

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,
Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů

Optimalizace ultrazvukové extrakční metody a chromatografického stanovení fullerenu v horninách

Diplomová práce

Petr Vítek



Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jan Jehlička, Dr.

Praha 2006

Abstrakt

Při identifikaci fullerenu v geologických materiálech bylo dosud dosaženo řady rozporupných výsledků, zároveň opakovatelnost publikovaných nálezů je obtížná. Jedním z možných důvodů negativních výsledků může být neefektivní extrakce fullerenu z horninových materiálů.

Ultrazvukovou extrakcí vzorků černého uhlí v toluenu s přidaným standardem C_{60} byl testován soubor podmínek, které by mohly vést k optimalizaci průběhu ultrazvukové extrakce fullerenu z hornin. Extrakty byly analyzovány metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). V rámci experimentů, které probíhaly ve stejné ultrazvukové lázni (Tesla) se ukázalo, že ke zvýšení koncentrace C_{60} ve výsledném extraktu může vést optimální volba času sonikace – nejvyšších koncentrací C_{60} v extraktu bylo dosaženo po 30 minutách ultrazvukace. Dalším důležitým parametrem se ukázala být teplota vzorku při ultrazvukaci, kdy po 3 hod. ultrazvukaci při teplotách 280 – 285 K byla koncentrace C_{60} v extraktu o ~45 % vyšší než za teploty 290 – 310 K. Při kratší době sonikace byl rozdíl méně výrazný. Preextrakcí uhlí pentanem a pentanem + toluenem na systému Soxtec před přidáním standardu C_{60} vedla k mírnému zvýšení výtěžku C_{60} po následující ultrazvukaci. Menší vliv může mít i způsob filtrace. Opakovanou extrakcí již ultrazvukovaného uhlí nebylo vyextrahováno významné množství C_{60} (< 0,4%). Přítomnost dusíkové atmosféry nad vzorkem, probublávání N_2 do vzorku během ultrasonikace, či demineralizace uhlí se neukázaly v tomto případě jako vhodné podmínky. Výrazně nižších výtěžků bylo dosahováno v ultrazvukové lázni Bandelin Sonorex.

Při testování stability C_{60} v toluenovém roztoku v nepřítomnosti pevné fáze nebyly zjištěny dekompoziční procesy působením zvýšené teploty či akustického vlnění na C_{60} . Po tříhodinové ultrazvukaci roztoku C_{60} v lázni Bandelin Sonorex společně s frakcí nasycených uhlovodíků (separovaných z pentanového extraktu) koncentrace C_{60} v roztoku mírně klesla, stejně jako v případě sonikace roztoku C_{60} a toluenového extraktu, kdy byl zaznamenán pokles koncentrace C_{60} o cca 17%. Zřejmě tedy dochází k úbytku C_{60} vlivem reakcí s uhlovodíky při extrakci, pokles koncentrace C_{60} však není zdaleka tak významný jako v přítomnosti pevné fáze.

Summary

Many different and inconsistent results have been published about occurrence of fullerenes in natural samples. Simultaneously, reproducibility of positive results is often a difficult task. One of the possible reasons of contradictory and negative results is supposed to be inefficient extraction of fullerenes from geological matrices.

The goal of this work was to determine optimal conditions of ultrasound extraction, when applying this method to extraction of fullerenes from geological materials. Various parameters of ultrasound extraction were tested by sonication of bituminous coal in toluene with synthetic C_{60} added to powdered sample. High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine fullerene content in the obtained toluene extracts. Results obtained by sonication in Tesla ultrasound bath showed, that higher concentrations of C_{60} in final extract can be achieved, when optimal sonication time is selected – the highest yield was observed after 30 min of sonication. Another important parameter appears to be the temperature of the sample during sonication. After 3 h of sonication in temperature range 280 – 285 K, concentration of C_{60} in extract was about 45 % higher than yields obtained by sonication in temperature range 290 – 310 K. The difference was less pronounced, when shorter sonication time (30 min) was chosen. A little increase of C_{60} concentration in toluene extract was noted, when preextraction of coal by pentane and pentane + toluene by Soxhlet extraction (Soxtec system) was involved before C_{60} was added to the sample. Filtration method may have a little effect on detected concentration of C_{60} too. Multiple extractions of samples already extracted carried only < 0,4 % of further C_{60} . Presence of nitrogen atmosphere above the sample or bubbling of N_2 into the suspension during sonication did not lead to increase of C_{60} content in the final extract, moreover, a strong decrease was observed, especially in the second case. Demineralization of sample after C_{60} was added led to strong decrease of yields of C_{60} as well. Considerably lower yields were observed, when Bandelin Sonorex ultrasound bath was employed.

By testing stability of C_{60} in toluene solution without presence of solid phase, no direct influence of increased temperature or ultrasonic irradiation on fullerene decomposition was observed. After sonication of C_{60} (Bandelin Sonorex) for 3 hours in toluene solution together with fraction of saturated hydrocarbons (separated from pentane extract of coal), a moderate decrease of C_{60} was detected. Further slight decrease was observed, when C_{60} was sonicated together with toluene extract of coal. Final concentration of C_{60} after 3 h of sonication was about 17 % lower, compared to the initial C_{60} content. It seems, that there are mechanisms of fullerene reduction in solution based on reaction with hydrocarbons during fullerene extraction. However, the decrease in fullerene concentration is not so expressive, compared to results of experiments, when solid phase was involved.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou prací na téma „Optimalizace ultrazvukové extrakční metody a chromatografického stanovení fullerenů v horninách“ vypracoval samostatně pod vedením mého školitele Doc. RNDr. Jana Jehličky, Dr. Veškeré použité prameny jsem řádně citoval v textu a seznamu použité literatury.

V Říčanech, 3.5. 2006

Petr Víték



Poděkování

Na prvním místě chci poděkovat svému školiteli, Doc. RNDr. Janu Jehličkovi, Dr. za jeho inspirativní přístup a energii, kterou věnoval této práci i mě samotnému. Velký dík rovněž patří ing. Věře Hamplové, CSc a ing. Zdeňce Pokorné z Fyzikálního ústavu AV ČR za provedené analýzy HPLC, jejich ochotu a cenné diskuse nad prováděnými experimenty. Rád bych také poděkoval RNDr. Zbyňku Boháčkovi, ing. Miloslavě Kovářové a laborantkám z laboratoří organické geochemie na ČGS v Brně za vstřícnost a provedené analýzy extraktů z černého uhlí. Děkuji také Mgr. Otakaru Frankovi, PhD. za řadu cenných rad, zkušeností a pomoc při řešení některých metodických problémů. Za konzultaci děkuji také RNDr. Jiřímu Klímovi, CSc.

V neposlední řadě bych rád poděkoval některým pracovníkům ÚGMNZ a LGÚ, kteří mi během studia pomáhali – Doc. RNDr. Martinu Mihaljevičovi, CSc., Marii Fayadové, RNDr. Vojtěchu Ettlerovi, PhD. a dalším, hlavně pak RNDr. Ladislavu Strnadovi, PhD., který se podílel na některých „fullerenových“ experimentech, které nejsou součástí této práce.

Děkuji mým rodičům, kteří mi poskytli zázemí pro studium i ostatním svým blízkým, přátelům a kamarádům, bez kterých by mé konání ztrácelo smysl.

Zvláštní místo v mém poděkování patří panu Petru Jakešovi, díky...

OBSAH

1. Úvod	1
1.2. Fullereny v geologických materiálech	2
1.2.1. Extraterestrické nálezy fullerenů	2
1.2.2. Terestrické nálezy fullerenů	2
Fullereny v šungitu	2
Fullereny v pevném bitumenu (ČR)	3
Fullereny v impaktových strukturách	4
Fullereny na rozhraní křída/terciér a perm/trias	4
Fullereny ve fulguritu	5
Fullereny v uhlí	5
1.2.3. Shrnutí	5
2. Obecné vlastnosti fullerenů	8
2.1. Struktura molekuly C₆₀	8
2.2. Stabilita	9
2.3. Rozpustnost	13
3. Analytické metody používané pro detekci fullerenů	17
3.1. Analýza vzorku v pevném stavu	17
3.2. Analýza extraktu	18
3.2.1. Hmotnostní spektrometrie	18
3.2.2. Vysokoučinná kapalinová chromatografie – HPLC	20
4. Přehled extrakčních metod pro extrakci fullerenů	23
4.1. Ultrazvuková extrakce	24
4.2. Soxhletova extrakce	25
4.2.1. Soxtec	26
4.3. Zrychlená extrakce rozpouštědly	27
4.4. Mikrovlnná extrakce	27
4.5. Ostatní metody extrakce fullerenů	29
5. Metodika	30
5.1. Obecné metodické postupy a podmínky	31
5.1.1. Použité chemikálie	31
5.1.2. Černé uhlí	31
5.1.3. Příprava a zpracování vzorků	33
5.1.4. Separace a analýza C ₆₀ metodou HPLC	33
5.1.5. Preextrakce černého uhlí	33
5.2. Metodika jednotlivých experimentů	35
5.2.1. Testování vlivu filtrace na výtěžek C ₆₀	35
5.2.2. Vliv doby ultrazvukace na výtěžek	36
5.2.3. Vliv opakované extrakce	36
5.2.4. Vliv teploty vzorku při UZ extrakci	36
5.2.5. Vliv preextrakce černého uhlí	36

5.2.6. Vliv dusíkové atmosféry a probublávání dusíkem během ultrazvukace	37
5.2.7. Vliv demineralizace č. uhlí před ultrazvukací	37
5.2.8. Vliv centrifugace vzorku po ultrazvukaci	37
5.2.9. Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických molekul na chování C ₆₀ v roztoku	38
5.2.10. Využití nejlepších zjištěných podmínek ultrazvukace – doporučená metodika	38
6. Výsledky	39
6.1. Vliv filtrace	39
6.2. Vliv použité ultrazvukové lázně	42
6.3. Vliv doby ultrazvukace na výtěžek C ₆₀	42
6.4. Vliv opakované ultrazvukace	44
6.5. Vliv teploty vzorku při ultrazvukaci na výtěžek C ₆₀	45
6.6. Vliv preextrakce černého uhlí na výtěžek C ₆₀	45
6.7. Podmínky UZ extrakce, které nevedly k lepším výsledkům	46
6.8. Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických molekul na chování C ₆₀ pouze v roztoku	47
6.9. Vyhodnocení nejlepších podmínek pro ultrazvukovou extrakci C ₆₀ z hornin	48
7. Diskuse	50
7.1. Jaké mohou být přirozené důvody rozdílných výsledků při identifikaci fullerenu v přírodních materiálech?	50
7.1.1. Heterogenita v distribuci fullerenu v hornině	50
7.1.2. Zvětrávací procesy	50
7.2. Vliv metodiky analýzy na nesourodost výsledků při identifikaci fullerenu v horninách	51
7.2.1. Pokles koncentrace C ₆₀ v extraktu – možné důvody	51
Dekompozice molekuly C ₆₀	51
Adsorpce C ₆₀ na pevnou fázi	52
7.2.2. Vliv doby ultrazvukace	53
7.2.3. Vliv teploty vzorku při ultrazvukaci	54
7.2.4. Vliv N ₂	55
7.2.5. Vliv demineralizace černého uhlí	55
7.2.6. Shrnutí	56
7.3. A co dále?	57
8. Závěr	58
9. Použitá literatura	59
Přílohy	

Seznam obrázků

- Obr. 1: **A:** Snímek vzorku šungitu, pořízený metodou HRTEM. Kulovité tvary odpovídají C_{60} možná i C_{70} . **B:** Také snímek HRTEM, tentokrát syntetických fullerenu. str. 3
- Obr. 2: Molekula fullerenu C_{60} . str. 8
- Obr. 3: Schematické znázornění kubické plošně centrované (fcc) struktury fulleritu. str. 9
- Obr. 4: Výtěžky C_{60} vyextrahované ze vzorků s iniciální koncentrací C_{60} 99 %, zahříváných v pevném stavu různě dlouhou dobu. str. 10
- Obr. 5: Arrheniův diagram rychlostí dekompozice odvozený z uvedených zahřívacích experimentů. str. 11
- Obr. 6: Průběh ozonace (66 nmol/s, 2,6 obj% v O_2) toluenového roztoku. str. 11
- Obr. 7: Chromatogramy analýzy HPLC, kde lze vidět úbytek C_{60} s rostoucí dávkou ozonu a zároveň přítomnost piků kyslíkatých adduktů $C_{60}O$, $C_{60}O_2$ a $C_{60}O_3$. str. 12
- Obr. 8: Frakce C_{60} , $C_{60}O$ a $C_{60}O_2$, přítomná v roztoku v závislosti na čase ozařování UV lampou. str. 13
- Obr. 9: Závislost rozpustnosti C_{60} na parametru rozpustnosti rozpouštědla. str. 14
- Obr. 10: Anomální závislost rozpustnosti C_{60} na teplotě. str. 15
- Obr. 11: TOF spektrum kladných iontů fullerenu z fulguritu z lokality Sheep Mountain v Coloradu. str. 19
- Obr. 12: Spektrum frakce C_{60}^+ fulguritu z Sheep Mountain získané EI-MS spektrometrií. str. 19
- Obr. 13: Přehled řetězců, vázaných na silikagel, které jsou užívány jako stacionární fáze při separaci fullerenu vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. str. 21
- Obr. 14: Chromatografický záznam analýzy extraktu (CS_2) pevného bitumenu z Mítova. str. 22
- Obr. 15: Schéma vzniku microjettingu. str. 24
- Obr. 16: Schematické znázornění Soxhletova extraktoru. str. 26
- Obr. 17: Srovnání výtěžků C_{60} a C_{70} získaných Soxhletovou extrakcí a pomocí MAE při různých časech. str. 28
- Obr. 18: Výsledky experimentální filtrace roztoku C_{60} přes filtry PTFE (0,45 μm) a filtry skleněné (1 μm). str. 40
- Obr. 19: Chromatogram extraktu po tříhodinové ultrasonikaci. str. 41
- Obr. 20: Porovnání výtěžků ultrazvukové extrakce po dobu 3 hodin při použití teflonových filtrů 0,45 μm a skleněných filtrů 1 μm . str. 41
- Obr. 21: Srovnání výtěžků C_{60} po ultrasonikaci v lázni Tesla a Bandelin Sonorex. str. 42
- Obr. 22: Srovnání piků C_{60} z chromatografických záznamů extraktů po různé době ultrasonikace. str. 43
- Obr. 23: Vliv doby ultrazvukace na výslednou koncentraci C_{60} v extraktu. str. 44
- Obr. 24: Výsledek tříhodinové ultrasonikace vzorku černého uhlí s přidaným standardem C_{60} + opakované tříhodinové extrakce téhož vzorku. str. 44
- Obr. 25: Vliv teploty vzorku při ultrasonikaci na koncentraci C_{60} v extraktu. str. 45
- Obr. 26: Srovnání výtěžků C_{60} přidaného k uhlí neextrahovanému, ultrazvukovanému v lázni Tesla, extrahovanému pentanem a extrahovanému pentanem i toluenem. str. 46
- Obr. 27: Přehled sledovaných parametrů, které za daných podmínek nebyly shledány vhodnými pro ultrazvukovou extrakci fullerenu. str. 47
- Obr. 28: Srovnání výtěžku C_{60} z roztoku vystaveného různým podmínkám - zahřívání, ultrazvukaci a ultrazvukaci spolu s extraktem z č. uhlí. str. 48
- Obr. 29: Shrnutí nejlepších podmínek pro UZ extrakci. str. 49
- Obr. 30: Srovnání výsledku za nejlepších podmínek a výsledku, kdy byla doba ultrazvukace 90 min. str. 49
- Obr. 31: Vliv doby ultrazvukace na výtěžek C_{60} (A) a C_{70} (B) v toluenových extraktech z fullerenuových sazí v porovnání s výsledky této práce. str. 54

Obr. 32: Chromatogram z analýzy pentanového extraktu pomocí GC – frakce nasycených uhlovodíků.
Příloha II, VI

Obr. 33: Chromatogram z GC analýzy nasycených uhlovodíků v toluenovém extraktu. *Příloha II, VI*

Obr. 34: Soxtec System HT 2, Tecator. *Příloha III, VII*

Seznam tabulek

- Tab. 1: Přehled vybraných nálezů fullerenu v přírodních materiálech. str. 7
- Tab. 2: Rozpuštěnost C_{60} ve vybraných rozpouštědlech. str. 15
- Tab. 3: Detekční limity analytických metod pro detekci C_{60} v pevném stavu. str. 18
- Tab. 4: Srovnání výtěžků C_{60} při použití tří rozdílných extrakčních technik a různých koncentrací přidaného C_{60} . str. 23
- Tab. 5: Přehled prováděných experimentů. str.30
- Tab. 6: Elementární a fyzikální charakteristiky použitého černého uhlí. str. 31
- Tab. 7: Petrografická charakteristika použitého černého uhlí, str. 31
- Tab. 8: Výsledky GC analýzy alifatické frakce uhlovodíků z černého uhlí. str. 32
- Tab. 9: Výsledky GC analýzy aromatické frakce uhlovodíků z černého uhlí. str. 32
- Tab. 10: Výsledky GC analýzy frakce nasycených uhlovodíků v pentanovém a toluenovém extraktu z černého uhlí. str. 34
- Tab. 11: Ověření vlivu filtrace roztoku C_{60} na výtěžek extrakce. str. 39
- Tab. 12: Naměřené hodnoty koncentrací C_{60} při různých časech ultrazvukace. str. 43
- Tab. 13: Filtrace extraktu. *Příloha I, I*
- Tab. 14: Srovnání dvou ultrazvukových lázní. *Příloha I, I*
- Tab. 15: Opakovaná extrakce. *Příloha I, II*
- Tab. 16: Ultrazvukace při $T = 280-285K$. *Příloha I, II*
- Tab. 17: Vliv preextrakce černého uhlí. *Příloha I, III*
- Tab. 18: Podmínky, které nevedly k lepším výsledkům. *Příloha I, III*
- Tab. 19: Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických látek na koncentraci C_{60} v roztoku. *Příloha I, IV*
- Tab. 20: Nejlepší podmínky. *Příloha I, IV*
- Tab. 21: Ultrazvukace po dobu 90 min, ostatní podmínky odpovídají nejlepším zjištěným podmínkám. *Příloha I, V*

Seznam použitých zkratk

HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HPLC/UV-Vis	vysokoučinná kapalinová chromatografie s detektorem v oblasti ultrafialového a viditelného spektra
HPLC-MS	vysokoučinná kapalinová chromatografie s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie
HPLC-FT-IR	vysokoučinná kapalinová chromatografie s detekcí pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací
PDA	typ detektoru s fotodiodovým polem
GC	plynová chromatografie
PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCPAHs	perchlorované polycyklické aromatické uhlovodíky
NSO	heterocyklické sloučeniny obsahující dusík, síru a kyslík
DIBs	difuzní pásy v mezihvězdném prostoru
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
HRTEM	transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením
LD-MS	hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí
TOF-MS	hmotnostní spektrometrie s průletovým analyzátozem (často v kombinaci s laserovou desorpcí - LD)
SELDI	metoda laserové desorpce/ionizace zvýšené povrchem
EI-MS	hmotnostní spektrometrie s ionizací nárazem elektronů
FAB-MS	hmotnostní spektrometrie, kdy je vzorek ionizován bombardováním urychlenými atomy
APCI-MS	hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací při atmosferickém tlaku
NMR	nukleární magnetická rezonance
RTG difr.	rentgenová difrakce
LDEF	orbitální stanice pro dlouhodobé experimenty na oběžné dráze Země
IPR	pravidlo izolovaných pětiúhelníků
IUPAC	mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
Nd:YAG	typ laseru, kdy aktivním prostředím jsou ionty neodymu, navázané na ytrium-aluminiový granát
ASE	zrychlená extrakce rozpouštědly
MAE	mikrovlňná extrakce
ODS	silikagel s navázanými řetězci C ₁₈
PTFE	teflon (polytetrafluoroethylen)
PET	polyethylentetraftalát

Seznam příloh

- Příloha I:* Tabulky s výsledky jednotlivých experimentů (kromě tabulek, které jsou uvedeny v kapitole Výsledky), I-V
- Příloha II:* Chromatogramy z analýzy plynovou chromatografií, VI
- Příloha III:* Fotografie systému Soxtec, VII

1. Úvod

Objev fullerenu v roce 1985 (Kroto a kol., 1985) nastartoval rozvoj nového směru – fullerenové vědy. V roce 1990 publikovali autoři Krätschmer a kol. metodu, kterou lze připravit fullereny v makroskopickém množství - experimentování s fullereny, zkoumání jejich fyzikálních a chemických vlastností se tedy stalo přístupné pro širší vědeckou komunitu a to nejen ve sféře akademické.

