanych do analiz węglowodorów niemetanowych przedstawia tab. 2a i b.

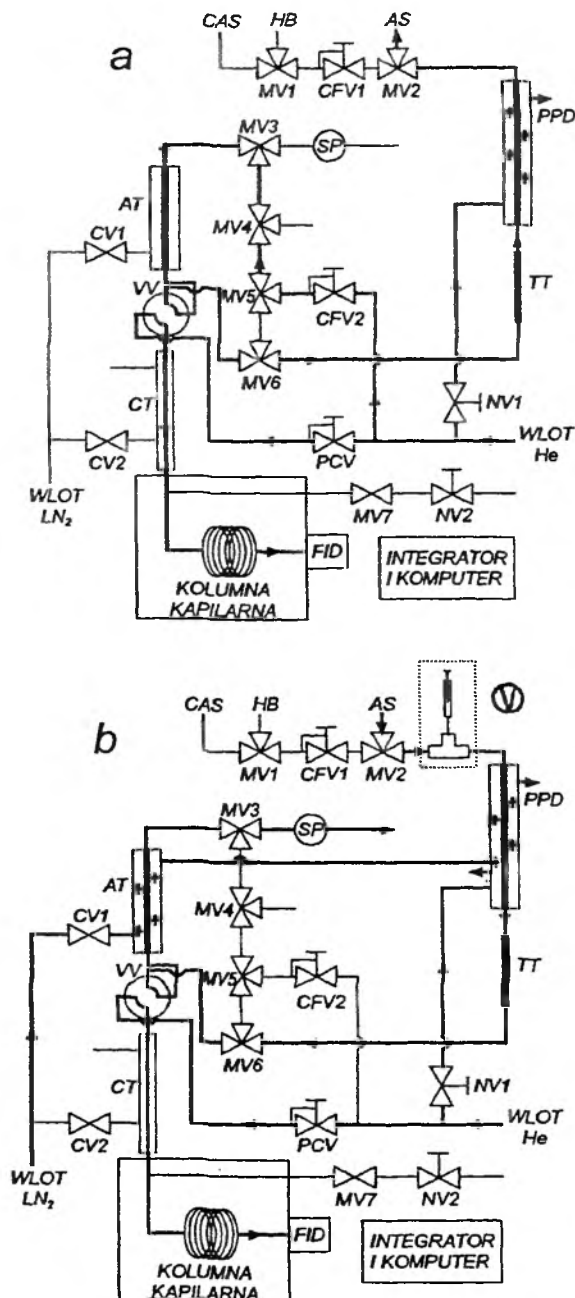
Tabela 2a. Wypełnienia kolumn chromatograficznych stosowanych do oznaczeń niemetanowych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym – kolumny pakowane

Wypełnienie	Rozdzielane związki	Pismienictwo
Żel krzemionkowy	C ₂ C ₂ -C ₃	[35] [80]
Al ₂ O ₃	C ₂ -C ₄ C ₂ -C ₃	[90] [81]
Porapak QS	< C ₄	[18]
Spherosil XOB 075	C ₂ -C ₃	[30, 92]
Oktan/Porasil C	C ₂ -C ₃ C ₂ -C ₆ C ₂ -C ₆ , łańcuchy proste	[60] [21, 54, 76] [20]
OPN/Porasil C	C ₂ -C ₃	[48, 89]
Ftalan didecyłu/ Chromosorb P	łańcuchy rozgałęzione C ₂ -C ₄	[20]
SP-1200+ Benton 34/ Chromosorb W	C ₂ -C ₈	[81]
Triton X-100/ Chromosorb	C ₄ -C ₆ alifatyczne	[62]
TCEP/Chromosorb lub Carbowax 20M/Chromosorb	węglowodory aromat. C ₆ -C ₉	[63]
OV-275/Chromosorb	suma węglowodorów alifatycznych C ₄ -C ₁₀	[64]
Kwas pikrynowy/ Graphpack GC	suma węglowodorów < C ₄ i pojedyncze C ₅ -C ₆	[85]

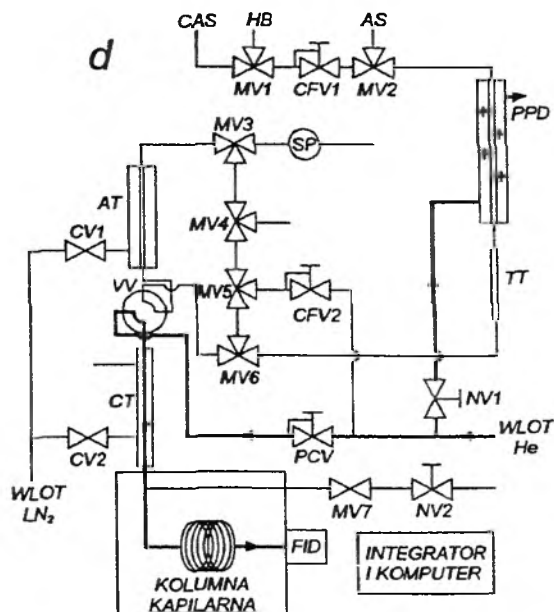
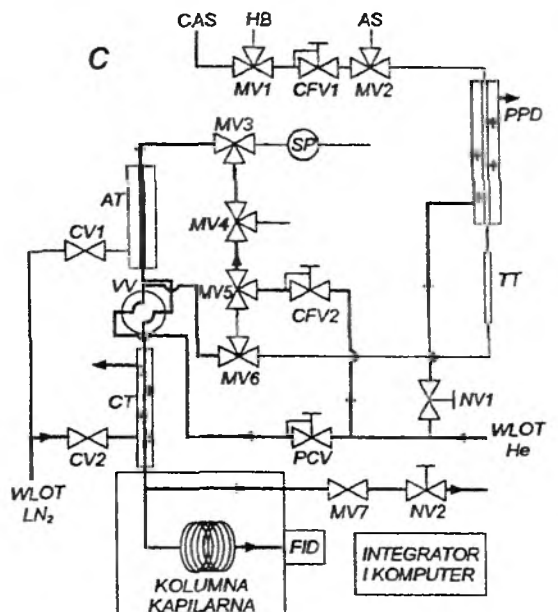
Na jakość rozdziału korzystnie wpływa zastosowanie niskotemperaturowych kolumn chromatograficznych [9, 21, 24, 32, 52, 54].

Do potrzeb terenowych laboratoriów badających rutynowo stan zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego węglowodorami opracowywane są metodyki i normy określające dokładny tok postępowania przy analizie NMHC w powietrzu atmosferycznym.