První nález fullerenu v geologickém materiálu, konkrétně v šungitu, publikovali Buseck a kol. v roce 1992. Vznik přírodních fullerenu je vázán na vysokoenergetické události – rozsáhlé požáry na rozhraní křída/terciér jako důsledek dopadu bolidu na zemský povrch (Heymann a kol., 1994, 1996, 1998), samotné impaktové procesy (Becker a kol., 1994, 1996), údery blesku (Daly a kol., 1993), či tepelnou metamorfózu uhlíkaté hmoty (Jehlička a kol., 2003). Identifikace fullerenu v geologických materiálech proto může být indikátorem specifických podmínek při kterých hornina obsahující fullereny vznikala.

Fullereny, pokud byly detekovány v přírodních materiálech, tak pouze v malých koncentracích, v řádech ppb – ppm. Často bylo dosaženo řady rozdílných výsledků, což může mít několik důvodů, které jsou později diskutovány. Nejčastěji užívaným postupem při stanovení fullerenu v horninách je jejich extrakce vhodným rozpouštědlem (především toluen, CS_2) a následná analýza extraktu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) nebo hmotnostní spektrometrie. Práce Jehličky a kol. (2005b) ukazuje, že jednou z příčin negativních výsledků může být neefektivní extrakce fullerenu z pevné fáze. Z práce vyplývá, že především při nízkých koncentracích C_{60} není extrakce kvantitativní. Autoři testovali tyto extrakční techniky: ultrazvuková extrakce, Soxhletova extrakce (systém Soxtec) a zrychlená extrakce rozpouštědly (Dionex). Volba extrakční metody je mimo jiné závislá na charakteru pevné fáze. Pro černé uhlí s relativně vysokým obsahem polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs) a NSO komponent (heterocyklické sloučeniny obsahující dusík, síru a kyslík) se jeví jako nejlepší extrakční metoda ultrazvuková extrakce (Jehlička a kol., 2005b). Nicméně i tak byl autory dosažený výtěžek C_{60} za použití ultrazvukové extrakce nízký ~3-4 %.

Na základě těchto poznatků byl stanoven cíl mé diplomové práce – stanovení nejvhodnějších podmínek ultrazvukové extrakce C_{60} z hornin. Jako modelový horninový materiál bylo použito černé uhlí. Pro detekci koncentrace C_{60} v extraktu byla užitá vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Jedná se o nedestruktivní metodu, často užívanou pro separaci a analýzu fullerenu, při které nemůže dojít k jejich nežádoucímu druhotnému vzniku, který je často diskutován v souvislosti s metodou hmotnostní spektrometrie s laserovou desorcí (LD-MS).

Práce byla zpracována v rámci projektu GAČR 205/03/1468 „Vznik fullerenu v horninách pyrolýzou bitumenních prekurzorů“. Zdokonalení metodiky ultrazvukové extrakce fullerenu z hornin bylo na základě práce Jehličky a kol. (2005b) vyhodnoceno jako další důležitý krok.

1.2. Fullereny v geologických materiálech

1.2.1. Extraterrestrické nálezy fullerenů

Tvar a struktura molekuly C_{60} vedly k předpokladu vysoké stability molekuly a jejím velkým rozšíření v mezihvězdném prostoru. Soudilo se, že některé z nevysvětlených difuzních pásů v infračerveném spektru (DIBs – diffuse interstellar bands) mezihvězdného prostoru mohou patřit právě fullerenům. Spektroskopická pozorování C_{60} v laboratorních podmínkách tento předpoklad nepotvrdila, avšak zdá se, že by pásy mohly odpovídat kationtu C_{60}^+ , který podle Foinga a Ehrenfreundové (1994) reprezentuje 0,3 až 0,9 % z celkového kosmického uhlíku, nebo fulleranům, tedy fullerenům s navázaným vodíkem (Webster, 1991, 1992). Dodnes nebyla přítomnost fullerenů v mezihvězdném prostoru jasně prokázána ani vyvrácena. Předpokládá se, že pakliže se vyskytují v mezihvězdné hmotě, jejich vznik je vázán na uhlíkem bohaté a zároveň o vodík ochuzené hvězdy a nejsou jedinou formou uhlíkaté hmoty vznikající v takových podmínkách. Je pravděpodobný také vznik amorfního uhlíku, velkých uhlíkatých klastrů (tzv. uhlíkaté cibule), carbon black a karbynů (Heymann a kol., 2003).

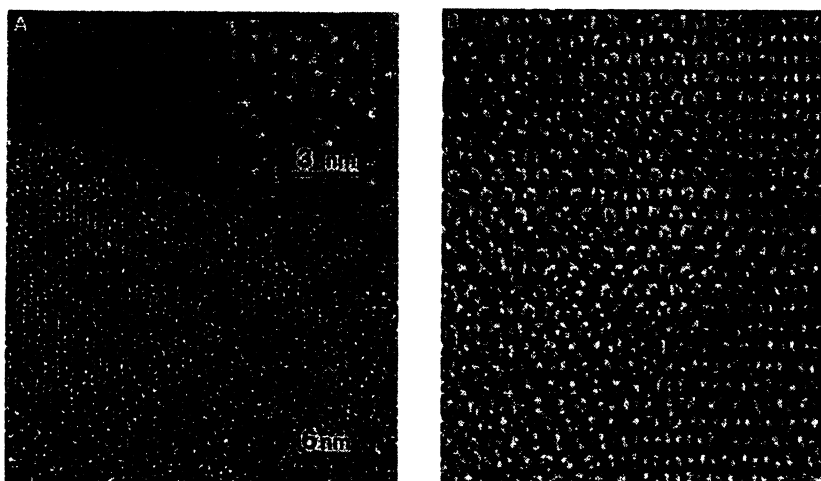
Předpoklad výskytu fullerenů ve vesmírném prostoru vedl ke zkoumání uhlíkatých chondritů, jejichž složení se nejvíce blíží složení protoplanetární hmoty. Na toto téma byly publikovány některé protichůdné výsledky. Zatímco autorům Becker a kol. (1994a, 1995) nebo Becker a Bunch (1997) se podařilo analyzovat fullereny v meteoritu Allende, Heymann (1997) analýzou vzorku meteoritu Allende nezaznamenal přítomnost fullerenů, stejně jako např. DeVries a kol. (1993). Později, Harris a kol. (2000) zkoumali uhlíkatou hmotu meteoritu Allende metodou TEM a zjistili přítomnost uhlíkatých částic podobných fullerenům.

1.2.2. Terrestrické nálezy fullerenů

- Fullereny v šungitu

Šungit je uhlíkem bohatá hornina proterozoického stáří (~2 Ga), vyskytující se v oblasti Karelíe v Rusku. Jedná se převážně o metamorfované sedimenty (facie zelených břidlic) s variabilním obsahem uhlíku (od <10 hm.% až po >95 hm.%); přítomny jsou však také horniny vulkanického a metasomatického původu (Buseck a kol., 1997). Izotopické složení organického uhlíku i další znaky (přítomnost pyritu jako produkt bakteriální redukce sulfátů při diagenézi) nasvědčují tomu, že organická hmota v šungitu je biogenního původu (Melezhik a Fallick, 2000). Jedná se o negrafitizující materiál, který vznikal dlouhotrvající termální alterací (do 500°C) bitumenního materiálu při regionální metamorfóze či na kontaktu s intruzemi diabasů. Vliv tlaku se při metamorfóze neuplatňoval vůbec, či jen velice málo (Jehlička a Rouzaud, 1992).

Fullereny byly objeveny ve skelné variantě šungitu (Buseck a kol., 1992; Parthasarathy a kol., 1998) - jejich výskyt je podle Busecka a kol. (1992) vázán na tenké filmy při prasklinách v šungitu. Řadě autorům se však nepodařilo detekovat přítomnost fullerenů v této hornině (Heymann, 1995; Gu a kol., 1995), což zřejmě ukazuje na jejich omezený a heterogenní výskyt v šungitu. Ebessen a kol. (1995), kterým se taktéž nepovedlo detekovat fullereny v šungitu, diskutovali možnost jejich vzniku v tomto horninovém materiálu jako lokální událost v důsledku úderu blesku. S touto interpretací nesouhlasí Buseck a Tsipursky (1995), jelikož pro takové vysvětlení není dostatek indicií.



Obr. 1: **A:** Snímek vzorku šungitu, pořízený metodou HRTEM. Kulovité tvary odpovídají C_{60} možná i C_{70} . **B:** Také snímek HRTEM, tentokrát syntetických fullerenu (zvětšení odpovídá vloženému výřezu ve snímku A). Převzato z Buseck a kol. (1992).

Vznik fullerenu v šungitu může mít původ v samotném procesu formování uhlíkatého materiálu, tedy metamorfóze primární organické hmoty (hlavně zbytky modrozelených řas), diskutovány však bývají i další možné příčiny. Stáří šungitu spadá do zhruba stejného časového období jako vznik impaktové struktury v Sudbury. Proto se nabízí jedno z možných vysvětlení přítomnosti fullerenu v šungitu, které uvažuje o jejich původu právě v impaktové události Sudbury, kdy mohlo dojít k uvolnění prachu s obsahem fullerenu a jeho rozšíření po celé Zemi (Heymann a kol., 2003).

- Fullereny v pevném bitumenu (ČR)

Fullereny byly nalezeny rovněž na území ČR, a to v pevném bitumenu z lokality Mítov (Jehlička a kol., 2000, 2003). Polštářové lávy ve kterých je bitumen obsažen, jsou součástí neoproterozoického vulkanosedimentárního komplexu tepelsko – barrandienské oblasti. Bitumen se vyskytuje ve formě agregátů centimetrových až decimetrových rozměrů, uzavřených v křemenné hmotě mezi polštáři těchto láv andezitického bazaltu. Rovněž je obsažen v 1 m mocném horizontu stromatolitické křemenné brekcie mezi dvěma lávovými proudy andezitického bazaltu. Jedná se o bitumen s vysokým podílem uhlíku ($H/C = 0,11$ a $O/C = 0,067$) a aromatických vazeb, což dokládá NMR spektrometrie izotopu ^{13}C (Jehlička, 1994). Pevný bitumen z lokality Mítov je, podobně jako karelský šungit, negrafitický a negrafitizujícím materiálem, který vznikl termální alterací primární organické hmoty bitumenu, jejímž zdrojem byly mořské řasy (Jehlička a kol., 2003).

Fulleren C_{60} byl detekován ve dvou vzorcích tohoto bitumenu metodami HPLC a EI-MS v koncentracích 0,2 a 0,3 ppm (Jehlička a kol., 2003). Pro izolaci fullerenu od zvětrávacích procesů a tudíž jejich zachování po dlouhou geologickou dobu se jeví velice důležitá přítomnost uzavřené porozity pevného bitumenu a jeho uzavření ve hmotě bazaltu.

Autoři zároveň analyzovali další materiály – miocenní lignit (Bílina), černé uhlí (Kladno), karbonské (Brandov) a permské antracity (Lhotice), antraxolit (Příbram), proterozoické černé břidlice (Zbečno) a grafit z Českého Krumlova. V těchto vzorcích fullereny nebyly identifikovány.

- Fullereny v impaktivních strukturách

Impaktivní struktury jsou dalšími místy, kam se upírá pozornost vědců zkoumajících výskyt fullerenu v přírodním prostředí. Takovou lokalitou je Sudbury, kde byly fullereny identifikovány v impaktivní brekcii formace Onaping s obsahem uhlíku kolem 1% (Becker a kol., 1994b; Becker a kol., 1996; Elsilá a kol., 2004). Není zcela jasné, zda-li fullereny nalezené v Sudbury vznikly působením vysokých teplot a tlaků při dopadu bolidu, nebo byly přítomny v jeho struktuře již předtím a mají tedy extraterestrický původ. Izotopický poměr uhlíku tzv. „černého tufu“ formace Onaping naznačuje biogenní původ uhlíku. Je tedy možné, že fullereny zde vznikly mnohem později při metamorfóze organického materiálu - zbytků řas vzniklých v kráterovém jezeře (Heymann a kol., 2003). Becker a kol. (1996) v Sudbury detekovali endohedrál ní deriváty fullerenu s uzavřenými atomy He uvnitř molekuly fullerenu, jejichž izotopické složení odpovídá extraterestrickému původu. Naopak Heymannovi a kol. (1999) se nepodařilo identifikovat fullereny v impaktivní struktuře Sudbury, kdy analyzoval vzorky „černého tufu“ i dalších poloh v rámci formace Onaping a také formace Onwatin, což opět potvrzuje problematickou reprodukovatelnost detekce fullerenu v horninách.

Elsilá a kol. (2004) kromě potvrzení nálezu C_{60} v horninách formace Onaping (Sudbury) rovněž zaznamenali přítomnost C_{60} v suevitu impaktivních struktur Gardnos (Norsko) a Ries (Německo). Použitou analytickou metodou byla v tomto případě hmotnostní spektrometrie s ionizací resp. desorpčí typu SELDI (surface-enhanced laser desorption/ionization). Detekované koncentrace C_{60} se pohybovaly v rozmezí 2 – 60 ppb. Impaktivní kráter Ries v Německu zkoumali také Frank a kol. (2005). V extraktech demineralizovaných vzorků nebyla metodou HPLC zaznamenána přítomnost fullerenu nad detekčním limitem 1 ppb.

- Fullereny na rozhraní křída/terciér a perm/trias

Vrstva sedimentů na rozhraní křída/terciér vykazuje obohacení iridiem, které je interpretováno jako důsledek dopadu bolidu před 65 Ma (Alvarez a kol., 1980). Později byly Wolbachem a kol. (1985) v těchto sedimentech identifikovány saze a dřevěné uhlí, což nasvědčuje požárům, které po dopadu tělesa postihly rozsáhlé oblasti Země. Místo dopadu bylo později identifikováno na pobřeží poloostrova Yucatán (Mexiko) se středem dopadu v místě zvaném Chicxulub (Hildebrand a kol., 1991).

V roce 1994 publikovali Heymann a kol. nález fullerenu v sedimentech na rozhraní K/T na lokalitách Woodside Creek a Flaxbourne River (New Zealand). Fullereny byly identifikovány metodou HPLC v extraktech uhlíkem bohatých reziduí demineralizovaných vzorků. Vzorky z Flaxbourne River obsahovaly kromě C_{60} (2,1 ppm) také C_{70} (0,77 ppm) - poměr C_{70}/C_{60} byl tedy 0,36. Další nálezy fullerenu na rozhraní K/T následovaly později – Heymann a kol. (1996) zaznamenali přítomnost C_{60} a C_{70} v sedimentech z lokalit Caravaca (Španělsko), Sumbar a Malyi Balkhan (Turkmenistán) a Stevns Klint (Dánsko). Ve vzorcích z lokalit Elendgraben (Rakousko), Koshak (Kazachstán) a Tetri Tskaro (Georgia) naopak nebyla přítomnost fullerenu zaznamenána. Heymann a kol. (1994) nepředpokládají, že by fullereny detekované v sedimentech byly extraterestrického původu a přiklání se scénáři, který vysvětluje vznik fullerenu jako důsledek spalování organické hmoty během rozsáhlých požárů po dopadu meteoritu. Další nález fullerenu na rozhraní K/T, tentokrát na Brazos River (Texas), prezentují Heymann a kol. (1998) jako jeden z markerů těchto procesů (vedle zvýšené koncentrace uhlíku a sazí). Autoři Taylor a Abdul-Sada (2000) naopak publikovali negativní výsledky – fullereny na rozhraní křída/terciér se jim nepodařilo detekovat.

Někteří autoři identifikovali přítomnost fullerenů také na rozhraní perm/trias (před 251 Ma), kdy došlo k masivnímu vymírání mořských i suchozemských druhů, avšak nebyly nalezeny sedimenty obohacené iridiem ani sazemí – není tedy prokázáno, že jde o důsledek dopadu asteroidu tak jako tomu bylo na rozhraní K/T, nelze ani dokázat existenci rozsáhlých požárů během tohoto eventů. Chijiwa a kol. (1999) detekoval C_{60} v sedimentech na rozhraní P/T z lokality Inuyama (Japonsko), a to v koncentraci 20 ppt. Analýza byla provedena metodou HPLC. Becker a kol. (2001) analyzovali sedimenty (P/T) z lokalit Meishan (Čína), Sasayama (Japonsko) a Bálvány (Maďarsko). U vzorků z prvních dvou jmenovaných lokalit byly metodou LD-MS (analyzovány byly toluenové extrakty) zaznamenány píky 720 amu, odpovídající iontu C_{60}^+ a píky 840 amu, náležící iontu C_{70}^+ . Dokonce byly u těchto vzorků identifikovány atomy He s anomálním izotopickým složením, ukazujícím na jejich extraterestrický původ. Stratigrafická pozice a izotopické poměry He ve vzorcích autorů Becker a kol. (2001) byly později zpochybněny (Farley a Mukhopadhyay, 2001).

- Fullereny ve fulguritu

Fulgurit je sklovitý útvar, nejčastěji tubulárního tvaru, který vzniká po úderu blesku do horninového prostředí. Výchozí horninový materiál, ve kterém fulgurity vznikají se může lišit, nejčastěji se jedná o křemenný písek či písčitou půdu. V roce 1993 publikovali Daly a kol. nález fullerenů ve fulguritu z oblasti Sheep Mountain v Coloradu. Autoři zároveň analyzovali fulgurity vytvořené na písčinych dunách, kde fullereny detekovány nebyly. Toluénové extrakty rozemletých vzorků byly analyzovány metodou TOF-MS s laserovou desorpcí. Ve fulguritu ze Sheep Mountain byly identifikovány píky odpovídající iontům C_{60}^+ a C_{70}^+ a také píky naznačující přítomnost C_{46}^+ až C_{58}^+ a C_{64}^+ až C_{68}^+ . Pro ověření, zda fullereny nevznikly jako artefakty při analýze, byl region 720 amu extraktu vzorku ze Sheep Mountain podroben analýze EI-MS, která potvrdila přítomnost C_{60} . V tomto případě byl výchozím materiálem trachyandezitický tuf s malým obsahem uhlíku (<0,05%). Autoři se domnívají, že uhlík potřebný pro syntézu fullerenů pochází z borových jehlic a šišek, které se v okolí vzorku vyskytovaly.

- Fullereny v uhlí

Je prokázáno, že z uhlí lze fullereny syntetizovat např. plazmovým výbojem (Qiu a kol., 2000) či laserovou ablací (Greenwood a kol, 1990). Přírodní fullereny (C_{60} i C_{70}) byly v uhlí doposud identifikovány pouze ve dvou vzorcích z provincie Yunnan v jihozápadní Číně (obsah uhlíku 75 a 80 %). Uhlí bylo extrahováno ultrazvukovou extrakcí a analýza provedena metodou HPLC (Fang a Wong, 1997). Jedná se však o nález, který nebyl dále doložen nezávislým pozorováním a není jednoznačně přijímán.

1.2.3. Shrnutí

Jak vyplývá z předchozího textu, při identifikaci fullerenů v horninách často dochází k protichůdným výsledkům, kdy se jedné skupině autorů podařilo identifikovat fullereny v geologickém materiálu, zatímco jiné nikoliv. Rozdíly byly zaznamenány dokonce v rámci jednoho vzorku, kdy Becker a kol. (1994b) detekovali C_{60} ve vzorku z impaktové struktury Sudbury v koncentraci 10 ppm, Elsila a kol. (2005) identifikoval C_{60} o koncentraci 2 ppb a Heymannovi a kol. (1999) se nepodařilo ve stejném vzorku fullereny detekovat. Důvodů, kterými si lze tuto skutečnost vysvětlit je více. Jedním z nich je

heterogenita v distribuci fullerenu v hornině – často byly fullereny detekovány stejným autorským týmem jen u některých vzorků jedné horniny, zatímco jiné vzorky téhož materiálu fullereny neobsahovaly (Jehlička a kol., 2003; Elsila a kol., 2005). Ukazuje se, že pro uchování fullerenu po dlouhou geologickou dobu je zřejmě důležité zakonzervování fullerenu v hornině (Jehlička a kol., 2003). Přítomnost fullerenu v navětralé hornině či vzorcích, které nejsou analyzovány co nejdříve po odebrání, je tedy málo pravděpodobná (Heymann a kol., 1994; Jehlička a kol., 2003).

Detekované koncentrace fullerenu v přírodních materiálech se často pohybují blízko detekčního limitu metody. Metodika analýzy fullerenu v horninách je proto často diskutována v souvislosti s rozporuplnými výsledky. Analýza fullerenu přímo v pevné fázi vzorku většinou není dostatečně citlivá pro detekci tak nízkých koncentrací, proto je ve většině případů rozemletý vzorek nejdříve extrahován vhodným rozpouštědlem (toluen, CS_2) a následně analyzován nejčastěji vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) či metodou hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí (LD-MS), ale i dalšími hmotnostně spektrometrickými metodami, např. EI-MS. Výsledky získané pouze metodou LD-MS (Becker a kol., 1994a) jsou zpochybňovány vzhledem k riziku nežádoucího vzniku fullerenu působením laseru na uhlíkatou hmotu (Gu a kol., 1995; Buseck, 2002).