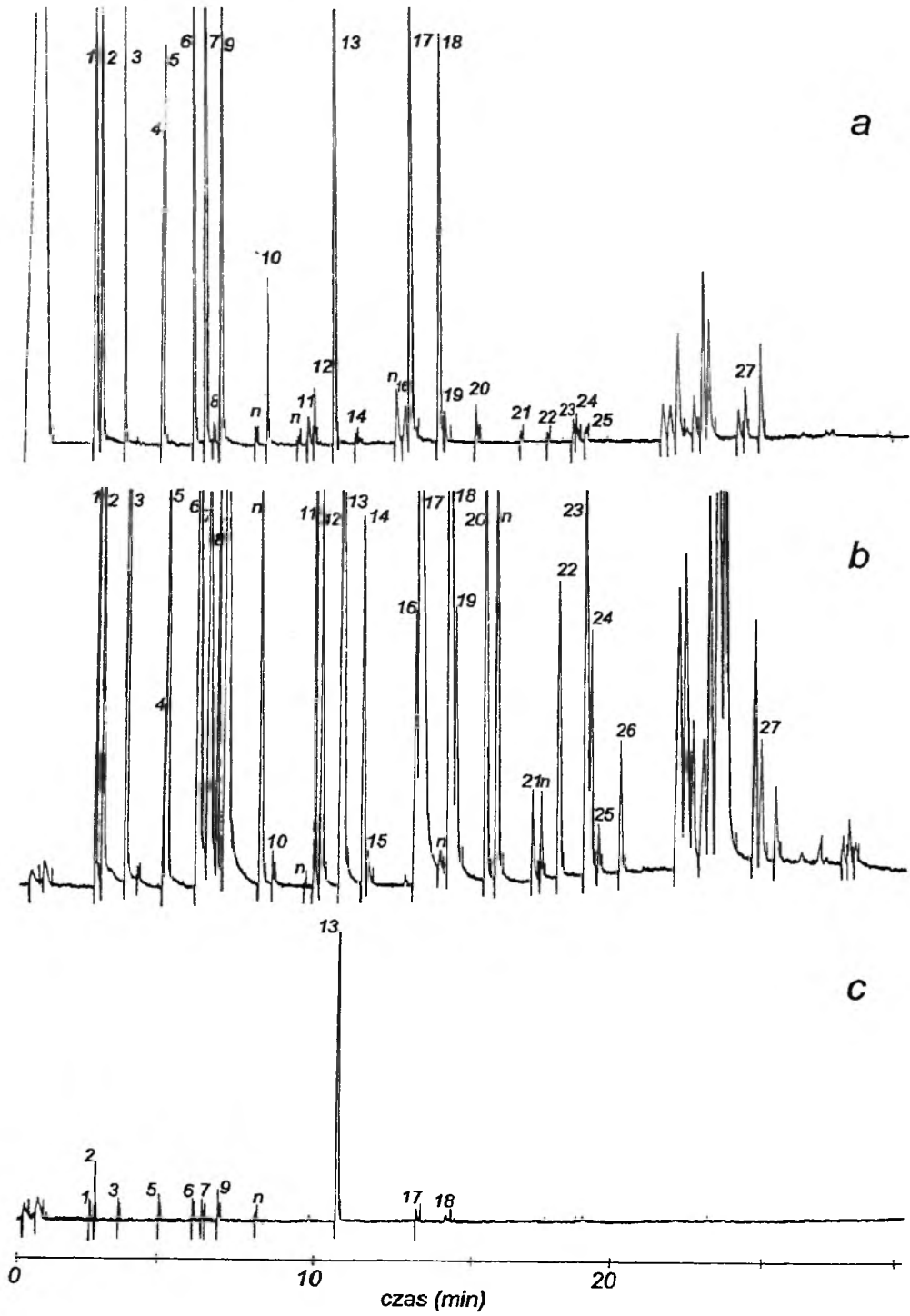
Najbardziej kompleksowe są metodyki oznaczeń zanieczyszczeń powietrza opracowane przez Agencję Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (US EPA). Często jedna procedura analityczna służy do oznaczania kilkunastu różnych lotnych związków organicznych w powietrzu. Oznaczenia węglowodorów z grupy NMHC można wykonywać według następujących procedur opublikowanych przez EPA, oznaczonych symbolami: TO1, TO2, TO3, TO12, TO14 [33].



Rys. 9. Schemat automatycznego analizatora powietrza, przedstawiający cztery etapy cyklu analitycznego: a – oczyszczanie układu, b – pobieranie próbki, c – desorpcja/kriogniskowanie, d – dozowanie próbki i analiza. Element V na rysunku (b) pokazuje umiejscowienie trójnika Swageloka i strzykawkę stosowaną do kalibracji przy użyciu wzorcowego sprężonego powietrza [10]. CAS – sprężone powietrze wzorcowe, HB – hel (ślepa próba), AS – próbka powietrza,



MV – dwudrożny lub trójdrożny zawór magnetyczny, CFV – zawór do ustalania stałego przepływu, PPD – osuszalnik permeacyjny Perma Pure, SP – pompa, TT – pułapka z sorbentem Tenax, AT – rurka adsorpcyjna z wypełnieniem Carbotrap i Carbosieve S-III, CV – zawór kriogeniczny, VV – zawór czterodrożny Valco, CT – pułapka kriogeniczna, PCV – zawór do pomiaru ciśnienia, NV – zawór iglicowy, FID – detektor płomieniowo-jonizacyjny, GC – chromatograf gazowy



Metoda TO1 umożliwia oznaczanie w powietrzu atmosferycznym lotnych, niepolarnych związków organicznych o temperaturach wrzenia w zakresie 80–200 °C. Do grupy tej należą lekkie węglowodory aromatyczne: benzen, toluen, etylobenzen, ksyleny, kumen oraz heptan i 1-hepten. Próbkę pobiera się metodą adsorpcyjną, stosując jako sorbent Tenax GC. Po termodesorpcji gazowe próbki analizuje się metodą GC/MS.

W metodzie TO2 próbki powietrza pobiera się również metodą adsorpcyjną, ale sorbentem jest węglowe sito molekularne (np. Spherocarb). Próbka desorbowana jest termicznie i analizowana metodą GC/MS. W ten sposób oznacza się niepolarne i niereaktywne bardzo lotne związki organiczne o temperaturach wrzenia w zakresie od –15 °C do 120 °C, wśród nich benzen i toluen.

Metodę TO3 stosuje się do oznaczeń niektórych halogenowęglowodorów i benzenu, ale może być ona użyta do oznaczeń innych lotnych związków organicznych o temperaturach wrzenia od –10 °C do 200 °C. Próbki powietrza są wzbogacane kriogenicznie w U-rurce wypełnionej kuleczkami szklanymi, następnie termodesorbowane i analizowane na chromatografii gazowej z detektorami FID i ECD.

Metoda TO12 pozwala na oznaczanie sumy niemetanowych związków organicznych w powietrzu atmosferycznym przy zastosowaniu kriogenicznego wzbogacania i bezpośredniej detekcji przy użyciu detektora FID.

W metodzie TO14 zaleca się pobieranie próbek powietrza atmosferycznego do pojemników metalowych SUMMA. Oznacza się w nich lotne substancje organiczne, a stosowalność tej metody do poszczególnych związków zależy od ich stabilności w pojemnikach metalowych. Na liście związków, dla których metoda została pierwotnie opracowana przez EPA, znajdują się benzen, toluen, etylobenzen, styren, ksylen, 1,2,4-trimetylobenzen i 1,3,5-trimetylobenzen (mezytylen). Obecnie sugeruje się jej wykorzystanie również przy oznaczeniach 55 węglowodorów C₂–C₉ – prekursorów ozonu zamieszczonych w wykazie EPA Clean Air Act Title 1 Compounds (Ozone Precursors) z roku 1990 [25, 28]. Analiza próbek polega na ich kriogenicznym wzbogacaniu, chromatograficznej separacji związków i detekcji – w wypadku węglowodorów – za pomocą detektorów FID, PID i MS.

Rys. 10. Chromatogramy: a – próbki powietrza (Rörvik, Szwecja), b – sprężonego powietrza wzorcowego, c – helu (ślepa próba). Próbkę analizowano za pomocą urządzenia złożonego ze zmodyfikowanego automatycznego analizatora powietrza (Chrompack) połączonego z chromatografem gazowym Varian 3700. W pracy brak informacji o stosowanej kolumnie chromatograficznej [10]. Oznaczenia pików: 1. etan, 2. etylen, 3. propan, 4. CO₂ i cyklopropan, 5. propen, 6. acetylen, 7. 2-metylopropan, 8. propadien, 9. butan, 10. chlorek metylu, 11. *trans*-2-buten, 12. 1-buten, 13. 2-metylopropen, 14. *cis*-2-buten, 15. 2,2-dwumetylopropan, 16. cyklopropan, 17. 2-metylobutan, 18. pentan, 19. propyn, 20. 1,3-butadien, 21. 3-metylo-1-buten, 22. *trans*-2-penten, 23. 2-metylo-2-buten, 24. 1-penten, 25. 2-metylo-1-buten, 26. *cis*-2-penten, 27. heksan, n – nie zidentyfikowany

Tabela 2b. Wypełnienia kolumn chromatograficznych stosowanych do oznaczeń niemetanowych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym – kolumny kapilarnie