Samotná extrakce fullerenu z horninového materiálu je tedy klíčovým krokem, ať již jde o stanovení pomocí HPLC nebo MS. Nejčastěji je užíváno metod ultrazvukové (např. Heymann a kol., 1996; Jehlička a kol., 2003) a Soxhletovy extrakce (Daly a kol., 1993; Becker a kol., 1994b; Becker a Bunch, 1997). Práce Jehličky a kol. (2005b) však ukazuje, že při nízkých koncentracích C_{60} v hornině (< 10 ppm) nelze očekávat kvalitativní převedení fullerenu do roztoku. Výtěžky modelových extrakcí s iniciální koncentrací C_{60} pod 1 ppm byly dokonce nižší než 5 %. Heymann a kol. (1996) a Elsila a kol. (2005) zaznamenali výrazné rozdíly ve výtěžku C_{60} při extrakci neupravených vzorků horniny a vzorků demineralizovaných (detailně je tato problematika dále diskutována v kap. 7.2.5.).

Stanovení optimálních podmínek při extrakci fullerenu z hornin se tedy jeví jako velice významné pro další analýzy přírodních vzorků. Ultrazvuková extrakce, jak již bylo zmíněno, poskytuje v případě uhlí jako pevné fáze lepší výsledky, než jiné extrakční metody (Jehlička a kol., 2005b). Navíc je u této metody možno měnit a celou řadu parametrů. Sledování vlivu těchto parametrů na výslednou koncentraci C_{60} v extraktu je tedy námětem předkládané práce.

Tab. 1: Přehled vybraných nálezů fullerenu v přírodních materiálech. Upraveno podle Busecka (2002).

Zdroj:	analytická metoda:	autor:
Extraterestrické materiály:		
Allende	LD-TOF-MS	Becker a kol. (1994, 1995, 1999, 2000), Becker a Bunch (1997)
Murchinson	LD-TOF-MS	Becker a kol. (2000)
Tagish Lake	LD-TOF-MS	Pizzarello a kol. (2001)
kráter na LDEF*	LD-MS, Raman	Di Brozolo a kol. (1994)
Terestrické materiály:		
šungit	HRTEM, LD-FTMS	Buseck a kol. (1992)
	EI-MS, NMR ¹³ C, RTG difr.	Parthasarathy a kol. (1998)
	HPLC, FTIR	Konkov a kol. (1994)
	HPLC, MS	Masterov a kol. (1994)
pevný bitumen, Mítov	HPLC	Jehlička a kol. (2000)
	HPLC, EI-MS	Jehlička a kol. (2003)
impakt. Struktura Sudbury	LD-TOF-MS, EI-MS	Becker a kol. (1994b)
	LD-TOF-MS	Mossman a kol. (2003)
sedimenty z rozhraní K/T		
Woodside Creek, NZ	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1994)
Flaxbourne River, NZ	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1994)
Caravaca, Španělsko	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1996)
Sumbar, Turkmenistán	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1996)
Malyi Balkhan, Turkmenistán	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1996)
Stevns Klint, Dánsko	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1996)
Stevns Klint, Dánsko	LD-TOF-MS	Becker a kol. (2000)
Brazos River, Texas, USA	HPLC/UV-Vis	Heymann a kol. (1998)
Raton Basin, Colorado, USA	LD-TOF-MS	Becker a kol. (2000)
sedimenty z rozhraní P/T		
Inuyama, Japonsko	HPLC	Chijiwa a kol. (1999)
Meishan, Čína	LD-TOF-MS	Becker a kol. (2001)
Sasayama, Japonsko	LD-TOF-MS	Becker a kol. (2001)
fulgurit (Colorado, USA)	TOF-MS, EI-MS	Daly a kol. (1993)
uhlí (Yunan, Čína)	HPLC	(Fang a Wong, 1997)

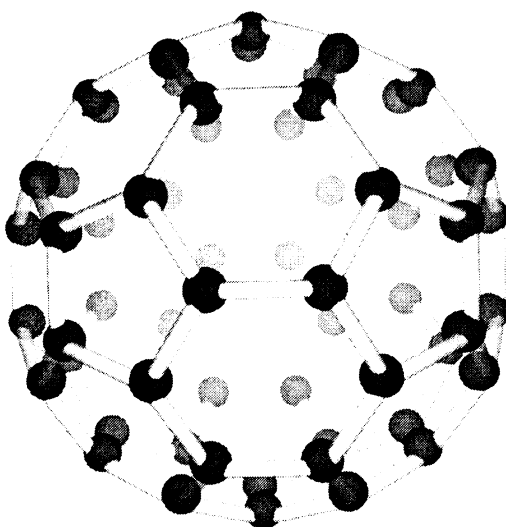
*LDEF – Long Duration Exposure Facility, jedná se o orbitální stanici určenou pro dlouhodobé experimenty na oběžné dráze Země, fullereny byly identifikovány v mikrokráteru na jejím povrchu.

2. Obecné vlastnosti fullerenu

2.1. Struktura molekuly C₆₀

Kulový tvar molekuly fullerenu je zapříčiněn včleněním pětiúhelníků, které působí jako defekty v grafenové struktuře (Kroto a kol., 1991). Těch je vždy 12 a mohou být obklopeny různým počtem šestiúhelníků. Z hlediska stability molekuly je výhodné, když jsou pětiúhelníky co nejdále od sebe a jsou rozmístěny rovnoměrně. V opačném případě dochází ke zvýšení napětí vazby a nižší stabilitě. Tzv. pravidlo izolovaných pětiúhelníků (IPR – Isolated Pentagons Rule) říká, že stabilní jsou pouze ty fullereny, v jejichž struktuře se nevyskytují dva pětiúhelníky vedle sebe (Guldi, 2001). Nejmenším fullerenem, kde je toto pravidlo uplatněno, je C₆₀, kde jsou atomy uhlíku rozmístěny ve vrcholech komolého ikosahedronu. Ten má celkem 32 stěn - 12 pravidelně rozložených pětiúhelníků je obklopeno 20 šestiúhelníky. Příмым důsledkem pětiúhelníkových tvarů ve struktuře fullerenu je, narozdíl od grafenových ploch, anizotropie v distribuci elektronů. Každý atom uhlíku je v molekule C₆₀ vázán na tři okolní atomy dvěma jednoduchými vazbami typu σ a jednou dvojnou vazbou σ a π , přičemž v rámci pětičetných kruhů se uplatňují právě vazby jednoduché. V šestičetných kružících se pak střídají vazby dvojně s jednoduchými. Přítomnost dvou typů vazeb způsobuje, že šestiúhelníky ve struktuře C₆₀ jsou mírně prostorově nepravidelné (Eletskii a Smirnov, 1995). Zatímco u grafitu má každá ze stran šestiúhelníku délku 0,142 nm (Veselovskii, 1960), v případě C₆₀ je délka strany 0,144 nm, resp. 0,139 nm u dvojně vazby (David a kol., 1991, Hedberg a kol., 1991, Hawkins a kol., 1991). Zakřivení plochy uhlíkaté sítě vede k pyramidálnímu postavení každého atomu v molekule (Haddon, 1993) a způsobuje, že sp^2 hybridizované orbitály mají charakter $sp^{2,278}$ (Haddon, 1988). Tyto faktory zvyšují reaktivitu fullerenu vůči planárním aromatickým uhlovodíkům. Naproti tomu povrch uvnitř molekuly se zdá být prakticky inertní (Mauser, 1997).

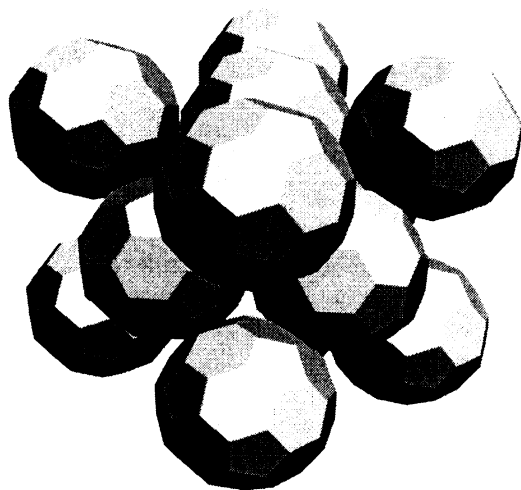
Analýzou C₆₀ v krystalickém stavu při pokojové teplotě byl metodou RTG difrakce zjištěn průměr molekuly C₆₀ 0,71 nm (Krätschmer a kol., 1990). Všechny atomy uhlíku v molekule C₆₀ jsou ekvivalentní, každý je vrcholem dvou šestiúhelníků a jednoho pětiúhelníku. To dokládá spektrum NMR analýzy C₆₀ obohaceného izotopem ¹³C, které vykazuje pouze jeden rezonanční pás (Eletskii a Smirnov, 1995). Vazebná energie každého atomu uhlíku v molekule C₆₀ byla vypočítána na 6,99 eV (Tomanek a Schluter, 1991).



Obr. 2: Molekula fullerenu C₆₀

V případě, že by se názvosloví fullerenu řídilo podle nomenklatury IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) pro polycyklické sloučeniny, byly názvy fullerenu moc složité a prakticky nepoužitelné. Proto je na doporučení komise IUPAC z roku 2001 používáno označení $(C_{60}-I_h)[5,6]$ fulleren pro C_{60} , kde C_{60} znamená počet uhlíků ve struktuře, údaj I_h vyjadřuje grupu symetrie a čísla v hranatých závorkách [5,6] ukazují na velikost kruhů v molekule.

Pevná fáze C_{60} (rovněž C_{70}) se nazývá fullerit, molekuly fullerenu jsou zde vázány van der Waalovými silami. Jeho krystalová struktura je závislá na teplotě – pod hodnotou 90 K zaujímají molekuly C_{60} jednoduchou kubickou strukturu (David a kol., 1992). Dosažením teploty 261 K systém zaujímá plošně centrovanou kubickou strukturu (fcc – face centred cubic) s mřížkovou konstantou 14,198 Å (Heiney a kol., 1991, 1992). Tuto strukturu, která je vyobrazena na obr. 3 si fullerit zachovává při pokojové teplotě. V případě přítomnosti nečistot, vyšších fullerenu či zbytku rozpouštědla má C_{60} tendenci krystalovat spíše v hexagonální struktuře s těsným uspořádáním (hcp – hexagonal close-packed) (Vantendeloo a kol., 1992).

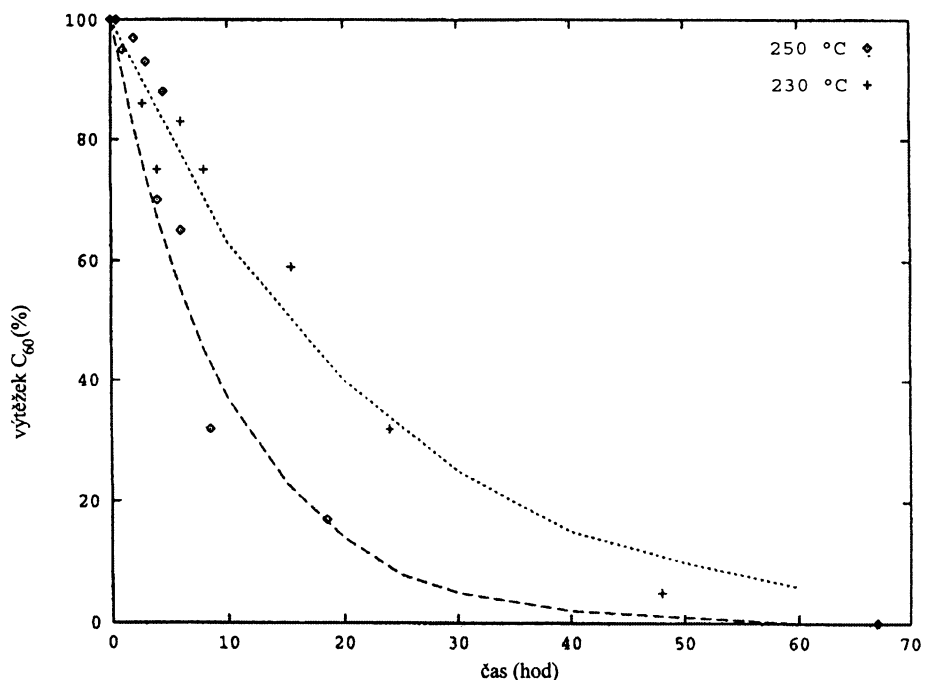


Obr. 3: Schematické znázornění kubické plošně centrované (fcc) struktury fulleritu.

2.2. Stabilita

Znalosti stability fullerenu při různých podmínkách okolního prostředí jsou důležité z hlediska laboratorního, při skladování ve formě roztoku i v krystalickém stavu a také pro lepší porozumění jejich chování v horninovém prostředí. Po objevení fullerenu existoval předpoklad, že díky tvaru molekuly fullerenu budou tyto látky vysoce stabilní, což se nepotvrdilo – naopak reaktivita některých fullerenu je vysoká a podobá se spíše formám uhlíku s neuspořádanou strukturou (Cuesta a kol., 1992).

Jedním z aspektů, které mají na stabilitu fullerenu vliv je teplota okolního prostředí. Chibante et al. (1993) zkoumal vliv zahřívání C_{60} a C_{70} v pevném stavu na vzduchu za teplot 150 až 250 °C po dobu od 1 do 743 hodin.

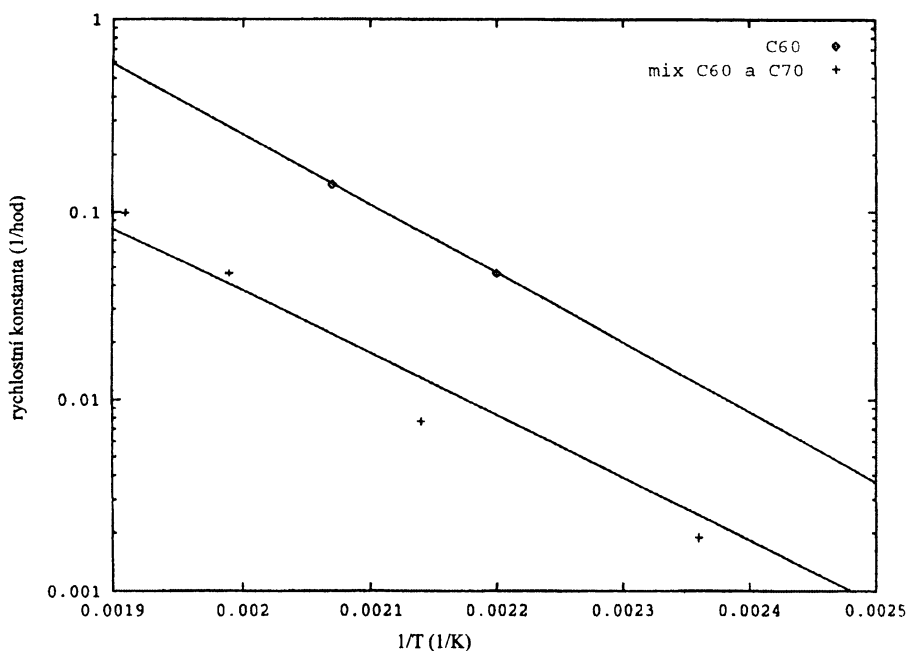


Obr. 4: Výtěžky C₆₀ vyextrahované ze vzorků s iniciální koncentrací C₆₀ 99 %, zahříváných v pevném stavu různě dlouhou dobu. Výsledky jsou uvedeny v hmotnostních procentech, vztažených k hmotnosti nezahřívajícího vzorku. Experiment byl proveden za teplot 250 a 230 °C. Převzato z Chibante a kol. (1993).

Jak ukazuje obr. 4, rychlost rozpadu je závislá jak na teplotě, tak na čase zahřívání. Na základě provedených experimentů se autoři domnívají, že dekompozice má exponenciální charakter a odpovídá rovnici:

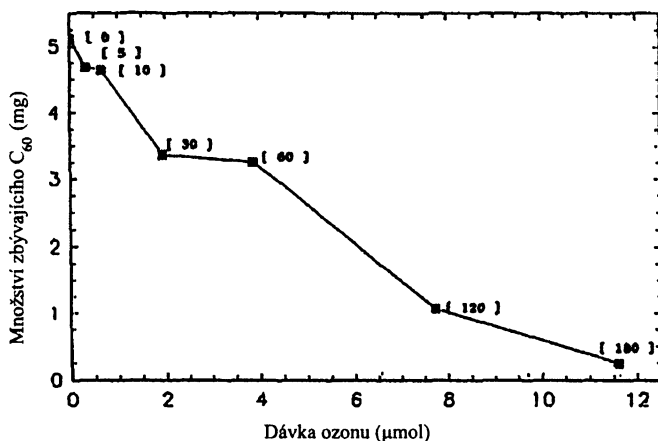
$$dN = -rN dt \quad (1)$$

kde N je počet přítomných molekul fullerenu a r je rychlostní konstanta. Hodnoty r lze tedy vypočítat z experimentálních dat. Jejich logaritmy pak vykazují lineární závislost na $1/T$, jak je patrné z obr. 5 (Chibante a kol., 1993). Navzájem rozdílné výsledky vykazují pokusy s C₆₀ (>99%) a se směsí C₆₀ (85 mol%) a C₇₀ (15 mol%), kde k rozpadu dochází rychleji. To může být způsobeno produkty rozpadu C₇₀, jejichž volné uhlíkaté vazby mohou způsobit rozklad molekuly C₆₀, další možností je začlenění C₆₀ do komplexů těchto produktů. Extrapolací získaných závislostí na nižší teploty autoři došli k hodnotám poločasu rozpadu C₆₀ 0,88 roku při 100 °C a 400 let při 25 °C, resp. 0,16 a 88 pro směs C₆₀ a C₇₀ (Chibante a kol., 1993).

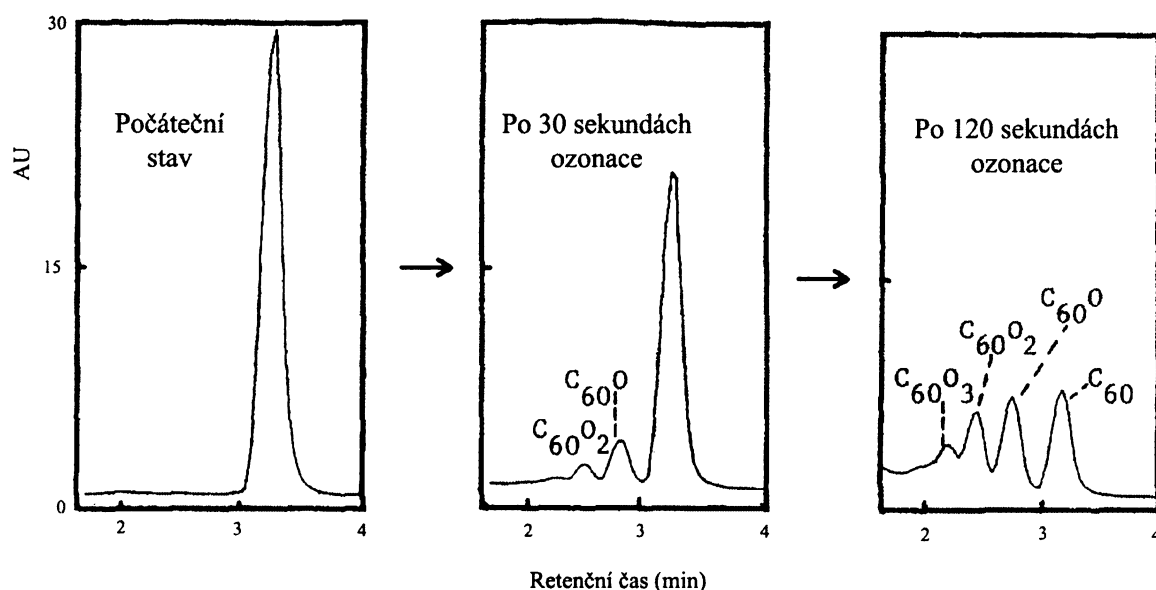


Obr. 5: Arrheniův diagram rychlostí dekompozice odvozený z uvedených zahřívacích experimentů. Převzato z Chibante a kol. (1993).

Z obr. 6 a 7 vidíme, že po probublávání toluenového roztoku C_{60} ozonem dochází k rychlé dekompozici molekul fullerenu. Pro zaznamatelnou destrukci C_{60} stačí přidání 10^{-6} molu O_3 , po 180 sekundách dochází téměř k úplnému vymizení C_{60} z roztoku při rychlosti přísunu O_3 66 nmol/s (2,6 obj% v O_2). Rychlost dekompozice při experimentu je však závislá na difuzi plynu a tudíž na velikosti bublin ozonu. Po přidání 0,5 μmol O_3 se mění barva z fuchsiově růžové, přes růžovočervenou, červenohnědou a hnědožlutou na bleděžlutou, přičemž při červenohnědém zbarvení roztoku dochází k precipitaci nerozpustných produktů. Při probublávání O_2 a zachování všech parametrů (velikost bublin, rychlost přísunu plynu) nebyla zjištěna žádná změna toluenového roztoku C_{60} po dobu 17 h (celkem 0,1 mol O_2). Rychlost dekompozice C_{60} vlivem ozonu je tedy minimálně o pět řádů rychlejší, než působením O_2 . Ozonací C_{60} v toluenu dochází k navázání kyslíku na molekulu fullerenu a ke vzniku $C_{60}O_n$ ($n = 1, 2, 3, \dots$). U těchto molekul s navázaným kyslíkem pak dochází ke snadné dekompozici (Chibante a Heymann, 1993).