Wypełnienie	Rozdzielane związki	Piśmienictwo
Al ₂ O ₃	C ₂ -C ₆ C ₂ -C ₈	[77, 82] [24, 87]
Al ₂ O ₃ /KCl	C ₂ -C ₈ C ₂ -C ₇ C ₂ -C ₆ C ₂ -C ₄ nienasycone	[11, 27, 93, 94] [8, 26] [50] [43]
DB-1	C ₅ -C ₁₀ C ₂ -C ₁₀ C ₂ -C ₁₂ C ₈ -C ₁₈ C ₂ -C ₂₀	[31] [9, 12, 79] [32, 35] [25] [34]
DB-210	C ₂ -C ₈	[27]
SE-30	> C ₅ C ₂ -C ₁₀ C ₄ -C ₁₀	[84] [52] [21, 76]
OV-101	C ₆ -C ₁₄ C ₄ -C ₁₀ i suma C ₂ -C ₃	[86] [59]
OV-1/OV-101	C ₂ -C ₁₀ (niepełny rozdział)	[22, 75]
CP-Sil-5-CB	C ₂ -C ₁₈ C ₂ -C ₁₂ C ₂ -C ₁₀	[74] [25] [49]
GS-Q	C ₂ -C ₄ C ₂	[31] [32, 34]
SF-96	> C ₄	[71]
Ftalan dinonylu	C ₄ -C ₁₁	[46]
Maleinian dibutyłu	C ₄ -C ₈ alifatyczne	[80]
<i>m</i> -bis- <i>m</i> -fenoksy-fenoksy-benzen	C ₆ -C ₁₀ aromatyczne	[80]
Supelcowax-10 lub SPB-1	styren	[65]
2 kolumny w systemie backflush: Porapack QS i DB-1	> C ₄	[18]

Obowiązujące w naszym kraju polskie normy oznaczania NMHC w powietrzu atmosferycznym dotyczą badania zawartości lekkich węglowodorów alifatycznych C₄-C₆ [62], benzenu i jego homologów z nasyconym łańcuchem bocznym [63], sumy węglowodorów alifatycznych C₄-C₁₀ [64] oraz styrenu [65]. Zalecają one pobieranie próbek powietrza metodą wzbogacania na rur-

kach sorpcyjnych, wypełnionych węglem aktywnym. Zatrzymane substancje są następnie ekstrahowane disiarczkiem węgla, a otrzymany ekstrakt analizowany metodą chromatografii gazowej. Chromatograf gazowy powinien być zaopatrzony w detektor płomieniowo-jonizacyjny. Rozdział analitów przeprowadza się na optymalnych dla danej grupy węglowodorów kolumnach separacyjnych. Węglowodory C_4 – C_6 rozdzielane są na kolumnie pakowanej o długości 10 m, z wypełnieniem Triton X-100 na Chromosorbie PAW [62], węglowodory aromatyczne na kolumnie pakowanej o długości 2–2,5 m zawierającej TCEP lub Carbowax 20 na Chromosorbie PAW [63]. Przy oznaczaniu sumy węglowodorów alifatycznych C_2 – C_{10} używana jest kolumna pakowana o długości 1 m, wypełniona olejem silikonowym OV-275 naniesionym na Chromosorb PAW [64], a przy oznaczeniach styrenu stosuje się kolumnę kapilarną o długości 60 m z wypełnieniem Supelcowax-10 [65].

5. METODY KALIBRACJI UKŁADÓW POMIAROWYCH

Kalibracja układów analitycznych stosowanych do oznaczania niemetalicznych węglowodorów w powietrzu atmosferycznym wymaga stosowania wzorców, w których stężenia składnika lub składników są bardzo małe, tego samego rzędu co związki oznaczane w pobranej próbce. Najczęściej stosuje się gazowe mieszaniny wzorcowe, choć w niektórych pracach do kalibracji chromatografu gazowego służą ciekłe roztwory wzorcowe.

Aby mieszanina gazowa mogła być uważana za mieszaninę standardową (wzorcową), musi zachowywać stężenie składnika mierzzonego w czasie; stężenie to musi być znane z odpowiednią dokładnością, a mieszanina dostępna w wystarczająco dużej objętości. Wymogi te powodują, że przygotowanie wzorcowych mieszanin gazowych jest zadaniem skomplikowanym. Zagadnienia związane z przygotowaniem gazowych mieszanin wzorcowych, metodami ich sporządzania zostały omówione w pracy J. Namieśnika [72]. Przy oznaczeniach NMHC w powietrzu atmosferycznym do kalibracji układów pomiarowych używa się mieszanin wzorcowych przygotowanych metodami dynamicznymi [11–13, 20, 25, 74, 83], statycznymi [13, 32, 40, 49, 84, 90], przez rozcieńczenie eksponencjalne [8, 10, 24, 30, 31, 92] oraz ciekłych roztworów wzorcowych [13, 25, 34, 62–65, 74, 81]. W wielu pracach jako wzorców użyto dostępnych w handlu wzorcowych mieszanin gazowych [8, 9, 21, 26, 34, 35, 54, 76, 77, 81–83, 85, 88] oferowanych przez wiele specjalistycznych firm.

Wzorcowe mieszaniny gazowe służą nie tylko do kalibracji chromatografów gazowych, ale wykorzystuje się je również do testowania i kalibracji układów do wzbogacania próbek, określania objętości przebiecia sorbentów itp. [38, 72, 73].

Podziękowania

Pracę wykonano częściowo w ramach projektu badawczego nr 600509101 dofinansowywanego przez Komitet Badań Naukowych w latach 1991–1993.

Część przedstawionego w pracy przeglądu literaturowego została wykonana w trakcie pobytu dr Magdaleny Kurdziel na stypendium naukowym przyznanym jej przez Norweską Radę Naukową (Research Council of Norway) w roku 1994.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] V. Camel, M. Caude, J. Chromatogr. A., 1995, 710, 3.
- [2] J. Namieśnik, Chem. Anal., 1988, 33, 835.
- [3] R. D. Cox, M. A. McDevitt, K. W. Lee, G. K. Tannahill, Environ. Sci. Technol., 1982, 16, 57.
- [4] *An Overview of Sampling Strategies for Organic Pollutants in Ambient Air*, Perkin Elmer nr 33, 1993.
- [5] J. Rudolph, K. P. Müller, R. Koppmann, Anal. Chem. Acta, 1990, 236, 197.
- [6] J. Namieśnik, J. Łukasiak, Z. Jamrógiewicz, *Pobieranie próbek środowiskowych do analizy*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995.
- [7] K. Des Tombe, D. K. Verna, L. Stewart, E. B. Reczek, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 1991, 52, 136.
- [8] H. Boudries, G. Toupance, A. L. Dutot, Atmos. Environ., 1994, 28, 1095.
- [9] C. T. Farmer, P. J. Milne, D. D. Riemer, R. G. Zika, Environ. Sci. Technol., 1994, 28, 238.
- [10] J. Mowrer, A. Lindskog, Atmos. Environ., 1991, 25A, 1971.
- [11] H. J. T. Bloemen, H. P. Bos, R. P. M. Dooper, Intern. Lab., 1990, Sept. 23.
- [12] K. D. Oliver, J. R. Adams, E. H. Daughtrey, W. A. McClenny, M. J. Yoong, M. A. Pardee, Atmos. Environ., 1996, 30, 2751.
- [13] W. A. McClenny, J. D. Pleil, M. W. Holdren, R. N. Smith, Anal. Chem., 1984, 56, 2947.
- [14] *Materiały informacyjne o systemie OPSIS*, Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Warszawie, 1992.
- [15] P. L. Hanst, Fres. Z. Anal. Chem., 1986, 324, 579.
- [16] *Pollution: Causes, Effects and Control*, R. M. Harrison (red.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1990.
- [17] M. W. First, Appl. Ind. Hyg. 1988, 3(12), F-20.
- [18] J. Rudolph, F. J. Johnen, A. Khedim, Intern. J. Environ. Anal. Chem., 1986, 27, 97.
- [19] J. Lasa, J. Rosiek, *Chromatograficzne metody pomiaru stężenia związków chlorowcowych w troposferze i stratosferze*. Raport nr 1576/CH, Wyd. Instytut Fizyki Jądrowej, Kraków 1992.
- [20] I. Colbeck, R. M. Harrison, Atmos. Environ., 1985, 19, 1899.
- [21] P. F. Nelson, S. M. Quigley, Environ. Sci. Technol., 1982, 16, 650.
- [22] L. Haszpra, I. Szylagyi, A. Demeter, T. Turanyi, T. Berces, Atmos. Environ., 1991, 25A, 2103.
- [23] W. A. McClenny, J. D. Pleil, G. F. Evans, K. D. Oliver, M. W. Holdren, W. T. Winberry, J. Air Waste Manage. Assoc., 1991, 41, 1308.
- [24] F. J. Reineke, K. Bächmann, J. Chromatogr., 1985, 323, 323.
- [25] B. Zielińska, E. Fujita, Res. Chem. Intermed., 1994, 20, 321.
- [26] S. J. Liaw, T. L. Tso, J. G. Lo, Anal. Sci., 1994, 10, 325.
- [27] N. Schmidbauer, M. Oehme, Fres. Z. Anal. Chem., 1988, 331, 14.
- [28] I. Seeley, G. Broadway, Fres. Envir. Bull., 1994, 3, 158.

- [29] T. J. Kelly, M. W. Holdren, *Atmos. Environ.*, 1995, **29**, 2595.
- [30] J. Rudolph, D. H. Ehhalt, A. Khedim, C. Jebsen, *J. Chromatogr.*, 1981, **217**, 301.
- [31] P. V. Doskey, J. S. Gaffney, *Geophys. Res. Lett.*, 1992, **19**, 381.
- [32] T. Dann, D. Wang, *Proc. Annu. Meet. – Air Waste Manage. Assoc.* 1992, 85th (Vol. 2B), Paper No. 92/75.16.
- [33] W. T. Winberry, N. T. Murphy, R. M. Riggan, *Methods for Determination of Toxic Organic Compounds in Air. EPA Methods*. Noyes Data Corporation Park Ridge, New Jersey, USA 1990.
- [34] B. Zielinska, J. C. Sagebiel, G. Harshfield, A. W. Gertler, W. R. Pierson, *Atmos. Environ.*, 1996, **30**, 2269.
- [35] R. L. Seila, W. A. Lonneman, S. A. Meeks, *Determination of C₂ to C₁₂ Ambient Air Hydrocarbons in 39 U. S. Cities from 1984 through 1986*, Report EPA/600/3-89/058 March 1989.
- [36] J. Namieśnik, *Talanta*, 1988, **35**, 567.
- [37] J. Namieśnik, P. Konieczka, *Zagrożenie organicznych zanieczyszczeń atmosfery*, [w:] *Węglowodory w środowisku i metody ich oznaczania*. Materiały sympozjum, Jachranka 1990, Wyd. AWF w Warszawie, Warszawa 1990.
- [38] J. Namieśnik, *Zeszyty Naukowe Politechniki Gdańskiej*, 1985, **396**, 3.
- [39] B. Kozdroń-Zabiegała, B. Zygmunt, J. Namieśnik, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 1996, **41**, 209.
- [40] P. B. Shepson, T. E. Kleindienst, H. B. McElhoe, *Atmos. Environ.*, 1987, **21**, 579.
- [41] M. J. Quintana, B. Uribe, J. F. Lopez Arbeloa, *Spec. Publ. R. Soc. Chem. (Clean Air Work)*, 1992, **108**, 123.
- [42] E. Matisova, S. Skrabakova, *J. Chromatogr. A.*, 1995, **707**, 145.
- [43] S. E. Maljaars, M. W. F. Nielen, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 1988, **34**, 333.
- [44] D. Helmig, *J. Chromatogr. A.*, 1996, **732**, 414.
- [45] J. Bartulewicz, E. Bartulewicz, J. Gawłowski, J. Niedzielski, *Chem. Anal.*, 1992, **37**, 405.
- [46] V. A. Isidorov, I. G. Zenkevich, B. V. Joffe, *Atmos. Environ.*, 1983, **17**, 1347.
- [47] T. A. Brettell, R. L. Grob, *Int. Lab.*, 1986, April, 30.
- [48] A. J. Netravalkar, A. M. Mohan Rao, *Chromatographia*, 1986, **22**, 183.
- [49] P. Matuska, M. Koval, W. Seiler, *HRC@CC*, 1986, **9**, 577.
- [50] N. Schmidbauer, M. Oehme, *ibid.*, 1986, **9**, 502.
- [51] A. Jonsson, S. Berg, *J. Chromatogr.*, 1983, **279**, 307.
- [52] R. D. Cox, R. F. Earp, *Anal. Chem.*, 1982, **54**, 2265.
- [53] P. V. Doskey, *HRC@CC*, 1991, **14**, 724.
- [54] H. H. Westberg, R. A. Rasmussen, M. Holdren, *Anal. Chem.*, 1974, **46**, 1852.
- [55] B. E. Foulger, P. G. Simmonds, *ibid.*, 1979, **51**, 1089.
- [56] W. F. Burns, D. T. Tingey, R. C. Evans, E. H. Bates, *J. Chromatogr.*, 1983, **269**, 1.
- [57] R. Koppmann, F. J. Johnen, A. Khedim, J. Rudolph, A. Wedel, B. Wiards, *J. Geophys. Res.*, 1995, **100**, 11, 383.
- [58] T. Hoffmann, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, **351**, 41.
- [59] Ch. Lanzerstorfer, H. Puxbaum, *Water, Air and Soil Pollution*, 1990, **51**, 345.
- [60] G. G. Pandit, A. M. Mohan Rao, *Atmos. Environ.*, 1990, **24A**, 811.
- [61] W. Janicki, B. Zygmunt, L. Wolska, W. Chrzanowski, W. Wardencki, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 1992, **37**, 599.
- [62] PN-89 Z-04017/02 *Ochrona powietrza. Badania zawartości węglowodorów alifatycznych obejmujących alkanę i alkeny. Oznaczanie lekkich węglowodorów alifatycznych (C₄-C₆) w powietrzu atmosferycznym (imisja) metodą chromatografii gazowej.*
- [63] PN-89 Z-04016/03 *Ochrona powietrza. Badania zawartości benzenu i jego homologów z nasyconym łańcuchem bocznym. Oznaczanie benzenu, toluenu, etylobenzenu, (m + p)-ksylenu, izopropylbenzenu i o-ksylenu w powietrzu atmosferycznym (imisja) metodą chromatografii gazowej z wzbogacaniem próbki.*

- [64] PN-90 Z-04017/03 *Ochrona powietrza. Badania zawartości węglowodorów alifatycznych obejmujących alkany i alkeny. Oznaczenie sumy węglowodorów alifatycznych (C₄-C₁₀) w powietrzu atmosferycznym (imisja) metodą chromatografii gazowej.*
- [65] PN-93 Z-04152/05 *Ochrona powietrza. Badania zawartości styrenu. Oznaczenie styrenu w powietrzu atmosferycznym (imisja) metodą chromatografii gazowej.*
- [66] C. F. Poole, S. K. Poole, *Chromatography Today*, Elsevier, Amsterdam 1991.
- [67] T. Maeda, S. Onodera, H. Ogino, *J. Chromatogr. A.*, 1995, **710**, 51.
- [68] X.-L. Cao, C. N. Hewitt, *ibid.*, 1995, **710**, 39.
- [69] *Gas Chromatography. A Practical Approach*, P. J. Baugh (red.), Oxford University Press, 1993.
- [70] D. Helmig, W. Pollock, J. Greenberg, P. Zimmerman, *J. Geophys. Res.*, 1996, **101**, 14, 697.
- [71] C. V. Hampton, W. R. Pierson, T. M. Harvey, W. S. Updegrave, R. S. Marano, *Environ. Sci. Technol.*, 1982, **16**, 287.
- [72] J. Namieśnik, *J. Chromatogr.*, 1984, **300**, 79.
- [73] W. R. Miller, G. C. Rhoderick, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, **351**, 221.
- [74] B. Zielinska, K. K. Fung, *Sci. Total. Environ.*, 1994, **146/147**, 281.
- [75] L. Haszpra, I. Szilagyi, *Atmos. Environ.*, 1994, **28**, 2609.
- [76] P. F. Nelson, S. M. Quigley, M. Y. Smith, *ibid.*, 1983, **17**, 439.
- [77] Ø. Hov, N. Schmidbauer, M. Oehme, *ibid.*, 1989, **23**, 2471.
- [78] N. Kungskulniti, S. A. Edgerton, *Chemosphere*, 1990, **20**, 673.
- [79] P. V. Doskey, J. A. Porter, P. A. Scheff, *J. Air Waste Manage. Assoc.* 1992, **42**, 1437.
- [80] W. A. Lonneman, S. L. Kopczynski, P. E. Darley, F. D. Sutterfield, *Environ. Sci. Technol.*, 1974, **8**, 229.
- [81] H. Satsumabayashi, H. Kurita, Y. S. Chang, G. Carmichael, H. Ueda, *Atmos. Environ.*, 1992, **26A**, 2835.
- [82] Ø. Hov, N. Schmidbauer, M. Oehme, *ibid.*, 1991, **25A**, 1981.
- [83] Ø. Hov, N. Schmidbauer, *J. Atmos. Chem.*, 1992, **14**, 515.
- [84] W. Nutmagul, D. R. Cronn, H. H. Hill, *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 2160.
- [85] W. J. O'Shea, P. A., Scheff, *JAPCA*, 1988, **38**, 1020.
- [86] G. Petersson, *Environ. Pollut. B*, 1982, **4**, 207.
- [87] P. Bruckmann, W. Kersten, W. Funcke, E. Balfanz, J. König, J. Theisen, M. Ball, O. Pöpke, *Chemosphere*, 1988, **17**, 2363.
- [88] A. Lindskog, J. Moldanowa, *Atmos. Environ.*, 1994, **28**, 2383.
- [89] A. M. Mohan Rao, G. G. Pandit, *ibid.*, 1988, **22**, 395.
- [90] K. A. Persson, J. Almen, *Characterization of Light Hydrocarbons and Other Volatile Organic Compounds in Stockholm Air*. Report 3820, Swedish Environmental Protection Agency, Solna 1990.
- [91] J. Rudolph, A. Khedim, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 1985, **20**, 265.
- [92] K. J. W. Tille, M. Savelsberg, J. Bächmann, *Atmos. Environ.*, 1985, **19**, 1751.
- [93] L. Löfgren, G. Petersson, *Chemosphere*, 1992, **24**, 135.
- [94] K. Müller, P. Franz, W. Rolle, *Proc. 6th European Symposium Verese 18-22 October 1993*, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg 1994.
- [95] J. Nawrocki, J. Obst, *Metody analizy zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego i organicznych zanieczyszczeń wody pitnej*. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 1992.