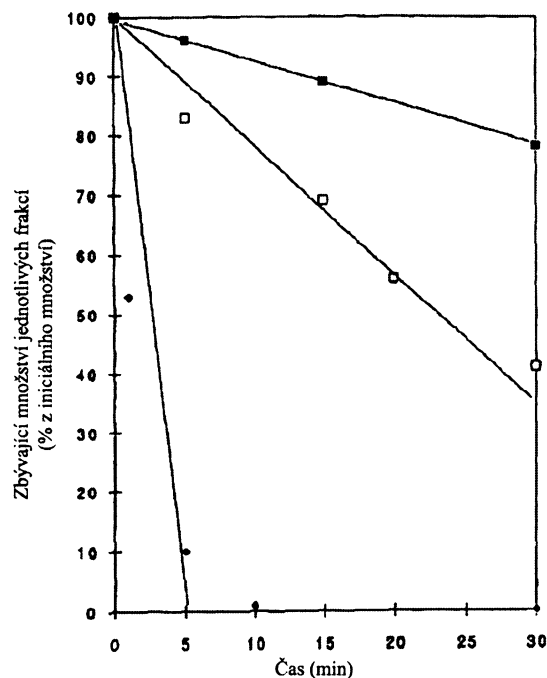
Obr. 6: Průběh ozonace (66 nmol/s, 2,6 obj% v O_2) toluenového roztoku s iniciálním obsahem C_{60} 5,1 mg při teplotě 25,5 °C. Převzato z Chibante a Heymann (1993).



Obr. 7: Chromatogramy analýzy HPLC, kde lze vidět úbytek C_{60} s rostoucí dávkou ozonu a zároveň přítomnost píků kyslíkatých adduktů $C_{60}O$, $C_{60}O_2$ a $C_{60}O_3$. Upraveno podle Chibante a Heymann (1993).

Působením O_3 na krystalickou fázi C_{60} při standardní teplotě dochází k pomalejšímu rozkladu fullerenu než u toluenového roztoku. Po 10 min není patrný žádný úbytek fullerenu, za 24 hod je rozloženo několik procent a po 7 dnech 80%. Pevné vzorky vystavené působení ozonu 1 a více dní obsahují látky nerozpustné v toluenu. V toluenových extraktech nebyly zjištěny oxidy, což může být vysvětleno jejich poměrně pomalým vznikem na povrchu krystalových ploch a následnou další, naopak rychlou, oxidací na nerozpustné produkty (Chibante a Heymann, 1993).

Prokázána je fotodisociace jak C_{60} , tak i oxidů $C_{60}O$, $C_{60}O_2$ v toluenu. Taylor a kol. (1991) pozoroval úplné dekompozice C_{60} v hexanu při ozařování UV lampou za 10-16 hodin v závislosti na podmínkách reakce. Fragmentace molekuly fullerenu byla pomalejší, když reakce probíhala pod dusíkem (podíl kyslíku v roztoku klesl, ale stále významné množství zůstalo). Heymann a Chibante (1993) provedli ozařování toluenového roztoku C_{60} UV lampou (254 nm). Po 7 hodinách experimentu klesla koncentrace o 9% a při stanovení metodou HPLC byl pozorován zřetelný pík $C_{60}O$, zatímco pík $C_{60}O_2$ nebyl zaznamenán. Po ponoření UV lampy do roztoku, v tomto případě se jednalo o mix C_{60} (0,19 mg/ml) a C_{70} (0,23 mg/ml), došlo k výrazně rychlejší destrukci fullerenu. Za 2 hodiny klesla koncentrace na 42% resp. 45%. Jako produkty fotodisociace byly stanoveny monoxydy $C_{60}O$ a $C_{70}O$, dioxid $C_{60}O_2$ opět nebyl detekován. Heymann a Chibante také provedli stejné experimenty s čistým $C_{60}O$ a $C_{60}O_2$. U $C_{60}O$ dochází k rozpadu asi dvakrát rychleji, než u C_{60} , mezi produkty fotooxidace není $C_{60}O_2$. Samotný $C_{60}O_2$ se rozpadá výrazně rychleji, z výsledků však není jasně zřetelné, kdy přesně koncentrace klesne k nule (viz. obr. 8). Autoři odhadují asi 40 - 50 krát vyšší rychlost dekompozice, než v případě C_{60} . Taylor a kol. (1991) popisuje produkty dekompozice fullerenu v hexanovém roztoku po ozařování UV lampou jako žlutohnědou sraženinu s obsahem vodíku 3-4 % a kyslíku 40-54 %, snadno rozpustnou v polárních rozpouštědlech.



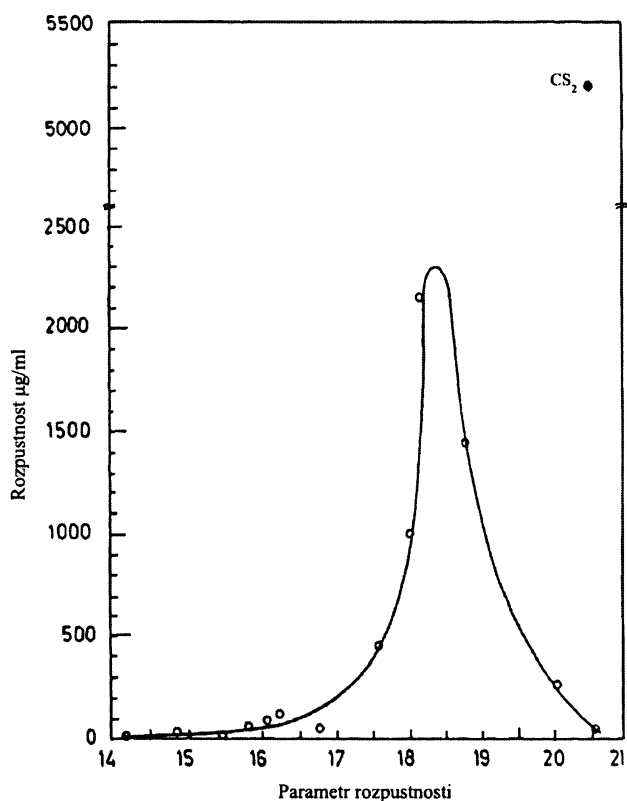
Obr. 8: Frakce C₆₀ (■), C₆₀O (□) a C₆₀O₂ (◆), přítomná v roztoku v závislosti na čase ozařování UV lampou (Heymann a Chibante, 1993).

2.3. Rozpustnost

Molekula fullerenu C₆₀ je rozpustná v nepolárních organických rozpouštědlech, především aromatických, ale i alifatických. Přehled rozpustností při pokojové teplotě v různých rozpouštědlech je uveden v tab. 2. Běžně užívanými rozpouštědly jsou CS₂, toluen a hexan. Nelze vyčlenit pouze jednu vlastnost rozpouštědla, která determinuje rozpustnost C₆₀, ta je ovlivňována souborem různých parametrů rozpouštědla, jako index lomu světla, dielektrická konstanta, velikost molekuly, parametr rozpustnosti a síla vazeb s atomy vodíku (Ruoff a kol., 1993).

Obecně lze říci, že rozpustnost C₆₀ v aromatických rozpouštědlech zvyšuje přítomnost např. methyl či methoxy skupin, tedy takových, které fungují jako donor elektronů, což potvrzuje zvyšující se rozpustnost v pořadí benzen - toluen - xylen (třetí methylová skupina již způsobuje pokles rozpustnosti). Naopak funkční skupiny, vystupující jako akceptor elektronů (nitro, nitril) rozpustnost C₆₀ snižují. Chlor či brom vázaný na benzen také zvyšuje rozpustnost oproti čistému benzenu, stejně jako u methylové skupiny, dva navázané atomy těchto prvků rozpustnost zvyšují, zatímco třetí již působí opačně. Podíváme-li se na alifatické uhlovodíky, rozpustnost je vyšší ve chlorovaných alkanech (kromě freonů) ve srovnání s běžnými alkany (Ruoff a kol., 1993).

Rozpustnost C₆₀ v alifatických rozpouštědlech se zvyšuje s počtem atomů uhlíku v rozpouštědle. Tento jev je vysvětlitelný podle Hildebrandovy teorie regulárních roztoků – rozpustnost látky v rozpouštědle je závislá na parametrech rozpustnosti jak rozpouštěné látky, tak rozpouštědla.



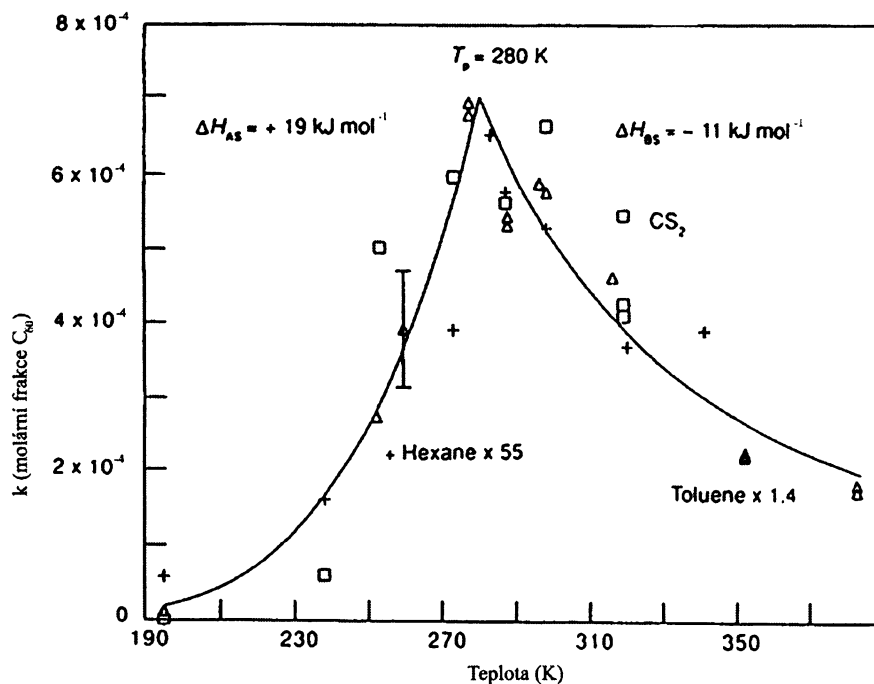
Obr. 9: Závislost rozpustnosti C_{60} na parametru rozpustnosti rozpouštědla (Sivaraman a kol., 1992).

Parametr rozpustnosti odráží energii van der Waalsových sil mezi molekulami v kapalině a je definován vztahem:

$$\delta = [(\Delta H - RT)/V]^{1/2} \quad (2)$$

kde ΔH je výparné teplo, T teplota a V je molární objem, přičemž rozpustnost je nelepší v případě, kdy se parametry rozpustnosti rozpouštěné látky a rozpouštědla navzájem rovnají. Hodnota parametru rozpustnosti pro C_{60} je na základě rozpustnosti v různých rozpouštědlech (obr. 9) odhadována na asi $18,5 \text{ (J/cm}^3)^{1/2}$ (Sivaraman a kol., 1992). Na obr. 9 je rovněž vidět, že z trendu závislosti mezi rozpustností a parametrem rozpustnosti se vymyká CS_2 , které je nejsilnějším nearomatickým rozpouštědlem.

Je známo, že rozpouštění pevné látky v rozpouštědle je reakce závislá na teplotě. Pro organické látky rozpouštěné v organických rozpouštědlech obecně platí, že se zvyšující se teplotou roste rozpustnost (jedná se o endotermickou reakci). Ruoff a kol. (1993b) zaznamenal při rozpouštění C_{60} v CS_2 , toluenu a hexanu anomální závislost na teplotě (obr. 10), kdy rozpustnost se zvyšující se teplotou roste u všech tří rozpouštědel do zhruba $10 \text{ }^\circ\text{C}$, do $25 \text{ }^\circ\text{C}$ nedochází k velkým změnám a při teplotách bodu varu každého rozpouštědla je rozpustnost asi 2-3 krát nižší. Podle autorů se stává rozpouštění C_{60} při těchto vyšších teplotách exotermickou reakcí a ke změně dochází v důsledku fázového přechodu C_{60} . Tento poznatek může být významný pro zajištění vhodných extrakčních podmínek při extrakci C_{60} z přírodních materiálů, stejně tak jako z fullerenových sazí.



Obr. 10: Anomální závislost rozpustnosti C_{60} na teplotě při rozpouštění v hexanu, toluenu a CS_2 . U všech těchto rozpouštědel se jeví nejlepší teplota rozpouštění kolem 280 K. Převzato z Ruoff a kol. (1993b).

rozpuštědlo:	Ruoff a kol. (1993a):		Sivaraman a kol. (1992):	Heymann (1996):
	(mg/ml)	molární zlomek ($\times 10^4$)	(mg/ml)	(mg/ml)
alkany				
pentan	0,005	0,008	0,004	0,0032
hexan	0,043	0,073	0,04	0,0365
heptan	-	-	-	0,0485
dekan	0,071	0,19	0,07	-
deriváty benzenu				
benzen	1,7	2,1	1,44	-
toluen	2,8	4,0	2,15	-
xylén	5,2	8,9	-	-
fluorbenzen	0,59	0,78	-	-
chlorbenzen	7,0	9,9	-	-
deriváty naftalenu				
1-methylnaftalen	33	68	-	-
1-chlornaftalen	51	97	-	-
polární				
methanol	0,000	0,000	-	0,000035
ethanol	0,001	0,001	-	0,0008
aceton	0,001	0,001	-	-
acetonitril	0,000	0,000	-	-
jiné				
sirouhlík	7,9	6,6	5,16	-

Tab. 2: Rozpustnost C_{60} ve vybraných rozpouštědlech při pokojové teplotě. Upraveno podle Ruoff a kol. (1993a), Sivaraman a kol. (1992) a Heymann (1996).

Kromě rozpustnosti C_{60} je také třeba brát ohled na další charakteristiky rozpouštědla – toxicita, náročnost manipulace, cena. Toluén, často používané a relativně silné rozpouštědlo fullerenů, je z hlediska toxicity méně nebezpečný než Sirouhlík (CS_2), který je jedovatý a toxický a používá se méně často. Při dlouhodobém vdechování může však toluén způsobovat poškození mozku a centrální nervové soustavy. Použití velice silného rozpouštědla C_{60} , jako je např. 1-methylnaftalen, je nákladnější a vzhledem k vysokému bodu varu ($\sim 243^\circ C$) a jeho velké viskozitě při pokojové teplotě je také komplikovanější při dalším zpracování.

3. Analytické metody používané pro detekci fullerenu

Existuje několik způsobů detekce fullerenu obsažených v geologických materiálech či fullerenných sazech. Rozpustnost fullerenu v nepolárních organických látkách (viz. kapitola 2.3.) umožňuje extrakci pevného vzorku horniny vhodným rozpouštědlem (toluen, CS₂, 1-methylnaftalen) a následnou analýzu extraktu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie – HPLC (např. Heymann a kol., 1994; Jehlička a kol., 2003, 2005b) či hmotnostní spektrometrie s různými způsoby ionizace, nejčastěji LD-MS (Daly a kol., 1993; Becker a kol., 1994) či EI-MS (Daly a kol., 1993; Jehlička a kol., 2003). Při stanovení fullerenu metodou HPLC neexistuje riziko vzniku fullerenu během analýzy tak jako u LD-MS, problematické však může být jejich detekce v extraktu s vysokým podílem PAHs a NSO složek, kdy může pík těchto látek překrývat pík fullerenu (Jehlička a kol., 2005b) a existuje zde také nebezpečí chybné interpretace, způsobené přítomností látky s identickým retenčním časem. Tento problém lze eliminovat presepací extraktu (Heymann a kol., 1995).

Studium fullerenu přímo v pevné fázi umožňuje např. hmotnostní spektrometrie s detekcí doby letu a laserovou desorcí (LD-TOF-MS), s jistými omezeními také transmisní elektronová mikroskopie (TEM) a Ramanova mikrospektroskopie (Jehlička a kol., 2005a; Frank, 2005). V následujících kapitolách jsou jednotlivé metody popsány. Největší prostor je věnován metodám analýzy fullerenu extrahovaných do roztoku, hlavně metodě HPLC, která byla použita pro analýzy vzorků v rámci mé diplomové práce. Popis metod samotné extrakce je vzhledem k zaměření této práce sťažejní a proto jsou tyto metody detailně rozebrány v další samostatné kapitole.

3.1. Analýza vzorku v pevném stavu

V této kapitole jsou popsány analytické metody, které nevyžadují předchozí extrakci fullerenu rozpouštědlem a umožňují přímou detekci těchto molekul v pevném stavu. Nehraje zde tedy roli efektivita extrakce, existují ovšem jiné problémy, omezující použití takových metod.

Publikací, které by popisovaly identifikaci fullerenu v přírodních materiálech na základě analýzy vzorku v pevném stavu není mnoho. Buseck a kol. (1992) zaznamenal výskyt C₆₀ v šungitu metodou transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením (HRTEM), nález byl potvrzen hmotnostní spektrometrií s laserovou desorcí (LD-MS). Parthasarathy a kol. (1998) analyzoval vypreparovanou uhlíkatou hmotu šungitu metodami EI-MS, Rentgenovou difrakcí a nukleární magnetickou resonancí (NMR) ¹³C, které potvrdily přítomnost C₆₀. Di Brozolo a kol. (1994) pak detekoval fullereny pomocí Ramanovy mikrospektrometrie v kráteru na plášti orbitální stanice LDEF.

Frank a kol. (2004) porovnávali použití HRTEM, Ramanovy spektroskopie a hmotnostní spektrometrie s detekcí doby letu a laserovou desorcí (LD-TOF-MS). Pro experimenty byly použity vzorky grafitu z Českého Krumlova, černého uhlí z Kladna, šungitu (Karelia, Rusko) a křemene. Ke vzorkům rozemletým v achátové misce (velikost zrn 10 – 100 μm) byl přidán standard C₆₀ ve formě roztoku v koncentracích 1 – 8000 ppm. Jako nejcitlivější metoda pro detekci C₆₀ se ukázala hmotnostní spektrometrie s detekční limitem pro šungit, grafit a křemen 1 ppm. V případě uhlí byl detekční limit 10 ppm, což je způsobeno rušivým vlivem signálu polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs) a heterocyklických uhlovodíků obsahujících dusík, síru, nebo kyslík - NSO sloučeniny (Jehlička, Frank, Svatoš, ústní sdělení 2006).

	Křemen	Grafit	Šungit	Č. uhlí
LD-TOF-MS	1 ppm	1 ppm	1 ppm	10 ppm
HRTEM	1%	1%	1%	1%
Raman	100 ppm	1% - 100 ppm	1% - 100 ppm	1%

Tab. 3: Detekční limity analytických metod pro detekci C₆₀ v pevném stavu, upraveno podle Frank (2005).

Transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením (HRTEM) umožňuje pozorování C₆₀ až při koncentracích nad 100 ppm, což výrazně překračuje hodnoty koncentrací dosud zaznamenaných v přírodních materiálech (zatím maximální hodnota je zhruba 10 ppm). Je však možné touto metodou sledovat uspořádání fullerenu v okolní hornině. Autor použil pro experimenty stejné horniny, jako u předchozí metody. Pozoroval C₆₀ převážně jako agregáty nanokrystalů s difrakčním obrazcem typickým pro hexagonální strukturu s těsným uspořádáním (hcp – hexagonal close-packed). Ve vzorcích, které byly připraveny smícháním rozemleté horniny s C₆₀ v pevné fázi byly, kromě zmíněných struktur pozorovány také obrazce ukazující na přítomnost kubických plošně centrovaných buněk (fcc – face-centred cubic). Agregáty C₆₀ ve směsi horniny a fullerenu mají výhradně charakter hcp, což ukazuje, že C₆₀ má tendenci krystalovat v této symetrii v případě přítomnosti jiných fullerenu nebo zbytků rozpouštědla (Vantendeloo a kol., 1992). Podle Busecka (2002) by mohla být HRTEM nejlepší metodou pro pozorování vyšších fullerenu (kolem C₂₀₀) a příbuzných struktur – tzv. uhlíkatých cibulí. Nízká rozpustnost vyšších fullerenu navíc komplikuje použití metod, vyžadujících předchozí extrakci z pevné fáze.

Ramanova spektroskopie uhlíkatých materiálů a ekvivalentů s uměle přidanými fullereny umožňuje lepší porozumění způsobu distribuce fullerenu v přírodních materiálech a je to velice dobrý nástroj pro charakterizaci fullerenu v čisté fázi a zakoncentrovaných extraktech. Avšak ani tato metoda není prakticky použitelná pro koncentrace nižší než 100 ppm v uhlíkatých maticích (Jehlička a kol., 2005a) a stejně jako TEM není proto příliš vhodná pro detekci fullerenu v reálných geologických materiálech.