FELIETON NAUKOWY



NOTATKI CHAOTYCZNE
XVI. O BŁĘDACH. BŁĘDY POKORY

Ignacy Z. Siemion

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-385 Wrocław*

*Żadna na świecie powaga nie waży w Fizyce;
samo doświadczenie i obserwacja są gruntem Fizyki.*

A. Trzciński [1]

Nie tak dawno pisałem na tych łamach o błędach pychy. Źródłem błędów pychy jest bezkrytyczne samouwielbienie i uparte trwanie przy własnych, błędnych przecież czasami, poglądach. Błędowi pychy towarzyszą dość często gorszące napaści na tych, którzy są odmiennego zdania. Jeśli jednak błędy takie mogą na zbiorowym wysiłku badawczym w istotny sposób zawazyć, to dlatego, że błędne nawet poglądy mogą łatwo uzyskać rangę poglądów powszechnych, jeśli tylko stoją za nimi uznane autorytety. Błędy pychy generowane są przez zbyt dużą pewność siebie i chętnie wspiera się pomocnym Autorytetem. Podzielając „błędy pychy” naszych autorytetów, sami pozostajemy w szarej strefie błędów pokory, wynikających z braku potrzebnego krytycyzmu wobec tych autorytetów właśnie.

Ta swoista presja autorytetów znacznie zelżała wprawdzie w naszych czasach, ale była jeszcze bardzo silna w niedawnej przecież dobie Oświecenia. Tezę tę dokumentuje choćby przytoczone tu jako motto, a wypowiedziane w toku gorących polemik zdanie Andrzeja Trzcińskiego, profesora fizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego. Nie był to uczonego wysokiego lotu, lecz raczej zasłużony nauczyciel akademicki i, co warto podkreślić, krzewiciel wiedzy chemicznej w naszym kraju. Charakteru był kłótliwego i jako zacięty polemista toczył spory m.in. z Janem Śniadeckim. Odpryskiem tych sporów jest przytoczone wyżej zdanie.

Jeżeli dzisiaj możemy ciągle jeszcze obserwować przejawy presji autorytetów, to dawniej dochodziło do prawdziwej tyranii autorytetów. Wierność np. wobec litery pism Arystotelesa była większa niż wobec litery Pisma Świętego. Nie tak dawno w szwajcarskim czasopiśmie chemicznym, w „Chimii”, ukazał się piękny esej Ernsta Benza, z profesji filozofa i teologa. Obecność czegoś takiego w czasopiśmie bądź co bądź chemicznym może zdziwić. A chodzi w tym esej o niebezpieczeństwa związane z presją autorytetów właśnie. Benz w żartobliwej formie opowiada [2] o ślepym respektowaniu tradycji arystotelesowskiej. Wiadomo, że w czasie gdy w Europie odradzały się pędy wiedzy starożytnych, słowo Arystotelesa urosło do rangi nieomylnego dogmatu. Fizyka Arystotelesa dotrwała w niezmienionej formie do wieku XVIII. Ale to znajdowało uzasadnienie w zdroworoządkowym doświadczeniu ludzkim: każdy mógł stwierdzić, że ciężka „ziemia” spada w dół, a lekki „ogień” unosi się w górę i że ciało „przestaje się poruszać, gdy nie działa nań siła”. Trzeba było dopiero zakwestionować takie „oczywiste” świadectwa zmysłów, by obalić założenia fizyki Arystotelesa. Benz przedstawia jednak zupełnie inny przykład wierności dla Arystotelesa, przykład, gdzie zwykła obserwacja byłaby w stanie obalić błędny pogląd wielkiego Greka. Zastanawiając się nad budową ciała niektórych owadów Arystoteles napisał, że jętka jednodniówka ma cztery

nogi. „Bezkrwiste zwierzęta – czytamy w tekście *Zoologii* – niezależnie od tego, czy latają, czy chodzą posługują się większą ilością punktów oparcia dla poruszania się, np. zwierzę zwane ephemerum posługuje się czterema nogami i czterema skrzydłami. To zwierzę wyróżnia się nie tylko przez krótkie życie (któremu zawdzięcza swą nazwę), lecz także przez tę osobliwość, że posiada skrzydła, chociaż jest zwierzęciem czworonożnym” [3].

Wywód ten, oparty na błędnej obserwacji, był następnie bez zmian i jakichkolwiek komentarzy powtarzany przez wieki. Ciekawe, jak doszło do takiej błędnej obserwacji, bo skądinąd wiadomo, że starożytni byli szczególnie dokładnymi obserwatorami Natury. W tej samej *Zoologii*, pisząc o sposobach picia wody przez ptaki, Arystoteles zauważa np.: „Cechą charakterystyczną gołębi pospolitych, małych gołębi dzikich i turkawek jest to, że gdy piją, nie podnoszą głowy, dopóki się nie napiją dostatecznie” [4]. Można podziwiać precyzję obserwacji, wyróżniającej pod względem sposobu picia wody gołębie spośród innych ptaków.

Benz przenosi twierdzenie Arystotelesa o czworonożności jętki na inne owady i twierdzi, iż uważał on, że i muchy są czworonożne. Nie odpowiada to jednak prawdzie, bo w innym swym dziele (*O częściach zwierząt*) Arystoteles wyraźnie zaznacza (pisząc o muchach, pszczołach, pchłach i szarańczy): „wszystkie te owady posiadają po sześć nóg, łącznie z nogami służącymi do skakania” [5]. Powody odrębnego potraktowania jętki pozostają niejasne. Jak stwierdza natomiast Benz, „szczęcionożność” jętki „odkrył” dopiero w XVII w. niderlandzki przyrodnik i mistyk, Jan Swammerdam (1637–1680). Tekst Arystotelesa o czworonożności jętki przedrukowywano bez zmian i komentarzy w ciągu całych wieków i jeszcze w wydaniu dzieł Stagiryty, wykonanym w latach 1831–1870 przez Berlińską Akademię zamieszczony został bez jakichkolwiek wariantów.

Benz twierdzi zresztą, że pewien filolog klasyczny, zapytany, ile nóg ma mucha, odpowiedział mu, że cztery, „bo tak stoi u Arystotelesa”.