3.2. Analýza extraktu

3.2.1. Hmotnostní spektrometrie

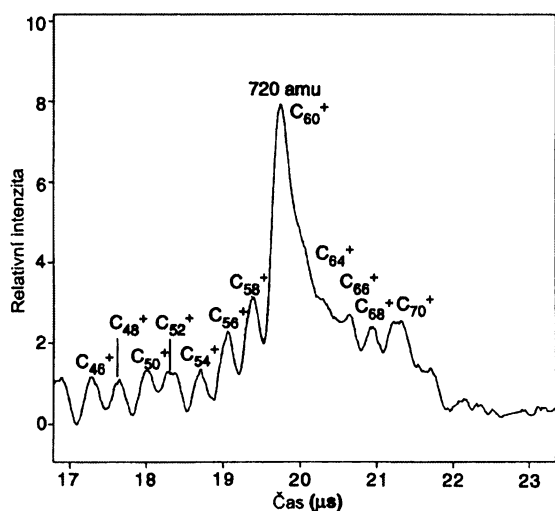
Hmotnostní spektrometrie je vedle HPLC často užívanou metodou pro analýzu fullerenu v extraktu horninového materiálu. Metoda umožňuje detekci fullerenu na molekulární úrovni a je tedy vhodná pro identifikaci nízkých koncentrací. Ionizace resp. desorpce vzorku bývá nejčastěji realizována pomocí laserové desorpce (LD-MS) nebo nárazem elektronů (EI-MS), použití jiných metod bývá méně časté.

Při hmotnostně spektrometrickém stanovení fullerenu využívající laserové desorpce (LD-MS), je na vzorek zaměřen paprsek laseru (N₂, Nd:YAG, CO₂), který způsobuje desorpci a ionizaci vzorku. Tato metoda umožňuje detekci jak pozitivních, tak negativních iontů a použili jí např. Becker a kol. (1994a), kteří detekovali fullereny v meteoritu Allende analýzou toluenových extraktů. Výsledky získané pouze na základě této metody jsou však diskutovány v souvislosti s možným vznikem

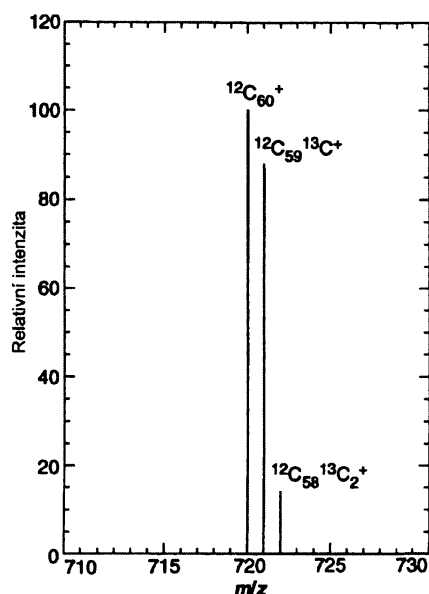
fullerenů působením laseru na uhlíkem bohatý vzorek (Ebbesen a kol., 1995; Gu a kol., 1995; Buseck, 2002), proto je žádoucí současné použití ještě jiné analytické metody, kde k sekundárnímu vzniku fullerenů nemůže dojít (EI-MS, HPLC). Heymann (1997), kterému se nepodařilo identifikovat fullereny ve vzorku stejného meteoritu, též vidí jako jedno z možných vysvětlení rozdílných výsledků použití LD-MS u Becker a kol. (1994a). V případě, že by vzorek Allende obsahoval $C_{60}H_2$ a ne C_{60} , došlo by k vyextrahování $C_{60}H_2$ do toluenového roztoku, při hmotnostně spektrometrickém stanovení pak dochází ke vzniku jednak píku $m/z = 722$ ($C_{60}H_2$) a odtržením jednoho či dvou vodíků pak také vznikají píky $m/z = 721$ resp. $m/z = 720$ C_{60} , což může naznačovat přítomnost C_{60} , i když primárně tato molekula ve vzorku není.

Elsila a kol. (2005), kteří detekovali C_{60} v „černém tufu“ formace Onaping impaktové struktury Sudbury a také v impaktových kráterech Gardnos a Ries, použili metodu SELDI (surface – enhanced laser desorption/ionization). Jedná se o metodu založenou na laserové desorpci a ionizaci, kdy je analyt nanesen na povrchu, který absorbuje spektrum použitého laseru. Ve spojení s laserovou desorpcí je často užíváno průletového analyzátoru (TOF – time of flight) (Becker a kol., 1994b; Becker a Bunch, 1997; Becker a kol., 2000), kde dochází k rozdělení iontů s rozdílným m/z na základě jejich odlišné rychlosti a tedy rozdílné doby letu z iontového zdroje k detektoru. Hmotnější iont se pohybuje pomaleji a k detektoru dorazí později.

Daly a kol. (1993) použili metodu TOF-MS s laserovou desorpcí (Nd:YAG) pro analýzu fulguritu z oblasti Sheep Mountain v Coloradu – na obr. 11 vidíme hmotnostní spektrum pozitivních iontů s píkem 720 amu, odpovídající iontu C_{60}^+ , patrné jsou i menší píky C_{70}^+ a dalších (nižších) fullerenů. Pro vyloučení možnosti, že fullereny vznikly druhotně působením laseru, bylo provedeno měření metodou EI-MS, tedy metodu, kdy je analyzovaná látka ionizována nárazem elektronů (electron impact). Měření potvrdilo přítomnost C_{60} ve fulguritu – viz. obr. 12. Taylor a Abdul.Sada (2000) na základě měření metodou EI-MS nezjistili přítomnost fullerenů v sedimentu na rozhraní křída/terciér z lokality Woodside Creek, kde byl zaznamenán nález Heymannem a kol. (1994).



Obr. 11: TOF spektrum kladných iontů fullerenů z fulguritu z lokality Sheep Mountain v Coloradu s píky C_{60}^+ (720 amu), C_{70}^+ (840 amu) a dalšími fullereny (Daly a kol., 1993).



Obr. 12: Spektrum frakce C_{60}^+ fulguritu z Sheep Mountain získané EI-MS spektrometrií. Izotopický poměr $^{12}C_{60}^+$, $^{12}C_{59} \ ^{13}C^+$ a $^{12}C_{58} \ ^{13}C_2^+$ je 1:0,88:0,14. Vzhledem k malému množství vzorku však nemusí být přesný (Daly a kol., 1993).

Stejnou metodou (EI-MS) zaznamenali Jehlička a kol. (2003) přítomnost C_{60} v pevném bitumenu z lokality Mítov, ČR a byl tak potvrzen výsledek měření metodou HPLC. Metoda však není příliš vhodná pro určení poměru C_{60}/C_{70} ve vzorku, jelikož desorpce C_{60} probíhá při tomto způsobu ionizace snadněji, než desorpce C_{70} (Cleempoel a kol., 1996). Poměr C_{60}/C_{70} lze spolehlivě určit metodou FAB-MS (fast atom bombardment – ionizace urychlenými atomy). Vhodnější pro detekci C_{60} a C_{70} touto metodou se zdá být využití spekter záporných iontů, kdy dochází k lepšímu poměru signál/šum a také poměr C_{60}/C_{70} se více blíží měření HPLC (Cleempoel a kol., 1996).

3.2.2. Vysokoučinná kapalinová chromatografie – HPLC

Vysokoučinná (nebo také vysokotlaká) kapalinová chromatografie byla užita v řadě případů, kdy byly detekovány fullereny v přírodních geologických materiálech (např. Heymann a kol., 1994; Jehlička a kol., 2003). Jedná se o nedestruktivní metodu, snadno kalibrovatelnou synteticky vyrobeným standardem a lze jí provádět při pokojové teplotě. Klíčovými pro analýzu fullerenů metodou HPLC je instrumentální uspořádání – především volba stacionární a mobilní fáze, detektoru pro analýzu a teplota, při které separace probíhá. Problémem u toluenových extraktů může být vysoký obsah uhlovodíků s podobnými retenčními časy jako fullereny. Vyšší obsahy PAHs a NSO složek v extraktech geologických vzorků (např. černé uhlí) mohou způsobit překrytí píky C_{60} při nízké koncentraci fullerenu (Jehlička a kol., 2005b). Heymann a kol. (1995) doporučuje presepaci organických látek u geologických materiálů. Zvolení optimálních podmínek však závisí na složení vzorku a záměru experimentu. Obecně hlavním důvodem studia různých podmínek HPLC pro separaci fullerenů je jejich syntetická příprava, kdy je potřeba efektivní separace a velkých výtěžků z extraktu fullerenovými sazí.

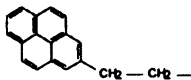
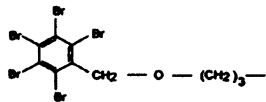
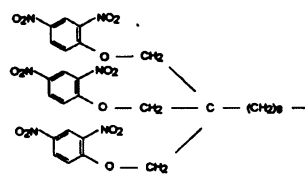
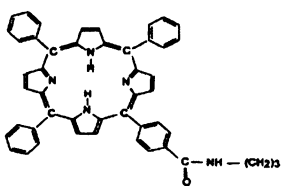
Vzhledem k podobnosti fullerenů a polycyklických aromatických uhlovodíků byly metody kapalinové chromatografie vyvinuté právě pro PAHs použity také pro separaci a analýzu fullerenů. Fullereny C_{60} a C_{70} lze separovat na alumině (Hare a kol., 1990, Bethune a kol. 1991). Tato metoda je však časově náročná, vyžaduje použití velkých objemů rozpouštědla a navíc lze použít pouze slabé rozpouštědlo (např. *n*-hexan). Proto je možno separovat pouze relativně malé množství C_{60} za jednotku času (Furton, 1993).

Jako stacionární fáze bývá často užíván silikagel s chemicky vázaným uhlovodíkovým ligandem, nejčastěji octadecylsilica – ODS (Xie a kol., 2001; Treubig a Brown, 2002; Jehlička a kol., 2003 a další), s navázanými řetězci C_{18} , které mohou být dvojího typu - izolované řetězce C_{18} – monomery, nebo polymery s navzájem propojenými řetězci C_{18} . Důvodem rozšířenosti této stacionární fáze je její dobrá komerční dostupnost a relativně snadná optimalizace separace (Ohta a kol., 2000). Separace pomocí ODS vyžaduje použití směsi některého ze silných rozpouštědel – toluenu, chlorbenzenu nebo 1-methylnaftalenu a látek s nízkou schopností rozpouštět fullereny, např. tetrahydrofuranu, methanolu, acetonitrilu nebo dichlormethanu jako mobilní fáze. Volba pouze silného rozpouštědla není vhodná, jelikož v takovém případě dochází k nízkému rozlišení jednotlivých komponent. Se zvyšujícím se podílem silného rozpouštědla klesá čas separace, píky jsou užší, ale rozlišení, jak již bylo řečeno, klesá. Optimální poměr ředění mobilní fáze závisí na konkrétním vzorku (Treubig a Brown, 2002; Heymann a kol., 1995, Xie a kol., 2001). Na obr. 14 je vyobrazen chromatogram extraktu pevného bitumenu (Mítov, ČR), kde byl za použití ODS separován a detekován fulleren C_{60} . Jako mobilní fáze byla použita směs toluen/methanol v poměru 1:1.

Xie a kol. (2001) provedli separaci a současně detekci více než 80 perchlorovaných polyaromatických uhlovodíků – PCPAHs a fullerenů C_{60} a C_{70} . Pro separaci byla použita metoda HPLC (ODS kolona) s UV detektorem a současnou detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací při

atmosferickém tlaku (APCI-MS). Pro rozlišení takového množství komponent bylo zapotřebí použití slabého eluentu. Nastavení vhodných podmínek bylo provedeno postupným přidáváním podílu cyklohexanu (do 35 %) ke směsi methanol/ethanol (5/1) během HPLC procesu.

Ohta a kol. (2000) prokázal také vhodnost použití stacionární fáze s navázanými řetězci C_{30} v monomerním uspořádání, kdy dochází k lepšímu rozlišení jednotlivých fullerenu C_{60} , C_{70} , C_{76} , C_{78} , C_{82} , C_{84} než v případě C_{18} při shodných podmínkách (toluen/cyklohexan v poměru 60/40 jako mobilní fáze, teplota kolony 60°C , rychlost průtoku 1 ml/min). Retenční faktor uvedených molekul při užití C_{30} je maximální při 20°C , zatímco u C_{18} je to okolo -20°C . Ukazuje se, že delší řetězec C_{30} lépe interaguje s molekulou fullerenu při pokojové teplotě. Pro separaci C_{60} a C_{70} je optimální poměr ředění mobilní fáze toluen/acetonitril 90/10, zatímco pro vyšší fullereny (do C_{86}) je lepší poměr 80/20. Při použití fáze C_{30} a *n*-hexanu jako mobilní fáze se projevil se také velký rozdíl v závislosti retence fullerenu a PAHs (konkrétně pyrenu, trifenylnu a chryseny) na teplotě, kdy s klesající teplotou (pod 20°C) retence C_{60} a C_{70} výrazně klesá, zatímco u PAHs naopak roste. Vysoký retenční faktor C_{60} a C_{70} při 20°C a nízký u PAHs znamená dobré oddělení těchto frakcí, separace jednotlivých PAHs za dané teploty však není možná.

Stacionární fáze:	Řetězec navázaný na povrch silikagelu:
C_{18}	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{17} -$
PYE	
PBB	
Buckyclutcher	
Tetraphenylporphyrin	

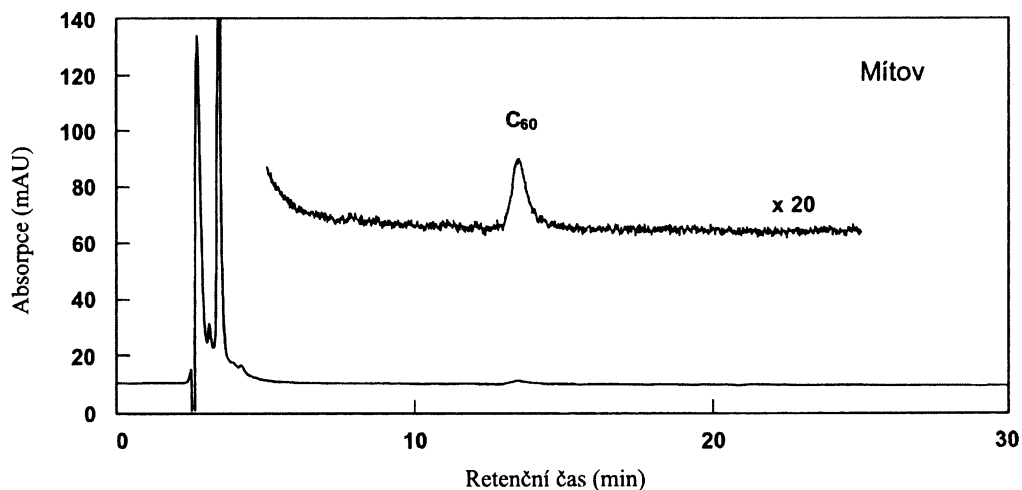
Obr. 13: Přehled řetězců, vázaných na silikagel, které jsou užívány jako stacionární fáze při separaci fullerenu vysokoučinnou kapalinovou chromatografií. Upraveno podle Kele a kol. (1997)

Cabrera a kol. (1993) testovali použití silikagelu s chemicky vázaným γ -cyklodextrinem (cyklický oligosacharid) jako stacionární fáze pro separaci C_{60} a C_{70} . Při volbě *n*-hexanu jako mobilní fáze se ukazuje výrazný rozdíl v době zadržení těchto dvou molekul – u C_{70} je o 40 min delší (průtoková rychlost 1 ml/min). Tato doba se zkracuje s přidáním podílu toluenu, přičemž optimální se zdá být poměr toluen/*n*-hexan 30/70, kdy je čas separace C_{60} a C_{70} výrazně kratší a rozlišení těchto komponent je stále dostačující.

Pro separaci vyšších koncentrací (např. pro efektivnější syntetickou přípravu fullerenu) je zapotřebí použití silného rozpouštědla zároveň jako eluentu. To však, z výše zmíněných důvodů, není možné u stacionárních fází s navázaným alkylovým řetězcem. Takovými fázemi, které toto dovolují jsou např. komerčně vyráběné Buckyclutcher (3,3,3-tri-dinitrobenzoyl-propyl silikagel) či PYE (imobilizovaný 2-(1-pyrenyl)ethyl-silyl silikagel), které umožňují použití čistého toluenu. Jiné, jako imobilizovaný tetrafenylporfyrin vázaný na silikagel lze použít s ještě silnějšími rozpouštědly - většinou se jedná o směs toluen/1-metylnaftalen 1/1 (Kele a kol., 1997). Příklady řetězců, vázaných na silikagel jsou uvedeny v obr. 13.

Použití čistého toluenu jako eluentu umožňuje rovněž kolona Cosmosil Buckyprep, která je tudíž také vhodná pro preparativní účely. Jedná se o silikagel s navázaným řetězcem 3-(1-pyrenyl)propyl. Tuto kolonu použili např. Jehlička a kol. (2005b) při chromatografickém stanovení C_{60} v extraktech, kdy byly testovány různé extrakční metody pro extrakci fullerenu (viz. dále). Kolona Cosmosil Buckyprep byla zároveň použita při stanovení koncentrace C_{60} metodou HPLC v rámci této práce.

Pro detekci fullerenu při analýze HPLC bývá nejčastěji užíváno detektorů absorpčního spektra v oblasti ultrafialového až viditelného světla HPLC-UV-VIS (PDA) (Heymann a kol., 1995) a hmotnostní spektroskopie HPLC-MS (Richter a kol., 1996). Treubig a Brown (2002) úspěšně použili detekci infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací – HPLC-FT-IR.



Obr. 14: Chromatografický záznam analýzy extraktu (CS_2) pevného bitumenu z Mítova. Vložený chromatogram se zřetelným píkem C_{60} je 20 x zvětšený úsek spodního záznamu. (převzato z Jehlička a kol., 2003).

4. Přehled extrakčních metod pro extrakci fullerenu

Pro extrakci fullerenu z pevné fáze bývá v naprosté většině případů užívána rozpouštěcí extrakce, další možností je extrakce sublimační. Rozpouštěcí extrakce tuhá fáze - kapalina (SLE, solid – liquid extraction) je proces převedení požadované látky do roztoku pomocí vhodného rozpouštědla, který je často používán pro extrakci fullerenu z fullerennových sazí, kde tvoří C₆₀ a C₇₀ ~15 hmot.% v poměru zhruba 85/15, vyšší fullereny jsou přítomny jen v nepatrném množství (Weston a Murthy, 1996; Ajie a kol., 1990). Kvantitativní extrakce fullerenu z geologických materiálů se ukazuje být komplikovanější. Jejich koncentrace v horninách je mnohem nižší, pohybuje se v řádech ppb – ppm.

V případě vzorků s nízkým podílem uhlíku bývá vzorek před vlastní extrakcí nejprve demineralizován, aby došlo k zakoncentrování organické hmoty, potažmo případných fullerenu ve vzorku. Minerální podíl bývá nejčastěji rozložen směsí HCl/HF (Heymann a kol., 1994, 1996). Možný vliv tohoto procesu na výtěžek C₆₀ je dále diskutován.

Autoři Jehlička a kol. (2005b) testovali tři různé extrakční metody – ultrazvukovou extrakci, Soxtec a zrychlenou extrakci rozpouštědly. K přírodním geologickým materiálům (černé uhlí, grafit, šungit a křemen) bylo přidáno známé množství standardu C₆₀ v různých koncentracích a takto připravené vzorky byly následně extrahovány zmíněnými metodami. Jak vyplývá z práce, s klesající koncentrací C₆₀ v hornině klesá výtěžek extrakce a při hodnotách pod 10 ppm nelze při daných podmínkách očekávat kvantitativní převedení C₆₀ do roztoku, získané výsledky jsou shrnuty v tab. 4. Řada negativních výsledků při hledání fullerenu v geologickém prostředí může být tedy způsobena neefektivní extrakcí. Také lze předpokládat, že koncentrace fullerenu, detekované v dosud publikovaných nálezech, neodrážejí skutečné hodnoty. Definování optimálních podmínek extrakce fullerenu se tedy jeví jako velmi důležitý krok.

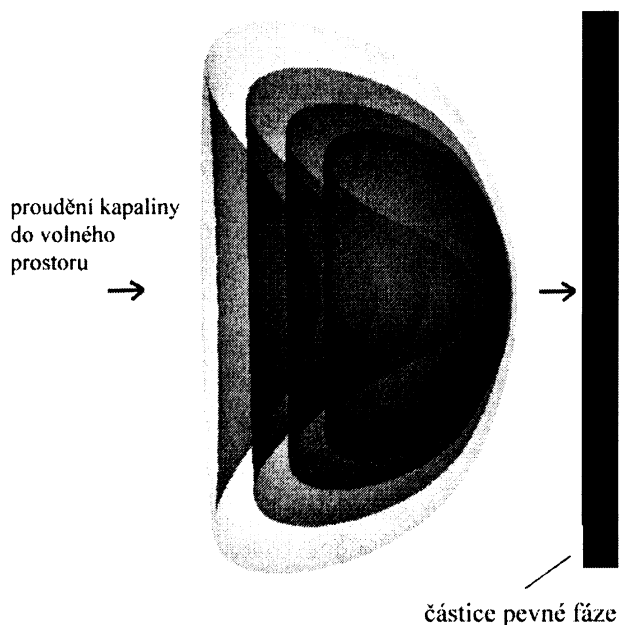
	Ultrazvuková extrakce		Soxtec		Dionex	
	koncentrace C ₆₀ (ppm) přidaná ke vzorku	výtěžek C ₆₀ (%)	koncentrace C ₆₀ (ppm) přidaná ke vzorku	výtěžek C ₆₀ (%)	koncentrace C ₆₀ (ppm) přidaná ke vzorku	výtěžek C ₆₀ (%)
Černé uhlí	0,1	3,0%	0,1	(-)	0,1	(-)
	0,9	4,2%	0,45	(-)	0,45	(-)
Grafit	0,1	(-)	0,1	6,0%	0,1	(-)
	0,9	1,6%	0,45	5,7%	0,45	2,3%
	10	9,0%	10	72%		
	100	23%	100	88%		
Šungit	0,1	(-)	0,1	(-)	0,1	(-)
	0,9	1,2%	0,45	4,6%	0,45	2,7%
Křemen	0,1	4,6%	0,1	(-)	0,1	7,4%
	0,9	1,2%	0,9	2,2%	0,9	0,3%
	10	36%	10	114%		
	100	67%	100	99%		

Tab. 4: Srovnání výtěžků C₆₀ při použití tří rozdílných extrakčních technik a různých koncentrací přidaného C₆₀. Není-li hodnota uvedena, extrakce nebyla provedena, (-) znamená, že koncentrace C₆₀ v extraktu je pod detekčním limitem 0,02 ppm (upraveno podle Jehličky a kol., 2005b).

4.1. Ultrazvuková extrakce

Ultrazvuk je akustické vlnění, jehož frekvence je větší než 16 kHz, pohybuje se tedy nad pro člověka slyšitelnou oblastí. Ultrazvuková extrakce obecně využívá jevu zvaného kavitace, který vzniká působením ultrazvuku na kapalinu - nejčastěji vodu, ale i jiná rozpouštědla. Jedná se o jev, jehož vznik je ovlivňován řadou parametrů (vlastnosti kapaliny, přítomnost pevné fáze, teplota aj.) a který má mnoho fyzikálních aspektů. Zde je popsán pouze základní princip tohoto jevu a možné procesy s ním spojené, které by mohly mít vliv na extrakci fullerenu z pevné fáze.

Kavitace se dá rozdělit do tří hlavních kroků – nukleace (vytvoření bubliny v kapalině), růst bubliny a implozivní kolaps bubliny (Suslick a kol., 1990). Působením ultrazvuku jsou v kapalině narušovány vazby mezi molekulami, tím dochází ke vzniku plynné fáze - mikrobublin. Relativně chladná kapalná fáze v okolí bubliny následně způsobuje kondenzaci plynné fáze a tedy kolaps bubliny. Kapalina obklopující bublinu má tendenci vyplnit prázdňý prostor, který vznikne po zkolapsování plynné fáze – v centru prázdňého prostoru tak dojde ke srážce molekul kapalné fáze a tím ke vzniku rázové vlny, která se šíří všemi směry (<http://home.att.net/~Berliner-Ultrasonics/u-s.html>). Jelikož komprese plynu při kolapsu bubliny je rychlejší, než přenos tepla do jejího okolí, dochází k adiabatickému ohřevu plynu v bublině a vzniku tzv. „hot-spot“ (Suslick a kol., 1990). Jedná se o krátkodobý jev, kdy dochází k lokálnímu zvýšení teploty na zhruba 5000 °C (v závislosti na složení plynu) a tlaku na ~1000 atmosfér po dobu kratší než μs . Vlivem chladné kapaliny, obklopující bublinu následně dochází k jejímu rychlému ochlazení. Působení „hot-spots“ může výrazně zvýšit reaktivitu takto termálně postižených molekul (<http://www.scs.uiuc.edu/suslick/britannica.html>). Kavitace tedy obecně pomáhá urychlovat chemické a fyzikální reakce jako je rozpouštění pevných látek v roztoku, extrakce a další.



Obr. 15: Schéma vzniku microjettingu.

Na vznik kavitace má vliv řada faktorů. Rychlost expanze a komprese bublin je ovlivňována vlastnostmi rozpouštědla – viskozita, hustota a povrchové napětí. Vznik kavitace je vázán na diskontinuity přítomné v kapalném prostředí (bubliny, póry pevné fáze vyplněné plynem), kde jsou vazby mezi sousedními částicemi nejslabší (Suslick a kol., 1990). Částice pevné fáze přítomné

v suspenzi tak z hlediska vzniku kavitace působí pozitivně. Charakter kolapsu bubliny je též značně odlišný, probíhá-li v homogenním roztoku, nebo v blízkosti částice pevné fáze - vznikne-li bublina v bezprostřední blízkosti takové částice, dochází k jejímu asymetrickému kolapsu. Vyplnění prázdného prostoru při kolapsu bubliny probíhá rychleji ze směru, kde není přítomná pevná částice – vznikne tak proud kapaliny o rychlosti až 100 m/s, který vyvine tlak na částici pevné fáze (Suslick a kol., 1990) - viz obr. 15. Tento proudový efekt (microjetting, microjet impact) může způsobit rozbití částice pevné fáze, jeho vznik je však závislý na velikosti částic a současně frekvenci ultrazvuku (Neppiras, 1980). Při frekvenci 20 kHz a velikosti částic menší než ~ 200 μm již ke vzniku microjettingu nedochází a uplatňuje se více vliv šokových vln při homogenní kavitaci, které způsobují vysokorychlostní srážky částic pevné fáze (Suslick a kol., 1990). Během ultrazvukové extrakce tedy může docházet ke zmenšování zrn horniny, čímž mohou být ovlivněny sorpční charakteristiky uhlí - to může být při extrakci fullerenů významný jev.

Ultrazvukové vlnění je generováno pomocí piezoelektrického materiálu, který se smršťuje a rozpíná působením vysokofrekvenčního střídavého elektrického proudu. V sonochemii se užívá aparátu, kdy je trubice s ultrazvukovým zdrojem ponořena do reakčního roztoku. Takové uspořádání umožňuje relativně přesnou kontrolu teploty, okolní atmosféry a polohy ultrazvukového zdroje. Pro ultrazvukové čištění i extrakci bývá používána ultrazvuková lázeň, kdy je piezoelektrický materiál připevněn ke stěně kovové vany (<http://www.scs.uiuc.edu/suslick/britannica.html>), která je napuštěna vodou a kde je umístěna nádoba se vzorkem. Při tomto uspořádání nelze přesně definovat intenzitu ultrazvuku, která se v rámci prostoru ultrazvukové vany mění (Klíma, ústní sdělení 2006).

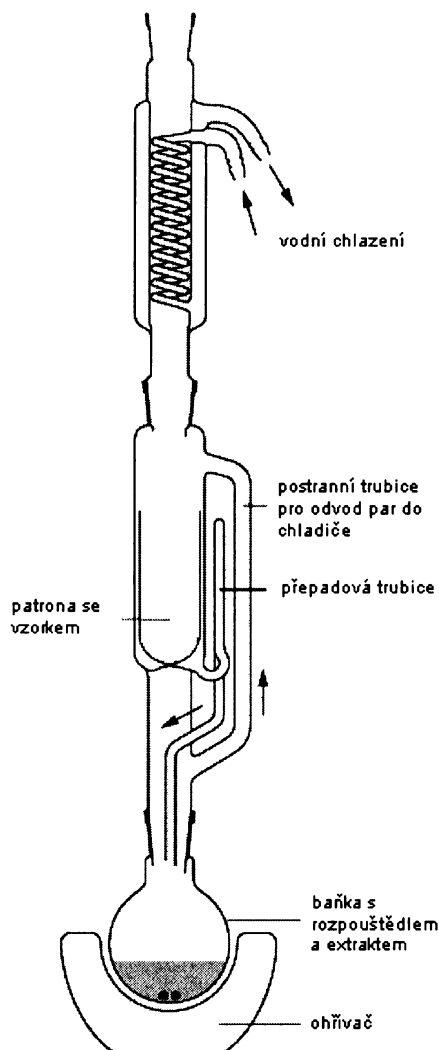
Ultrazvuková extrakce je běžně používanou metodou při extrakci fullerenů z fullerenových sazí při jejich syntetické přípravě (např. Cleempoel a kol., 1996). Ultrazvukovou extrakci fullerenů z přírodních materiálů použili např. Heymann a kol. (1996) při identifikaci fullerenů v toluenových extraktech sedimentů na hranici křída/terciér z lokalit Caravaca (Španělsko), Sumbar a Malyi Balkhan (Turkmenistan) a Stevns Klint (Dánsko). Demineralizované i nedemineralizované vzorky byly sonikovány po dobu tří hodin při teplotě 40 °C. Jehlička a kol. (2003) použili taktéž ultrazvukovou extrakci (v CS₂) u vzorků pevného bitumenu z Mítova (ČR), kdy byly vzorky ultrazvukovány po dobu 1 hodiny. Srovnání experimentální ultrazvukové extrakce různých materiálů s dalšími extrakčními metodami je v tab. 4 (Jehlička a kol. 2005b).

4.2. Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je tradiční metodou kontinuální extrakce tuhá látka – kapalina, používanou pro extrakci PAHs, tuků v potravinářství atd. Je to rovněž rozšířená metoda pro izolaci fullerenů z fullerenových sazí a geologických materiálů.

Princip metody je následující:

Vzorek navážený do papírové patrony válcového tvaru s kulatým dnem se vkládá do střední části aparátu. Baňka s rozpouštědlem je zahřívána tak, aby došlo k varu – páry rozpouštědla pak stoupají postraní trubici do chladiče, kde kondenzují a skapávají do patrony se vzorkem. Hladina rozpouštědla ve střední části přístroje postupně stoupá, až úroveň hladiny v přepadové trubičce dosáhne maxima a rozpouštědlo obsahující extrahovanou látku se tak vrací zpět do baňky. Po ukončení extrakce se extrakt v baňce zakoncentruje vydestilováním rozpouštědla. Schéma Soxhletova extraktoru je znázorněno na následujícím obrázku.



Obr. 16: Schematické znázornění Soxhletova extraktoru.

Popsaný proces je časově náročný. Daly a kol. (1993) touto metodou extrahovali vzorek fulguritu (Sheep Mountain, Colorado) po dobu 24 h. Analýza extraktu pomocí TOF-MS ukázala přítomnost C_{60} a C_{70} . Rovněž Becker a kol. (1994b) a Becker a Bunch (1997) použili Soxhlet pro extrakci materiálu impaktové struktury Sudbury a vzorků meteoritu Allende. V obou případech byla autory potvrzena přítomnost C_{60} a C_{70} .

4.2.1. Soxtec

Soxtec funguje na principu Soxhletovy extrakce, je však časově úspornější a vyžaduje použití menšího objemu rozpouštědla. Celý proces se dá rozdělit do tří kroků:

- Extrakční patrona se vzorkem je ponořena přímo v nádobě s rozpouštědlem (nejčastěji skleněná nebo kovová kádinka), která je zahřívána tak, aby došlo k varu rozpouštědla – páry pak stoupají do chladiče, kde kondenzují a kondenzát stéká do patrony. Tento proces probíhá kontinuálně, extrakt je tudíž neustále obohacován vyextrahovanými látkami ze vzorku.

- Ve druhé fázi je patrona vytažena nad hladinu rozpouštědla, které stále vře a zkondenzované stéká do extrakční patrony se vzorkem – ten je tak promýván rozpouštědlem, které poté skapává zpět do kádinky.
- Nakonec je extrakt v kádince zakoncentrován tak, že odpařené rozpouštědlo kondenzující v chladiči je zadrženo v horní části aparátu nad patronou se vzorkem. Po dosažení požadovaného objemu extraktu je kádinka vyjmuta ze zařízení.

Komerčně vyráběné systémy Soxtec umožňují současnou extrakci dvou i více vzorků najednou, přičemž pro extrakci vzorku je zapotřebí několikanásobně kratšího času než u Soxhletovy extrakce.

Výtěžky C_{60} u vzorků grafitu, šungitu a křemene s přidaným standardem, publikované Jehličkou et al. (2005b), které byly extrahovány na Soxtecu jsou obecně vyšší, než u téže vzorků extrahovaných ultrazvukem či nadkritickou fluidní extrakcí. Jinak je tomu v případě černého uhlí, kde nebylo možné stanovit C_{60} v extraktu ze Soxtecu při koncentracích přidaného standardu 0,1 a 0,9 ppm. Malý pik C_{60} mohl být zakryt výrazným píkem, patřícím zřejmě směsi PAHs a NSO, jejichž obsah v černém uhlí je ve srovnání s ostatními jmenovanými materiály vysoký. Dekompozice molekuly fullerenu jako důsledek interakce s uhlovodíky přítomnými v extraktu je také jedna z možných příčin nízkých výtěžků. Proto se pro materiál, jako je černé uhlí, jeví lepší variantou ultrazvuková extrakce, kterou je vyextrahováno méně organických látek než u Soxtecu, resp. Soxhletu.

4.3. Zrychlená extrakce rozpouštědly

Při zrychlené extrakci rozpouštědly (ASE - accelerated solvent extraction) se používají stejná rozpouštědla jako při Soxhletově extrakci. Princip metody spočívá v extrakci pevné látky rozpouštědlem za vyšší teploty a tlaku, kdy za vyšších teplot roste rozpustnost látek v organických rozpouštědlech, vyšší tlak pak udržuje rozpouštědlo v kapalném stavu. Extrakční činidlo je pod tlakem přiváděno do extrakční cely (nerezová cela uzavřená z obou stran fritami, taktéž z nerezové oceli), kde je umístěn vzorek. Extrakt se pak jímá např. do zkumavky. Výhodou této metody oproti soxhletu je nízká spotřeba rozpouštědla a časová nenáročnost.

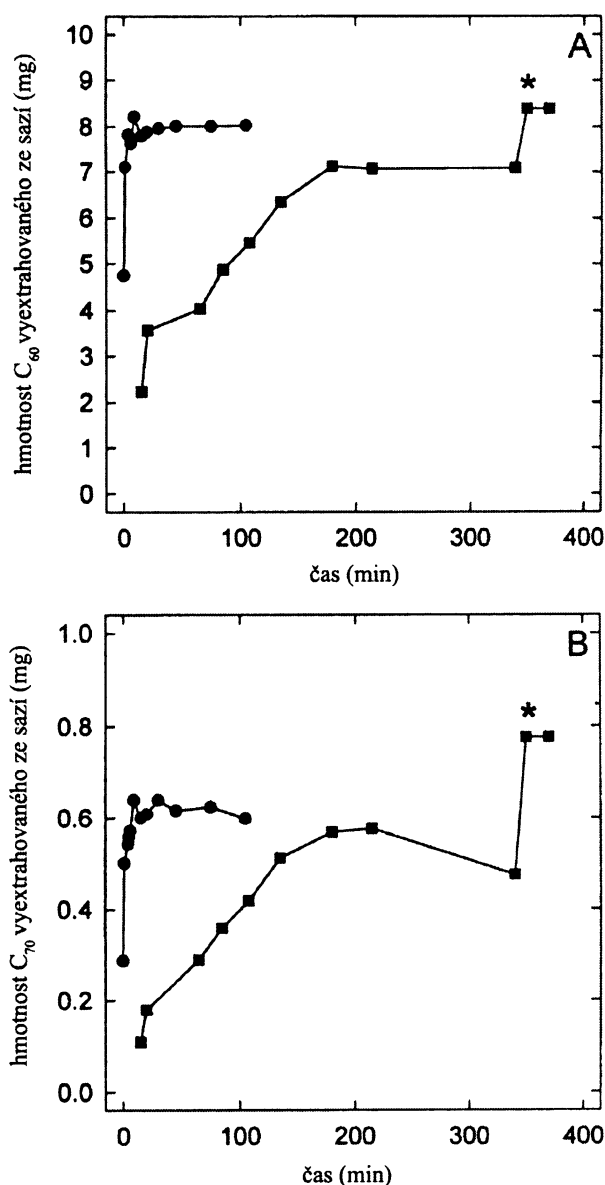
Jak je vysvětleno v kapitole 2.3., chování fullerenů je z hlediska rozpustnosti anomální - rozpustnost C_{60} je v běžně používaných rozpouštědlech maximální při teplotě ~ 280 K, což může při použití metody ASE hrát negativní roli. Naopak pozitivní přínosem těchto teplotně tlakových podmínek pro extrakci fullerenů může být lepší přístup rozpouštědla k pórům pevné fáze. Vhodnost této extrakční techniky pro extrakci fullerenů testovali Jehlička a kol. (2005b). Pro extrakci byl použit systém Dionex ASE 100. Jako rozpouštědlo byl použit toluen, zahřátý na 180 °C, který byl vhněn do cely se vzorkem pomocí N_2 dokud tlak nepřesáhl hodnotu 1300 psi (~ 9 Mpa). Tyto podmínky trvaly podobu 8 minut. Výsledkem extrakce jsou většinou nižší výtěžky ve srovnání s hodnotami dosaženými extrakcí na Soxtecu (u šungitu a grafitu jsou cca poloviční – viz tab. 4). V extraktu z černého uhlí, ke kterému byl standard C_{60} přidán v koncentracích 0,1 a 0,45 ppm, nebyl, stejně jako v extraktu ze Soxtecu, naměřen C_{60} v koncentracích vyšších, než byl detekční limit 0,02 ppm.

4.4. Mikrovlnná extrakce

Mikrovlnná extrakce (MAE – microwave assisted extraction) je používána pro řadu organických i anorganických látek. Její výhodou oproti jiným metodám je kratší čas, potřebný pro průběh extrakce. Použití této metody je komplikováno elektrickými výboji, které vznikají při interakci mikrovln s

elektricky vodivými materiály. Z tohoto důvodu je nutné použít malé množství vzorku v jedné kyvetě. Jako maximální hodnota, kdy nedochází k výbojům, je uváděno množství 0,2 g při extrakci C_{60} a C_{70} z fullerenových sazí (Youngman a Green, 1999).

Jelikož mikrovlnné záření není absorbováno nepolárními rozpouštědly, musí být přidán podíl polárního rozpouštědla, často bývá používán aceton, acetonitril, nebo voda (Onuska a Terry, 1995). Na obr. 17 je zobrazeno srovnání výtěžků extrakce fullerenových sazí pomocí MAE při 130°C a Soxhletově extrakci probíhající při teplotě 110°C (extrakty byly analyzovány metodou HPLC). V obou případech bylo použito 0,20 g vzorku. Výtěžek mikrovlnné extrakce byl po 4 min >7,8 mg C_{60} a >0,54 mg C_{70} . Za 30 min vzrostl na 8,0 mg C_{60} a 0,64 mg C_{70} . V čase delším než 30 min již k dalšímu zvyšování výtěžku nedocházelo. Naproti tomu Soxhletova extrakce po dobu 340 min přinesla výtěžek 7,1 mg C_{60} a 0,58 mg C_{70} .



Obr. 17: Srovnání výtěžků C_{60} (nahore) a C_{70} získaných Soxhletovou extrakcí (■) a pomocí MAE (●) při různých časech (Youngman a Green, 1999).

Materiál byl po Soxhletově extrakci reextrahován metodou MAE po dobu 20 min při 130°C, přičemž bylo vyextrahováno dalších 1,3 mg C₆₀ a 0,30 mg C₇₀. Tento výsledek autoři přičítají vyšší teplotě, dosahované při MAE. Pro všechny uvedené experimenty byla použita směs rozpouštědel toluen - acetonitril v poměru 95:5, a to pro obě metody (Youngman a Green, 1999).

Mikrovlnohou extrakci tedy lze považovat za metodu použitelnou pro extrakci C₆₀ a C₇₀ z fullerennových sazí, její efektivita je srovnatelná se Soxhletovou extrakcí. Při použití více extrakčních nádob najednou může být i časově úspornější.

4.5. Ostatní metody extrakce fullerenů

Heymann a kol. (1998) připravil extrakty sedimentů (rozhraní K/T) z lokality Brazos River (Texas, USA) pouhým mícháním namletých vzorků o navážkách 60 – 130 g v 500 ml toluenu. Míchání probíhalo přes noc, v extraktech byl následně detekován fulleren C₆₀ pomocí HPLC. Frank (2005) testoval tuto extrakční techniku stejným způsobem jako metody v tab. 4. V případě černého uhlí a šungitu nedošlo k vyextrahování koncentrace C₆₀ která by byla nad detekčním limitem 0,02 ppm. Z grafitu bylo vyextrahováno 0,6 % z iniciální koncentrace 0,9 ppm a v případě křemene jako pevné fáze bylo vyextrahováno 7 % a 2 % při počátečních koncentracích C₆₀ 0,1 resp. 0,9 ppm. Tyto hodnoty jsou překvapivě větší, než u většiny výsledků u jiných studovaných metod.