Inna rzecz, że nasze czasy w przekorny sposób zrehabilitowały błędne obserwacje Arystotelesa. Udało się przecież, na drodze manipulacji genami mutantów *Drosophila*, wyprodukować muszki o czterech, a nawet ośmiu nogach. Za to właśnie osiągnięcie uzyskali w 1995 r. Nagrodę Nobla Ch. Nüsslein-Volhard, E. F. Wieschaus i E. B. Lewis. A nieco później w zespole W. J. Gehringa w Bazylei wytworzono muszki *Drosophila* z dodatkowymi oczyma rozlokowanymi na skrzydłach, odnóżach i antenach owadzich. W ten sposób uczeni przyrodnicy w samej rzeczy zrealizowali to, co się tylko śniło filozofom.

Odpowiedź na pytanie, ile nóg ma jętka, tak czy owak nie ważyła mocno na rozwoju nauki. Bywały przecież jednak przypadki, kiedy potulność wobec autorytetów wyrządzała istotne w nauce szkody. Przykładem takiej sytuacji może być rozważana przez Crombiego [6] sprawa negatywnego wpływu Williama Gilberta (1540–1603) na pewne aspekty nauki o magnetyzmie ziemskim. „Teoretyczne oczekiwania Williama Gilberta – pisze Crombie – uniemoż-

liwiły na przeciąg jednego pokolenia uznanie faktu, iż odchylenie igły magnetycznej od prawdziwej północy zmienia się w czasie, pomimo tego, że posiadano na to dowody”.

Gilbert, sławny lekarz królowej Elżbiety, w 1600 r. ogłosił dzieło o bardzo długim łacińskim tytule: *Guiliemi Gilberti Colcestrensis, Medici Londinensis De Magnete magnetisque corporibus, de magno magnete tellure, Physiologia nova*. W dziele tym obszernie potraktował m.in. sprawy deklinacji magnetycznej (którą zresztą nazywał wariacją). Był zdania, że brak zgodności kierunku igły magnetycznej z linią południkową wynika z nierównomiernego rozmieszczenia na kuli ziemskiej kontynentów. „Na Ziemi – pisał – obrót [igły magnetycznej, I. S.] ulega zakłóceniu przez wpływ wielkich kontynentów, które w wielkiej liczbie wznoszą się nad dnem morskim i powodują niekiedy odchylenie igły od prostych dróg (to znaczy od prawdziwych południków)”. Gilbert uważał układ kontynentów ziemskich za stały i stąd wnosił, że deklinacje magnetyczne dla określonych miejsc winny być stałe. „W określonym miejscu – twierdził – i w tym samym kraju kąt wariacji pozostaje stały, tak na morzu, jak i na lądzie. Pozostanie on wiecznie ten sam, chyba że zdarzy się wielkie zniszczenie kontynentu i zanik ziem, tak jak to było z Atlantydą” [7]. To twierdzenie Gilberta zrewidowano dopiero w 1635 r.

Jeszcze inny przykład „błędów pokory” zaczerpnąć możemy z naukowego życiorysu Leonarda Eulera (1707–1783). Twórcze lata tego wielkiego matematyka i teoretyka fizyki podzieliły między siebie Petersburg i Berlin. Był on członkiem Akademii Nauk Rosji i Prus. W Petersburgu przebywał w latach 1727–1741 i 1766–1783. Obydwa te okresy rozdzielił berliński okres uczonego. W Akademii Nauk w Berlinie był dyrektorem Wydziału Matematyki. Euler znany jest jako prawdziwy tytan nauki; jego naukowa produktywność sięgnęła wymiarów legendy. Według zestawienia G. Eneströma [8] miał on opublikować łącznie 886 prac, przy czym aż 409 z nich przypada na lata 1767–1783, lata starości prawie już niewidomego uczonego. Obliczono, że aby przepisać ręcznie dzieła Eulera, trzeba by, pracując po 8 godzin dziennie, zużyć 50 lat życia.

Starzejącemu się uczonemu zaproponował W. Orłow, dyrektor Akademii Petersburskiej, by ten napisał „na zapas” tyle artykułów, by można je było drukować w periodyku Akademii przez 20 lat po jego śmierci. Dyrektor bał się bowiem, że po śmierci Eulera wydawnictwo może podupaść z braku materiałów nadsyłanych do druku. Spełniając tę niecodzienną prośbę, Euler pozostawił zapas około 250 prac. Ich publikacja trwała aż do roku 1862 [9].

I otóż, w czasie wojny o sukcesję austriacką (1741–1748) Euler otrzymał zadanie wyszukania i wydania jak najlepszego podręcznika artylerii. Uczony wybrał *New principles of gunnery* Robinsa, książkę wydaną w Londynie w roku 1742 i wydał ją we własnym tłumaczeniu, z obszernymi przypisami. W przypisach rozwinął m.in. teorię toru pocisku. Eulerowskie tłumaczenie Robinsa wy-

szło następnie po francusku (wydane dla potrzeb szkół wojskowych) i zostało z powrotem przetłumaczone na język angielski! Niestety, w swoich przypisach zawarł też Euler krytykę propozycji Robinsa, by wprowadzić gwintowanie luf armatnich. Uważa się, że wstrzymało to wprowadzenie tego pomysłu do praktyki armii europejskich na całe stulecie [10].

W czasach, gdy głównym sposobem komunikowania się ludzi był ustny przekaz, słowa nauczyciela – *verba magistri* – łatwo nabierały siły dogmatów. Sytuacja ulega ogromnej zmianie w dobie wielkiej rewolucji informatycznej, jaką był wynalazek druku. „Do wzrastającej powszechności zainteresowań – pisze A. R. Hall w dziele: *Rewolucja naukowa 1500–1800* – drukarstwo dodało rozszerzenie się wiedzy. Tyrania większych powag, nieodłączna od małych księgozbiorów, została przełamana w odniesieniu do uczonego, który mógł korzystać z łatwości kompilacji i odsyłać do innych książek, co poprzednio było nie do pomyślenia” [11].

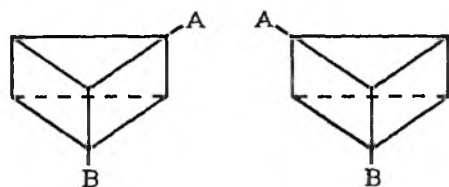
Inna rzecz, że słowo drukowane, skutecznie niszczące przewagi autorytetów, samo mogło nabierać cech wyroczni – przez sam fakt ukazania się drukiem. Taki przesadny szacunek do czegoś, co zostało wydrukowane, daje się przecież zauważyć i dzisiaj, przynajmniej u części mniej doświadczonych czytelników. Pamiętam, jak w swoim czasie do naszego zespołu trafił lekarz z prowincji, który po nieudanym starciu w jakiejś przychodni antyalkoholowej postanowił zająć się chemią fizjologiczną. Musiał, rzecz jasna, nauczyć się wielu rzeczy. Był bardzo pilny i całe książki zamazywał kolorowymi podkreśleniami. I trafił podczas tych studiów na błędny opis pewnego doświadczenia, którego treści absolutnie już nie pamiętam. Chodził więc od jednego z nas do drugiego i szukał wyjaśnienia niezgodności naszej praktyki i słowa pisanego. Był coraz bardziej zrozpaczony, bo nie był w stanie sobie wyobrazić, że w książce, którą studiował, mogą być błędy. Pamiętam, jak stał przede mną z prawdziwymi łzami w oczach i stukając palcem w odpowiedni fragment otwartej książki mamrotał: „Ale tu jest napisane inaczej, ale tu jest napisane inaczej!... To jest przecież napisane w książce! Wydrukowane!”.

Inna rzecz, że kiedy po kilku latach zapytałem go, czy nadal wierzy święcie w słowo drukowane, krzywo się uśmiechnął i odpowiedział: „Nie, to już minęło”.

Najbardziej przykra sytuacja – jeśli chodzi o uległość wobec Autorytetów – ma miejsce wówczas, gdy rzecznik prawidłowego poglądu zmienia swoją prawidłową interpretację pod presją autorytarnego rzecznika poglądów błędnych. Nie bez uczucia adresowanej w przeszłość przykrości sięgnę tutaj po przykład z naszego podwórka. Chodzi mi o badania naszego bardzo wybitnego organika, Edwarda Wróblewskiego (1848–1892), nad strukturą benzenu. Nasz rodak pracował w Instytucie Technologicznym w Petersburgu. Jego zasługą jest doświadczalny dowód równocennej pozycji 2 i 6 oraz 3 i 5 w pierścieniu benzenowym. Dowód Wróblewskiego polegał na przeprowadzeniu sekwencji systematycznych, zdefiniowanych co do ich pozycji, podstawień pierścienia i był

zupełnie pewny. Jeszcze po 80 latach uzyskał najwyższą ocenę C. K. Ingolda. „Wróblewsky's demonstration – napisał Ingold – still ranks as one of the best examples of the method and logic of organic chemical structure determination” [12].