Fulereny (C₆₀ a C₇₀) lze izolovat z fullerennových sazí sublimací ve vakuu při teplotě kolem 400 °C (Krätschmer a kol., 1990). Podobný postup použili De Vries a kol. (1993) u demineralizovaných vzorků meteoritů Allende a Murchinson, kdy byly izolovány sublimační frakce obdržené při teplotách 300, 450 a 600 °C, fulereny detekovány nebyly.

5. Metodika

Metodika UZ extrakce je zároveň předmětem experimentů v této práci - metodické postupy se proto průběžně měnily. Nejdříve jsou tedy shrnuty podmínky shodné pro všechny experimenty (kap. 5.1) a následně jsou popsány postupy jednotlivých pokusů, sledujících dílčí parametry ultrazvukové extrakce, případně metodické odlišnosti, které se liší od postupů v kap 5.1.

Experimenty byly provedeny ve třech replikacích, finální pokus, kde byly zahrnuty nejlepší zjištěné podmínky byl proveden v pěti replikacích. Výsledné hodnoty představují mediány získaných výsledků (medián bývá užíván jako střední hodnota v případě, že počet opakovaných analýz je menší než 7 – viz Opekar a kol., 2002). Byl vypočítán interval spolehlivosti, který je uveden v tabulkách výsledků a vyobrazen v grafech. Podezřelé hodnoty byly prověřeny Q-testem podle Deana a Dixona a případně vyloučeny jako odlehlé.

Tab. 5: Přehled prováděných experimentů.

zkoumané podmínky:

vliv filtrace	<ul style="list-style-type: none">- čisté filtry- PTFE 0,45 μm x skleněné 1μm- zanesené uhlím extrahovaným- zanesené uhlím neextrahovaným- filtrace extraktu
vliv použité ultrazvukové lázně	- Tesla (50 kHz, 75 W) x Bandelin Sonorex (35 kHz, 160/320W)
vliv doby ultrazvukace	- 15 min, 30 min, 90 min, 3 hod, 6 hod, 12 hod, 24 hod, 72 hod
vliv opakované extrakce	- 3 hod - 3 hod - 3 hod - 3 hod
vliv teploty vzorku při ultrazvukaci	- 290-310 K x 280-285 K (30 min, 3 hod)
vliv preextrakce č. uhlí	- pentanem x toluenem x sonikované uhlí v toluenu x nepreextrahované uhlí
vliv N ₂	<ul style="list-style-type: none">- atmosféra N₂ nad vzorkem během ultrazvukace- probublávání N₂ do vzorku během ultrazvukace
vliv demineralizace č. uhlí	- HCl/HF
vliv centrifugace vzorku po ultrazvukaci	
sledování koncentrace C ₆₀ pouze v roztoku	<ul style="list-style-type: none">- roztok C₆₀, zahřívání na 50°C, 3 hod.- roztok C₆₀, zahřívání na 80°C, 3 hod.- roztok C₆₀, ultrazvukace 3 hod (Tesla)- roztok C₆₀ + frakce nasycených uhlovodíků, ultrazvukace 3 hod.(Tesla)- roztok C₆₀ + frakce nasycených uhlovodíků, ultrazvukace 3 hod.(B. Sonorex)- roztok C₆₀ + toluenový extrakt z č. uhlí, ultrazvukace 3 hod.(B. Sonorex)
nejlepší podmínky	<ul style="list-style-type: none">- ultrazvukace v lázni Tesla 30 min, při 280-285K, č. uhlí preextrahováno pentanem, filtrace PTFE 0,45 μm- srovnání s dobou ultrazvukace 90 min, kdy ostatní podmínky byly shodné

5.1. Obecné metodické postupy a podmínky

5.1.1. Použité chemikálie

Jako rozpouštědlo pro ultrazvukovou extrakci a preextrakci černého uhlí na Soxtecu byl použit toluen pro HPLC analýzu (Merck, LiChrosolv). Pro preextrakci uhlí na Soxtecu byl též použit pentan pro organickou stopovou analýzu (Merck, UniSolv) Zásobní roztok standardu C₆₀ o koncentraci 10 ppm byl připraven rozpuštěním 5 mg práškového C₆₀ (99,5 C₆₀, Xillion, Germany) v 500 ml toluenu (pro HPLC, Merck).

5.1.2. Černé uhlí

Pro všechny experimenty, kde byla přítomna pevná fáze, bylo použito černé uhlí (Kladno). Uhlí bylo namleté na analytickou jemnost. Před provedením experimentu bylo vysušeno při 40 °C.

Černé uhlí (Kladno) bylo definováno jako černouhelný hemityp s hlavní macerátovou skupinou vitrinitu (68 obj.%), kterou tvoří především samostatné polohy vitritu. Obsah liptinitu je 8,5 obj.% a inertinitu 22,5 obj. % (Urban, 1998). Elementární a fyzikální charakteristiky použitého černého uhlí jsou shrnuty v tab. 6, petrografické charakteristiky pak v tab. 7.

C (%)	76,1	S _{BET} (m ² g ⁻¹)	54
H (%)	5,3	S _{micro} (m ² g ⁻¹)	196
N (%)	1,1	S _{meso, macro} (m ² g ⁻¹)	20,1
O+S (%)	17,5	V _{macro} (cm ³ g ⁻¹)	0,036
popeloviny (%)	12,5	V _{meso} (cm ³ g ⁻¹)	0,069
alifatické uhlovodíky (ppm)	160	V _{micro} (cm ³ g ⁻¹)	0,074
aromatické uhlovodíky (ppm)	48		

Tab. 6: Charakteristiky černého uhlí (Kladno), použitého pro experimenty – elementární složení (odpovídá vysušenému uhlí bez přítomnosti popelovin, v případě O+S jde o hodnotu vypočítanou), obsah popelovin, alifatických a aromatických uhlovodíků. S_{BET} = specifický povrch odvozený z adsorpční izotermy N₂; S_{micro} = povrch mikropórů; S_{meso, macro} = povrch mezo- a makropórů; V_{macro} = objem makropórů; V_{meso} = objem mezopórů; V_{micro} = objem mikropórů. (Jehlička a kol., 2005).

R ₀ (%)	0,66
s	0,07
vitrinit (obj. %)	68,0
liptinit (obj. %)	8,5
inertinit (obj. %)	22,5

Tab. 7: Petrografická charakteristika černého uhlí z Kladna R₀ = odraznost vitrinitu, (Urban, 1998)

V tab. 8 jsou vyobrazeny výsledky analýzy alifatické frakce, v tab. 9 potom výsledky analýzy PAHs. Analýzy byly provedené plynovou chromatografií (Osterrothová – Tlustá, 1999). Analýza alifatické frakce metodou GC ukazuje, že normální alkany jsou zastoupeny ve zvýšených koncentracích v rozsahu n-C10 až n-C38. V případě aromatické frakce jsou dominantními složkami tetracyklické a

pentacyklické uhlovodíky s krátkými a středně dlouhými postranními řetězci. Hojně zastoupeny jsou rovněž čistě aromatické molekuly naftalen až fluoranten (Osterrothová – Tlustá, 1999).

uhlovodík:	mg/kg:	uhlovodík:	mg/kg:
n-C10	2,399	n-C21	6,137
n-C11	3,140	n-C22	4,563
n-C12	4,017	n-C23	5,005
ip-C13	1,840	n-C24	4,889
ip-C14	2,845	n-C25	6,473
n-C13	4,504	n-C26	5,302
ip-C15	2,672	n-C27	7,707
n-C14	4,724	n-C28	4,834
ip-C16	7,270	n-C29	7,141
n-C15	4,381	n-C30	3,395
n-C16	4,033	n-C31	4,280
ip-C18	4,441	n-C32	1,548
n-C17	4,740	n-C33	2,543
ip-C19	23,095	n-C34	1,388
n-C18	4,817	n-C35	0,908
ip-C20	2,847	n-C36	0,418
n-C19	5,861	n-C37	0,470
n-C20	5,446	n-C38	0,245
suma uvedených alkanů			160,320

Tab.: 8: Výsledky GC analýzy alifatické frakce uhlovodíků z černého uhlí z Kladna (Osterrothová – Tlustá, 1999).

uhlovodík:	mg/kg:	uhlovodík:	mg/kg:
naftalen	11,525	chrysen	2,305
acenaftylen	0,118	benzo(b)fluoranten	2,787
acenaften	0,273	benzo(j)fluoranten	4,417
fluoren	2,103	benzo(k)fluoranten	2,489
fenantren	6,276	suma benzofluorantenu	9,693
antracen	1,889	benzo(a)pyren	2,669
fluoranten	2,787	indeno(1,2,3-cd)pyren	0,169
pyren	4,417	dibenz(a,h)antracen	0,190
benz(a)antracen	2,489	benzo(ghi)perylen	2,011
suma uvedených PAHs			48,913

Tab. 9: Výsledky GC analýzy aromatické frakce uhlovodíků z černého uhlí z Kladna (Osterrothová – Tlustá, 1999).

5.1.3. Příprava a zpracování vzorků

Obecný postup přípravy vzorků byl následující (pokud byl postup u konkrétního vzorku odlišný, je na to dále v textu upozorněno):

5 g uhlí bylo naváženo do 100 ml kádinky a pipetou bylo přidáno 20 ml čistého toluenu a 5 ml toluenového roztoku C_{60} (10 ppm) – tedy 2 ppm C_{60} v objemu rozpouštědla 25 ml, přepočteno na koncentraci vůči vzorku uhlí – 10 ppm. Poté proběhla ultrazvukace v ultrazvukové lázni Tesla (50 kHz, 75 W). Pokud byly vzorky sonikovány v lázni Bandelin Sonorex (35 kHz, 160/320 W), je tento fakt dále v textu zmíněn. Hladina vody v lázni byla lehce nad hladinou rozpouštědla v kádince. Za běžného provozu, tedy při pokojové teplotě, dochází v lázni Tesla k nárůstu teploty vody po 3 hodinách chodu na cca 40 °C. V lázni Bandelin Sonorex teplota vody samovolně stoupá až na hodnotu cca 75 °C, na které se ustálí za 10 min.

Po extrakci byla kádinka se vzorkem ponechána ~45 min v klidu, tak aby částice černého uhlí v suspenzi mohly sedimentovat na dno. Extrakt byl poté odpipetován pasteuovou pipetou do skleněné stříkačky s našroubovaným diskovým filtrem (Millipore – PTFE, 0,45 μ m, průměr 25 mm). Mírným tlakem byl extrakt přefiltrován do odměrné baňky, doplněn na 25 ml a převeden do vialky. Filtr byl poté promyt dvakrát 5 ml čistého toluenu přímo do vialky. Odměrná baňka byla vymyta 2 ml čistého toluenu a promyv rovněž převeden do vialky. Výsledný objem takto získaného vzorku byl tedy 37 ml. Po každé filtraci byl filtrační systém řádně vypláchnut toluenem a vytřen. Slepým vzorkem bylo prokázáno, že v systému poté již není přítomno detekovatelné množství C_{60} .

5.1.4. Separace a analýza C_{60} metodou HPLC

Pro separaci a analýzu C_{60} v extraktech byla ve všech případech použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie - HPLC. Kromě extraktů získaných opakovanou extrakcí, nebyly extrakty zakonzentrovány. 200 μ l z extraktu bylo přivedeno na kolonu Cosmosil Buckyprep (250 x 4,6 mm), vybavenou „ochrannou“ kolonou Buckyprep typu Watrex (10 x 4,6 mm). Celkem byla provedena minimálně 2 měření, výsledkem je pak průměr těchto měření. Jako mobilní fáze byl použit toluen při průtokové rychlosti 3 ml/min. Analýza eluentu byla realizována pomocí PDA detektoru (Well Chrom, Knauer) při vlnové délce 330 nm. Při každé sérii měření byl zároveň změřen použitý standard C_{60} (10 ppm). Analýza byla provedena na pracovišti Fyzikálního ústavu Akademie Věd ČR.

5.1.5. Preextrakce černého uhlí

Pro část experimentů bylo černé uhlí preextrahováno na systému Soxtec (Soxtec System HT 2, Tecator). Nejdříve byla provedena extrakce černého uhlí pentanem. Extrakční patrona s naváženým uhlím (~20 g) byla ponořena do vroucího pentanu (použitý objem pentanu 80 ml, teplota topného média 80 °C), kde byla ponechána 60 minut. Po 60 minutách varu byla patrona vyzvednuta nad hladinu rozpouštědla a dále probíhala extrakce kondenzovaným pentanem, který stékal do patrony s uhlím. Patrona s uhlím byla poté ponechána v digestoři dokud nedošlo k odpaření pentanu. Pentanový extrakt byl převeden do odměrné baňky a doplněn na 25 ml. Alikvot extraktu byl zakonzentrován na 2 ml a kvantitativně převeden na kolonu se silikagelem. Elucí pentanem byla vypreparována frakce nasycených uhlovodíků, která byla následně převedena do 5 ml toluenu. Takto připravený roztok nasycených uhlovodíků byl použit pro další experimenty (viz. kap. 5.2.9.). Část extrahovaného uhlí byla ponechána pro další experimenty a část byla dále extrahována toluenem. Extrakce toluenem proběhla rovněž na stejném systému Soxtec. V první fázi extrakce byly patrona se vzorkem opět ponořena po dobu 60 min do vroucího rozpouštědla (použitý objem toluenu 110 ml, teplota topného média 170 °C). Následně byla patrona vytažena nad hladinu toluenu a dále probíhala

extrakce kondenzovaným toluenem stékajícího z chladiče do patrony, tentokrát po dobu 90 min. Uhlí bylo opět nejdříve vysušeno a poté použito k dalším experimentům (kap. 5.2.5.). Toluenový extrakt sytě hnědočerveného zabarvení byl převeden do odměrné baňky a doplněn na 25 ml. S extraktem pak bylo dále pracováno (kap.5.2.9.).

Frakce nasycených uhlovodíků, vypreparované z pentanového a toluenového extraktu, byly analyzovány plynovou chromatografií – výsledky analýz jsou v tab. 10. Chromatogramy jsou vyobrazeny v příloze II. Podmínky GC analýzy byly následující – chromatograf HP 6890 Series s plamenově-ionizačním detektorem, křemenná kapilární kolona VICI VB-1 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm, objem nástřiku 1 µl, nosný plyn – vodík.

Preextrakcí pentanem byla vyextrahována jen část alkanů. Suma alkanů, vyextrahovaných dále toluenem je pak téměř dvojnásobná, oproti pentanovému extraktu. Rozdíl je výraznější hlavně u vyšších alkanů, zatímco koncentrace alkanů n-C10 až n-C13 byla vyšší u pentanového extraktu.

Extrakce černého uhlí na systému Soxtec byla realizována v laboratořích České geologické služby v Brně, kde byly též provedeny a vyhodnoceny analýzy extraktů plynovou chromatografií.

uhlovodík:	pentanový extrakt toluenový extrakt	
	mg/kg	mg/kg
n-C10	1,53	0,301
n-C11	1,52	0,716
n-C12	1,63	1,16
ip-C13	0,694	0,941
ip-C14	1,05	1,99
n-C13	2,02	1,81
ip-C15	0,842	2,02
n-C14	1,87	2,21
ip-C16	2,28	5,26
n-C15	1,84	2,40
n-C16	1,69	2,15
ip-C18	1,40	3,41
n-C17	1,79	2,22
ip-C19	6,55	17,69
n-C18	1,85	2,35
ip-C20	0,756	2,04
n-C19	2,13	2,98
n-C20	1,76	2,65
n-C21	2,24	3,53
n-C22	1,58	2,59
n-C23	1,83	3,10
n-C24	1,76	3,10
n-C25	2,36	4,10
n-C26	1,85	3,49
n-C27	2,73	5,35
n-C28	1,61	3,14
n-C29	2,35	4,75
n-C30	1,12	2,30
n-C31	1,50	2,90
n-C32	0,505	1,10
n-C33	0,623	1,74
n-C34	0,265	0,703
n-C35	0,291	0,816
n-C36	0,082	0,183
n-C37	0,075	0,173
n-C38	0,027	0,066
suma uvedených alkanů:	56,00	97,445

Tab. 10: Výsledky GC analýzy frakce nasycených uhlovodíků v pentanovém a toluenovém extraktu z černého uhlí.

5.2. Metodika jednotlivých experimentů

5.2.1. Testování vlivu filtrace na výtěžek C₆₀

Byly testovány dva typy filtrů pro filtraci extraktu – diskové teflonové (PTFE) filtry Millipore (0,45 μm, průměr 25 mm) a skleněné filtry Millipore (1 μm, průměr 45 mm). Diskové PTFE filtry byly našroubovány na skleněnou stříkačku, do které byl pasteurovou pipetou extrakt, případně čistý roztok C₆₀ převeden a následně pod mírným tlakem přefiltrován. Filtrace skleněnými filtry probíhala odlišně. Filtry byly uchyceny mezi nálevku a fritu, kterou filtrovaný vzorek stékal do odsávací baňky. Filtrace probíhala po odsátí vzduchu z odsávací baňky, kdy v baňce vznikl podtlak.

Diskové PTFE filtry:

- Filtrace roztoku C₆₀ čistým filtrem: 25 ml roztoku C₆₀ o koncentraci 2 ppm byl filtrován přímo do vialky, následně byla filtrační soustava promyta 10 ml toluenu. Výsledný objem tedy činil 35 ml. Dále byl proveden další promyv filtračního systému do samostatné vialky, aby bylo ověřeno, že soustava byla dostatečně promyta toluenem.
- Použití filtru zaneseného ultrasonikovaným uhlím: 10 ml 2 ppm C₆₀ bylo přefiltrováno přes filtry již použité, zanesené extrahovaným uhlím. Filtr byl propláchnut 10 ml toluenu. Celkový objem byl tedy 20 ml.

hmotnost naneseného materiálu na filtru:

0,0189 g

0,0342 g

0,1029 g

označení vzorku:

FZD-1

FZD-2

FZD-3

- Použití filtru s naneseným č. uhlím: do filtru bylo nanášeno 0,04 g vysušeného černého uhlí. Uhlí bylo ve filtru sklepano a zakápnuto kapkou toluenu. Přes takto připravené filtry bylo přefiltrováno 10 ml roztoku C₆₀ o koncentraci 2 ppm. Následně byl filtr opět propláchnut 10 ml toluenu.

Skleněné filtry:

- Filtrace roztoku C₆₀ čistým filtrem: 25 ml roztoku C₆₀ o koncentraci 2 ppm byl filtrován do odsávací, následně byla filtrační soustava promyta 10 ml toluenu. Nakonec byla odsávací baňka vypláchnuta 2 ml toluenu. Výsledný objem tedy činil 37 ml. Také v tomto případě byl proveden další promyv filtračního systému, převedený do samostatné vialky, aby bylo ověřeno, že soustava byla dostatečně promyta.
- Použití filtru zaneseného ultrasonikovaným uhlím: 10 ml 2 ppm C₆₀ bylo přefiltrováno přes již použité filtry, zanesené extrahovaným černým uhlím. Filtr byl propláchnut 10 ml toluenu, odsávací baňka pak 2 ml toluenu. Celkový objem tedy byl 22 ml.

hmotnost naneseného materiálu na filtru:

0,0116 g

0,0708 g

0,1560 g

označení vzorku:

FZS-1

FZS-2

FZS-3

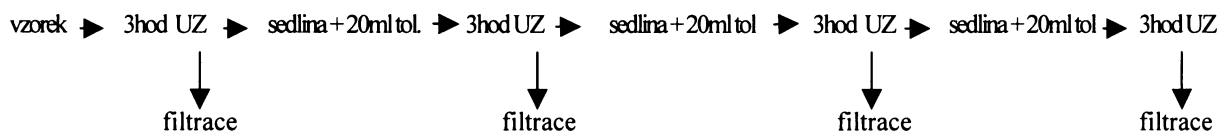
- Použití filtru s naneseným č. uhlím: na filtr bylo nanášeno 0,04 g vysušeného černého uhlí, které bylo rozetřeno rovnoměrně po celé aktivní ploše filtru. Přes takto připravené filtry bylo přefiltrováno 10 ml 2 ppm C₆₀, stejně jako v předešlých pokusech byl filtr propláchnut 10 ml toluenu a odsávací baňka byla opět vymyta 2 ml toluenu. Celkový objem tedy byl 22 ml.