Celem, jaki sobie postawił Wróblewski, było udowodnienie prawidłowości tej struktury benzenu, jaką zaproponował Kekulé. Płaska pierścieniowa struktura Kekulégo przekonująco tłumaczyła izomerię pochodnych benzenu, w tym i fakt istnienia trzech izomerów dwupodstawionego układu benzenowego, tzn. izomerów *orto*, *meta* i *para*. Cóż, kiedy izomerię tego typu można było opisać również na gruncie pryzmatycznej struktury benzenu lansowanej przez Ladenburga. Za strukturą Ladenburga opowiadała się wówczas większość badaczy, nie mogących pogodzić się z tezą Kekulégo o oscylujących wiązaniach podwójnych. Argumentacja Van't Hoffa [13], że struktura pryzmatyczna implikuje istnienie izomerów optycznych benzenu, nie znajdowała należytego rezonansu.



Jednym ze zwolenników struktury pryzmatycznej benzenu był Dymitr Mendelejew. W toku dyskusji nad rozprawą doktorską Wróblewskiego (31 grudnia 1876 roku), podnosząc zasługi doktoranta i wyrażając się pochlebnie o jego pracy eksperymentalnej, równocześnie wskazywał, że Wróblewski udowodnił nie – jak sądzi – pierścieniową strukturę benzenu Kekulégo, ale pryzmatyczną strukturę Ladenburga. Wypowiedź ta nie odbiła się wprawdzie niekorzystnie na głosowaniu o nadaniu Wróblewskiemu stopnia naukowego, ale zasiała tak wielkie wątpliwości u samego autora badań, że publicznie wyrzekł się początkowych poglądów i przyznał, iż istotnie jego wyniki potwierdzają strukturę pryzmatyczną [14].

Czegóż nas uczy to żałość budzące wydarzenie? Myślę, iż uczy, że presji autorytetów nie należy się poddawać zbyt pośpiesznie. Warto się nieco uprzeć przy swoim poglądzie. Jeśli jest błędny – nasz upór pozwoli rzecz całą bardziej wszechstronnie przedyskutować, z pożytkiem dla sprawy. Ale pamiętać trzeba o dopuszczalnych granicach uporu. Bo Scylla pokory niedaleko leży od Charybdy pychy.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] A. Trzciński, *Rozbiór uwag szkoły matematycznej nad propozycjami fizycznymi, gdzie się mieści usprawiedliwienie obwinionego od tej szkoły, żądanie jego i rozsądek nad nowym Pismem którego tytuł Urywek z biczu kręconego w Krakowie przez Przyjaciela Prawdy*, W Warszawie, u. P. Dufour, 1789, s. 26.
- [2] E. Benz, *Die Fliege des Aristoteles*, *Chimia*, 1995, **49**, 479–485.
- [3] Arystoteles, *Zoologia (Historia animalium)*, PWN, Warszawa 1982, s. 16.
- [4] Jak wyżej, s. 379.

-
- [5] Arystoteles, *O częściach zwierząt*, PWN, Warszawa 1977, s. 145.
- [6] A. C. Crombie, *Style myśli naukowej w początkach nowożytnej Europy*, Warszawa 1994, s. 52–53.
- [7] W. Gilbert, *O magnicie*, Izd. AN SSSR, Moskwa 1956, s. 212 i 214.
- [8] G. Eneström, *Verzeichniss der Schriften L. Eulers*, Leipzig 1910–1913.
- [9] W. W. Kotek, *Leonard Euler*, Moskwa 1961, s. 62.
- [10] Jak wyżej, s. 29.
- [11] A. R. Hall, *Rewolucja naukowa 1500–1800. Kształtowanie się nowożytnej postawy naukowej*, Warszawa 1966, s. 26.
- [12] C. K. Ingold, *Structure and mechanism in organic chemistry*, Cornell Univ. Press, Ithaca-New York 1953, cap. V.
- [13] J. H. Van't Hoff, Ber., 1876, 9, 1881.
- [14] E. Wróblewski, Ber., 1882, 15, 1023.

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły referatowe, nie oryginalne prace doświadczalne, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i nie drukowane przedtem w innych czasopismach. Artykuły wydrukowane w „Wiadomościach Chemicznych” nie mogą być bez zgody Redakcji drukowane w innych czasopismach. Treść artykułów powinna odpowiadać stanowi wiedzy w chwili pisania artykułu. Piśmiennictwo cytowane powinno uwzględniać najnowsze prace krajowe i zagraniczne z dziedziny, której dotyczy artykuł.

Maszynopisy (wydruki komputerowe) należy nadsyłać do Redakcji w dwóch egzemplarzach: oryginał i kopia lub kserokopia pisana jednostronnie, z zachowaniem podwójnej interlinii i marginesu szerokości 5 cm z lewej strony; pierwszy wiersz akapitu należy zaznaczyć wcięciem na 5 uderzeń w klawisz.

Pod tytułem polskim należy umieścić tytuł w języku angielskim, adres autora oraz obszerne streszczenie w języku angielskim (do 2 stron maszynopisu z cytowaniem piśmiennictwa i odsyłaczami do tabel i rysunków w tekście).

Artykuły należy opracowywać zwięźle i nie zamieszczać szczegółów, odsyłając czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego. Maszynopis nie powinien przekraczać 25 stron wraz z tabelami i wykazem piśmiennictwa lub 100 stron, jeśli jest monografią przeznaczoną do druku w „Bibliotece Wiadomości Chemicznych”. W wypadku prac wykonywanych za pomocą komputera, proszę zwrócić szczególną uwagę na jakość wydruku i czytelność wzorów. Jeśli nie będą wyraźne, to artykuł nie będzie przyjęty do Wydawnictwa. Redakcja prosi – jeżeli to możliwe – o dołączenie dyskietki z tekstem pracy wraz z informacją o używanym edytorze (i jego wersji). Redakcja zapewni zwrot dyskietki.

Rysunki (mogą być kolorowe) należy nadsyłać w dwóch egzemplarzach (oryginały i kopie lub kserokopie). Oryginały rysunków muszą mieć taką formę graficzną, by nadawały się do reprodukcji. Na odwrotnej stronie należy podać ołówkiem nazwisko autora i numer rysunku i ten sam numer zaznaczyć w odpowiednim miejscu maszynopisu. Na osobnym arkuszu dołączyć podpisy pod rysunkami. Wzory chemiczne i schematy reakcji chemicznych, których nie można w prosty sposób napisać na maszynie, powinny być wpisane ręcznie, w odpowiednich miejscach tekstu. Niezależnie od tego do pracy należy dołączyć jeden komplet wzorów i schematów narysowanych oddzielnie w formie nadającej się do reprodukcji.

Tabele należy ponumerować cyframi arabskimi oraz podać ich tytuł.

Piśmiennictwo zestawia się w kolejności cytowania w tekście: powinno ono zawierać kolejno inicjały imion i nazwisko, skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, tom podkreślony i numer pierwszej strony cytowanej pracy. Wykaz skrótów ważniejszych czasopism chemicznych jest podany w „Wiadomościach Chemicznych”, 1989, 43, 979. Jeśli część piśmiennictwa zebrana jest w monografiach lub innych wydawnictwach, nie należy podawać szczegółowo wykazu tego piśmiennictwa, lecz cytować odnośnie wydawnictwo.

O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. Maszynopisy nie odpowiadające podanym warunkom nie będą przez Komitet rozpatrywane. Artykuły nie zakwalifikowane do druku Redakcja zwraca, zachowując kopię maszynopisu. Autorzy przeprowadzają jedynie korektę tekstu. Po zakwalifikowaniu pracy do druku nie będą uwzględniane żadne poprawki rysunków.

Honoraria za wydrukowane prace są wypłacane wyłącznie tym Autorom, których artykuły zostały zamówione przez Redakcję. Autorzy wydrukowanych prac otrzymują bezpłatnie 20 nadbitek.

NOWE WYDAWNICTWA



J. D. Lee, *Zwięzła chemia nieorganiczna*, tłumaczenie z jęz. angielskiego Jerzy Kuryłowicz, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997

Zwięzła chemia nieorganiczna, która miała już co najmniej 5 wydań w USA (1964, 1965, 1977, 1991 i 1996), doczekała się również kolejnego wydania w Polsce. W słowie „Od wydawcy” napisano, że poprzednie wydanie w Polsce miało miejsce w 1994 jako wydanie trzecie tej książki (wydanie trzecie tej książki w USA w 1977). Recenzowałem tę książkę i miałem wiele krytycznych uwag, z których najważniejsza dotyczyła jej nienowoczesności w porównaniu do istniejących nawet na rynku polskim innych podręczników chemii nieorganicznej na poziomie uniwersyteckim. Już wtedy, w 1994 r., wyraziłem zdziwienie, że przetłumaczono książkę z 1977 r., a nie bardzo unowocześnioną wersję z 1991. W słowie „Od wydawcy” dowiedziałem się o najnowszym wydaniu z 1996 r. oraz o nieprzekonywującej argumentacji Wydawnictwa, dlaczego ponownie wydano starą wersję książki.

Na stronie tytułowej książki napisane jest „Wydanie czwarte poprawione”. Nie rozumiem, co to oznacza. Książka ta w USA miała 4 wydania (1964, 1965, 1977 i 1991), a być może nawet 5 (1996). Wydanie z 1991 r. (wydanie czwarte w USA) było istotnie unowocześnione, o objętości niemal dwukrotnie większej od wydania z 1977 r. Oświadczenie Wydawcy, że obecne wydanie jest wydaniem czwartym poprawionym może sugerować, że jest to tłumaczenie wydania amerykańskiego z 1991 r. — a tak nie jest. Z moich porównań książki z 1994 i 1997 r. wynika wyraźnie, że jest to po prostu dodruk wydania z 1994 r., a nie nowa poprawiona wersja. Z powyższych powodów moja opinia o „wydaniu czwartym poprawionym” jest równie, jeśli nie bardziej krytyczna niż o wydaniu trzecim z 1994, chociaż fakt wyczerpania nakładu upoważniał Wydawnictwo do dokonania dodruku, ale bez oświadczenia, że jest to wydanie czwarte i poprawione.

Oba wydania są identyczne, chociaż kartkując obie książki zauważyłem, że w wydaniu z 1994 r. np. po stronie 32 jest strona 35; po 40 strona 37, a po 42 strona 47 itd. Nie wiem, czy takie raczej drukarskie błędy dotyczą całego nakładu, a nie chciałbym przypuszczać, że usunięcie tych błędów Wydawnictwo uznało za argument do nadania wydaniu notki: „Wydanie czwarte poprawione”.

Na koniec przytoczę ostatnie zdanie mojej recenzji książki wydanej w 1994 r.: „Mimo przedstawionych uwag sądzę, że książka znajdzie wielu czytelników, ponieważ jest napisana poprawnie i przystępnie. Na pewno przetłumaczenie IV wydania tej książki (wydania amerykańskiego z 1991 roku, przyp. J. J. Z.) byłoby sukcesem wydawniczym”. Wydrukowanie na stronie tytułowej książki „Wydanie czwarte poprawione” nie jest sukcesem wydawniczym.

Adam Bielański, *Podstawy chemii nieorganicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997, wydanie trzecie uzupełnione, podręcznik w trzech częściach, 1033 s.

Poprzednie wydania podręcznika chemii nieorganicznej, autorstwa Adama Bielańskiego z 1987, a szczególnie z 1994 roku, cieszyły się bardzo dobrą opinią zarówno wśród studentów uczelni wyższych, jak i kadry nauczycieli akademickich. „Wiadomości Chemiczne” odnotowywały te fakty w recenzjach kolejnych wydań podręcznika. Z zadowoleniem należy przyjąć kolejne trzecie wydanie uzupełnione o bardzo przydatny wykaz najważniejszych związków chemicznych zgodny z obowiązującą nomenklaturą. Chociaż tymczasem ukazały się tłumaczenia bardzo dobrych podręczników chemii nieorganicznej, np. *Chemia nieorganiczna, podstawy* F. A. Cottona, G. Wilkinsona i P. L. Gausta, *Zwięzła chemia nieorganiczna* J. D. Lee oraz dwutomowa *Chemia nieorganiczna* L. Kolditza, to na pewno wznowione wydanie książki A. Bielańskiego niedługo będzie zalegać półki księgarskie. Stanie się tak dlatego, że zarówno układ rozdziałów książki, jak i ich treść bardzo dobrze odpowiadają tematom i treści minimum programowych z zakresu chemii ogólnej i nieorganicznej zalecanych przez ministra edukacji narodowej.

Można oczekiwać, że wielu wykładowców przedmiotu chemia nieorganiczna będzie polecać studentom ten podręcznik jako podstawowy.

Wrocław, 10 września 1997

Józef J. Ziolkowski

DO CZYTELNIKÓW „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 1998 r. ustaliliśmy na 48 zł dla instytucji i nie zrzeszonych prenumeratorów indywidualnych oraz 24 zł dla bibliotek szkół średnich i podstawowych. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

Bank Przemysłowo-Handlowy S.A.
I Oddział we Wrocławiu
pl. Powstańców Śl. 9, 53-316 Wrocław
Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
Nr 10601679-060280-27000-520101

Prenumerata „Wiadomości Chemicznych” dla członków PTCh, połączona z opłatą składek członkowskich, jest znacznie niższa i przedstawia się następująco:

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 1998 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi 37 zł (składka – 30 zł, prenumerata – 7 zł);
- emeryci oraz nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą 22 zł (składka – 15 zł, prenumerata – 7 zł);
- dla studentów, członków PTCh, składka wraz z prenumeratą „Wiadomości Chemicznych” wynosi 15 zł (składka – 8 zł, prenumerata – 7 zł).

Członkowie PTCh, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTCh Warszawa, ul. Freta 16
BG IV O/Warszawa, Nr 10401019-6594-132

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Zygmunt SADOWSKI: Biogeochemia żelaza i manganu	757
Wojciech J. KINART, Cezary M. KINART, Iwona M. KOZAK-MICHAŁOWSKA, Ewa ŚNIEĆ: Właściwości tlenu singletowego jako silnego enofila	771
Alina PYKA: Indeksy topologiczne i ich znaczenie w badaniach chromatograficznych. Część I. Indeksy topologiczne	783
Jarosław TOMCZAK: Topologiczne systemy reprezentacji struktur cząsteczek	803
Joanna MASŁOWSKA, Alina OWCZAREK, Joanna LESZCZYŃSKA: Immunochemiczne metody oznaczania pestycydów triazynowych w glebie, wodzie i żywności	827
Magdalena KURDZIEL, Elżbieta SZCZEPANIEC-CIEĆCIAK: Węglowodory niemetanowe (NMHC) w powietrzu atmosferycznym. Część II. Problemy analityczne	841
Felieton naukowy	
Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. XVI. O błędach. Błędy pokory	871
Nowe wydawnictwa	879

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAŻĄ SIĘ:

Aneta DĄBROWSKA, Wiesław WICZK, Leszek ŁANKIEWICZ: Asymetryczna synteza α -aminokwasów
Marek SIKORSKI: Kinetyka szybkich reakcji dwucząsteczkowych badanych za pomocą wygaszania fluorescencji. III. Metoda jednofotonowa
Andrzej M. KŁONKOWSKI: Ład w beładzie, czyli kompleksy jonów metali przejściowych w szklach i żelach cienkowych
Teresa LECH: Wpływ rtęci i jej związków na środowisko współczesnego człowieka
Stanisław GLADOS, Mariusz MACIEJEWSKI: Hydrożele, syntezy i zastosowania
Andrzej ORZESZKO, Zygmunt KAZIMIERCZUK: Sole Buntego — zapomniane związki

Felieton naukowy

Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. XVII. *De horrore novi*

Kronika

Nowe wydawnictwa