5.2.2. Vliv doby ultrazvukace na výtěžek

V této části byly vzorky připraveny a zpracovány tak jak je popsáno v kap. 5.1.3. Měnicím se parametrem byl čas ultrazvukace – jednotlivé vzorky byly ultrasonikovány po dobu 15 min, 30 min, 90 min, 3 hod, 6 hod, 12 hod, 24 hod a 72 hod. Během dlouhého času ultrazvukace se výrazněji projevuje vypařování rozpouštědla, proto byl ke vzorkům ultrasonikovaným 72 hod doplňován toluen. Zároveň delší doba chodu ultrazvukové lázně vedla ke vzrůstu teploty vody v lázni (po 24 hodinách chodu bylo naměřeno 57 °C).

5.2.3. Vliv opakované extrakce

U vzorků ultrasonikovaných po dobu tří hodin byly sedimenty pevné fáze č. uhlí (po odpipetování a filtraci extraktu) podrobeny další ultrazvukaci. K sedimentu bylo vždy přidáno 20 ml toluenu a vzorek byl znovu ponechán v ultrazvukové lázni po dobu 3 hodin. Opakovaná ultrasonikace byla, jak ukazuje následující schéma, provedena u každého vzorku celkem třikrát. Extrakty, získané opakovanými extrakcemi byly před analýzou HPLC zakonzentrovány na vakuové odparce (BÜCHI B-490) při 70°C. Zakonzentrování extraktu bylo, stejně jako HPLC analýza, realizováno na Fyzikálním ústavu AV ČR.



5.2.4. Vliv teploty vzorku při UZ extrakci

Dvě série vzorků černého uhlí s přidáním standardem C₆₀ byly ultrasonikovány při teplotě vody v lázni Tesla 280 – 285 K po dobu 30 min, resp. 3 hod. Voda v lázni byla průběžně vyměňována a chlazená tak, aby byla zachována požadovaná teplota. Příprava a zpracování vzorků bylo shodné s postupem, popsaným v kap. 5.1.3.

5.2.5. Vliv preextrakce černého uhlí

Série vzorků byla preextrahována v ultrazvukové vaně po dobu 3 hod. Až poté byl k uhlí přidán standard C₆₀ a suspenze sonikována 3 hodiny. Část černého uhlí byla preextrahována pentanem, postupem, který je popsán v kapitole 5.1.5. S takto upraveným uhlím byl opět proveden experiment, kdy byla suspenze s přidáním standardem C₆₀ ultrasonikována po dobu 3 hodin. Další část uhlí, která byla po preextrakci pentanem ještě extrahována toluenem, byla podrobena totožnému experimentu.

5.2.6. Vliv dusíkové atmosféry a probublávání dusíkem během ultrazvukace

Jako jeden z možných důvodů neuspokojivých výsledků extrakce byla uvažována dekompozice C₆₀ oxidací této molekuly za přístupu kyslíku. U dalších dvou sérií vzorků byl proto zkoumán vliv přítomnosti inertního plynu, konkrétně N₂ při ultrazvukaci. Nejdříve byl testován vliv dusíkové atmosféry nad roztokem – vzorek byl tentokrát sonikován v titrační baňce s kulatým dnem. Do baňky byl přes skleněnou přírodní trubici v uzávěru průběžně přiváděn dusík. Pro kontrolu přívodu dusíku byla hadička, umožňující vývod dusíku, probublávána do kádinky s vodou. Ultrasonikace probíhala 3 hodiny.

Další pokus spočíval v probublávání N₂ přímo do roztoku ultrasonikovaného vzorku pomocí pasteuovy pipety. Vzorek byl v tomto případě umístěn v 100 ml kádince přikryté alobalem. Pokus probíhal rovněž po dobu 3 hodin.

5.2.7. Vliv demineralizace č. uhlí před ultrazvukací

Demineralizace černého uhlí byla provedena pro srovnání a ověření vlivu tohoto procesu na výslednou koncentraci C₆₀ v extraktu, vzhledem k vysokému obsahu organického uhlíku však nebylo očekáváno jeho výrazné zakoncentrování ve vzorku. Nejprve bylo naváženo 5g černého uhlí, na které byl nakapán toluenový roztok C₆₀ (5 ml, 10 ppm). Vzorek byl ponechán jeden den při pokojové teplotě v digestoři, aby došlo k odpaření rozpouštědla. Poté byl ke vzorku přidán roztok HCl/HF v poměru 1:2. Za občasného míchání byl vzorek takto ponechán po dobu 6 hodin. Sedimentace černého uhlí v roztoku probíhala značně pomalu, proto byla nádoba (PET) se vzorkem ponechána dalších 14 hod v klidu. Frakce uhlí plovoucí na hladině roztoku byla sejmuta a promyta destilovanou vodou. Roztok nad usazeninou byl odpipetován a uhlí několikrát vymyto destilovanou vodou dokud pH roztoku nevzrostlo na hodnotu 5. Obě frakce byly poté převedeny do jedné skleněné kádinky, PET nádoby byly lehce omyty toluenem a výplach přidán do kádinky se vzorkem. Vzorek byl vysušen při teplotě 35°C. Vzhledem k pomalé sedimentaci černého uhlí ve vodném roztoku probíhala celá procedura 12 dní.

Působením roztoku HCl/HF bylo rozpuštěno 0,5 g černého uhlí z výchozích 5 g. Vzorek byl po přidání 25 ml toluenu ultrasonikován po dobu 3 hodin a extrakt poté zpracován opět zpracován stejným postupem, jak je uvedeno v kap. 5.1.3.

5.2.8. Vliv centrifugace vzorku po ultrazvukaci

Vzorek uhlí s přidáním std. C₆₀ byl ultrasonikovaný v centrifugační kyvetě po dobu 3 hodin. Pro oddělení pevné fáze a extraktu byl poté centrifugován 20 minut při 4500 ot./min. Extrakt byl následně odpipetován a zfiltrován opět stejným postupem.

5.2.9. Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických molekul na chování C_{60} v roztoku

V tomto kroku byl samotný toluenový roztok C_{60} (bez přítomnosti pevné fáze černého uhlí) vystaven různým podmínkám – měnicími se parametry byly: teplota vzorku, přítomnost uhlovodíků vyextrahovaných z černého uhlí a působení ultrazvuku na roztok. Toluenový roztok C_{60} byl připraven naředěním 5 ml standardu C_{60} (10 ppm) na výslednou koncentraci 2 ppm a objem byl 25 ml (koncentrace C_{60} a objem rozpouštědla byl tedy stejný jako v případě experimentů s účastí pevné fáze černého uhlí).

Dvě série vzorků (čistý roztok C_{60} o objemu 25 ml a koncentraci C_{60} 2 ppm) byly zahřívány na elektrickém topném médiu. Vzorky z první série byly zahřívány na teplotu 50 °C (A), druhá série vzorků byla zahřívána na 80°C (B). Teplota byla kontrolována měřením v kádince s čistým toluenem, zahřívání společně se vzorky. Další dvě série vzorků, byly podrobeny ultrasonikaci v lázni Tesla. V prvním případě se jednalo rovněž o čistý roztok C_{60} (C), v druhém případě (D) byla k roztoku C_{60} přidána frakce nasycených uhlovodíků o objemu 5 ml, získaná z pentanového extraktu z černého uhlí (viz. kap. 5.1.5.). Objem vzorku při ultrasonikaci byl opět 25 ml.

Poslední dvě série vzorků byly dále ultrazvukovány v lázni Bandelin Sonorex. V obou případech šlo o roztok C_{60} s přidanými uhlovodíky vyextrahovanými z uhlí. K části vzorků byla opět přidána frakce nasycených uhlovodíků – vzorky byly připraveny stejným způsobem jako je popsáno v předešlém odstavci, extrakce probíhala pouze v jiné lázni (E). Poslední sérii vzorků představuje roztok C_{60} s přidaným toluenovým extraktem černého uhlí (F). Šlo o toluenový extrakt (nijak neupravený) z černého uhlí s nižším obsahem nasycených uhlovodíků (viz obr. 18) než v předchozím případě, který však obsahoval také PAHs a NSO složky. Tentokrát přidaný objem tohoto extraktu činil 10 ml.

Všechny experimenty popsané v této kapitole probíhaly po dobu 3 hodin. Vzorky nebyly filtrovány – byly pouze odpipetovány do odměrné baňky a objem doplněn na 25 ml. Kádinka, ve které byl vzorek byla vymyta dvakrát 5 ml toluenu, rovněž odměrná baňka byla promyta, a to 2 ml toluenu. Promyv z kádinky i z odměrné baňky byl převeden do vialky, celkový konečný objem vzorku byl tedy 37 ml.

5.2.10. Využití nejlepších zjištěných podmínek ultrasonikace – doporučená metodika

V tomto kroku byly zahrnuty podmínky, které se na základě dosažených výsledků zdají být pro UZ extrakci C_{60} nevhodnější. Ultrazvukace probíhala 30 minut za teploty 280 – 285 K v lázni Tesla. Černé uhlí použité pro experiment bylo preextrahováno pentanem. Extrakt byl filtrován přes filtry PTFE 0,45 μm (Millipore). Zároveň byl proveden totožný pokus, kdy doba ultrazvukace byla 90 min.

6. Výsledky

V této části jsou popsány výsledky testů jednotlivých kroků ultrazvukové extrakce černého uhlí s přidaným standardem C_{60} , které mohou mít vliv na konečný výtěžek C_{60} . Jako nejpodstatnější ze sledovaných parametrů se ukázala být doba ultrazvukace a teplota vzorku při ultrazvukaci. Vliv na výtěžek má dále také preextrakce černého uhlí a způsob filtrace. Výrazný rozdíl ve výsledku byl zaznamenán při použití dvou různých ultrazvukových lázní.

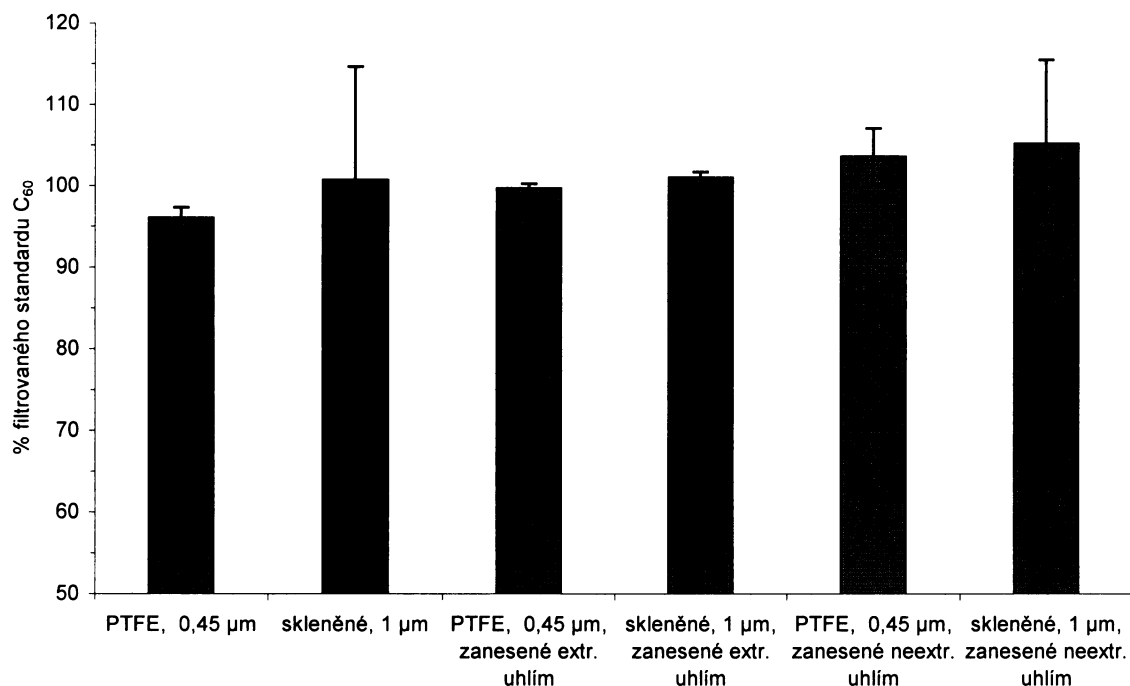
Veškeré výsledky jsou prezentovány v tabulkách, kde jsou uvedeny vždy výsledky všech prováděných měření, zvýrazněn je medián a interval spolehlivosti, který vyjadřuje, že skutečná hodnota leží s 95% pravděpodobností v uvedeném intervalu. Pro přehlednost textu jsou jen některé tabulky prezentované v této kapitole, ostatní jsou uvedeny v přílohách. Výsledky prezentované v grafech představují mediány ze tří měření (v případě experimentů probíhajících za nejlepších podmínek je to 5 měření), zobrazen je interval spolehlivosti.

6.1. Vliv filtrace

V první fázi experimentů byl testován vliv samotných filtrů, používaných pro filtraci extraktu před analýzou HPLC, tedy diskových filtrů PTFE, 0,45 μm (Millipore). Zároveň byly testovány skleněné filtry, 1 μm (Millipore).

Vzorek	Filtry	% C_{60} z teoretického množství (ve standardu)
FE – 2B	Filtry Millipore PTFE, 0,45 μm	95,54%
FE – 2A		96,05% \pm 1,30
FE – 2C		96,54%
FE – 1A	Filtry Millipore skleněné, 1 μm	91,88% (8,30%*)
FE – 1B		100,72% \pm 13,94 (5,03%*)
FE – 1C		102,60% (4,69%*)
FZD - 3	Filtry Millipore PTFE, 0,45 μm (již použité - zanesené extrahovaným č. uhlím)	99,31%
FZD - 1		99,69% \pm 0,61
FZD - 2		99,78%
FZS - 2	Filtry Millipore skleněné, 1 μm (již použité - zanesené extrahovaným č. uhlím)	100,82%
FZS - 1		101,02% \pm 0,72
FZS - 3		101,37%
DFU - 1	Filtry Millipore PTFE, 0,45 μm (s naneseným neextrahovaným č. uhlím)	101,85%
DFU - 2		103,62% \pm 3,46
DFU - 3		104,51%
SFU - 1	Filtry Millipore skleněné, 1 μm (s naneseným neextrahovaným č. uhlím)	98,89%
SFU - 2		105,2% \pm 10,31
SFU - 3		106,82%

Tab 11: Ověření vlivu filtrace roztoku C_{60} na výtěžek extrakce. Tučně jsou zvýrazněny mediány a interval spolehlivosti. *Hodnoty v závorkách odpovídají koncentracím C_{60} , které byly detekovány v dalším výplachu filtračního systému.

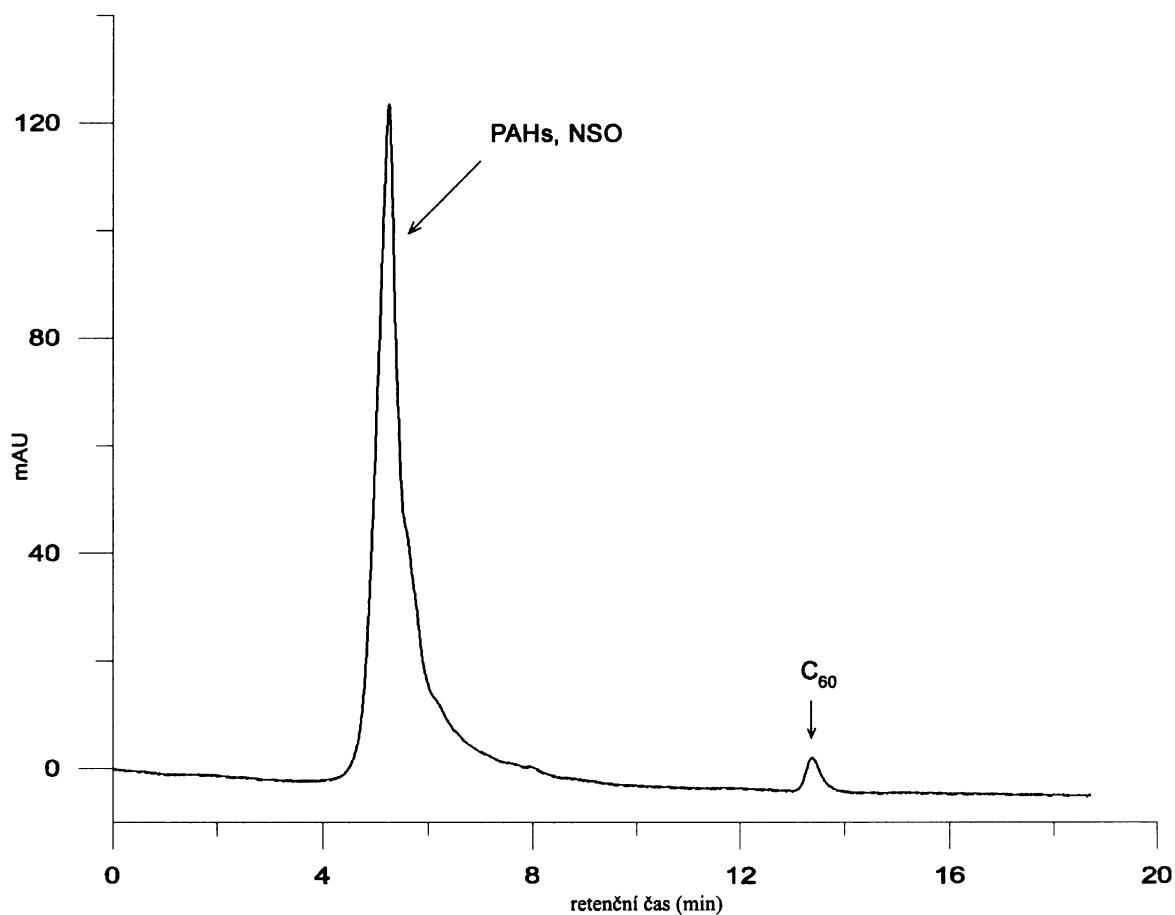


Obr. 18: Výsledky experimentální filtrace roztoku C₆₀ přes filtry PTFE (0,45 μm) a filtry skleněné (1 μm). Filtrace probíhala přes filtry čisté, zanesené extrahovaným uhlím při jiných experimentech a filtry s naneseným neextrahovaným uhlím

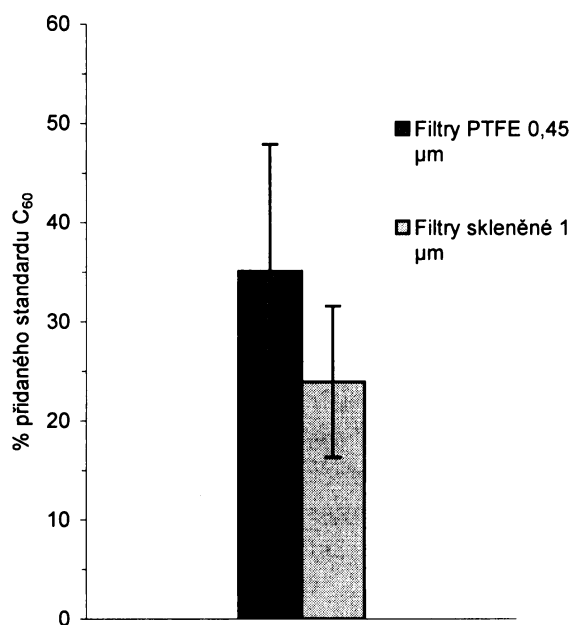
Čistý roztok C₆₀ o objemu 25 ml a koncentraci 2 ppm byl filtrován oběma typy filtrů. Jedná se tedy o stejné hodnoty objemu i koncentrace roztoku C₆₀, použité u dalších experimentů. Analýzou pomocí HPLC nebyly u PTFE filtru zaznamenány žádné ztráty C₆₀, které by naznačovaly možný záchyt molekul fullerenu na filtru. V případě filtrů skleněných bylo v dalším promyvu filtru a zároveň výplachu odsávací baňky detekováno cca 5% C₆₀. U dalších pokusů, kdy bylo filtrováno přes skleněné filtry byl tedy proveden důkladnější promyv filtračního systému.

Pokus, provedený se zanesenými filtry, použitými v jiných experimentech, také nenaznačuje, že by během filtrace zaneseným filtrem docházelo ke ztrátám C₆₀. To potvrzuje rovněž experiment provedený s filtry, na které bylo uhlí (předtím neextrahované) uměle nanášeno. Tyto výsledky, shrnuté v tab. 11 a vyobrazené v grafu nahoře tedy ukazují, že použitím těchto dvou testovaných metod filtrace nedochází ke ztrátám C₆₀ v případě, že je filtrován čistý roztok fullerenu a filtr je promyt 10 ml čistého toluenu.

Oba typy filtrů byly použity v dalším experimentu, kde byl filtrován extrakt po 3 hodinách ultrasonikace. V následujícím grafu vidíme získané výtěžky. Porovnáme-li oba filtry, je vidět, že při použití skleněných filtrů (1 μm) je výtěžek o ~30% nižší, než v případě tetlonových (0,45 μm) filtrů, kde byla výsledná koncentrace C₆₀ v extraktu 35,11 ± 12,78 (obr. 20). S tímto výsledkem jsou porovnávána další data, kde byly sledovány jiné parametry (použitá lázeň, doba ultrazvukace, teplota, a další) Chromatogram získaný analýzou tohoto vzorku je vyobrazen na obr. 19.



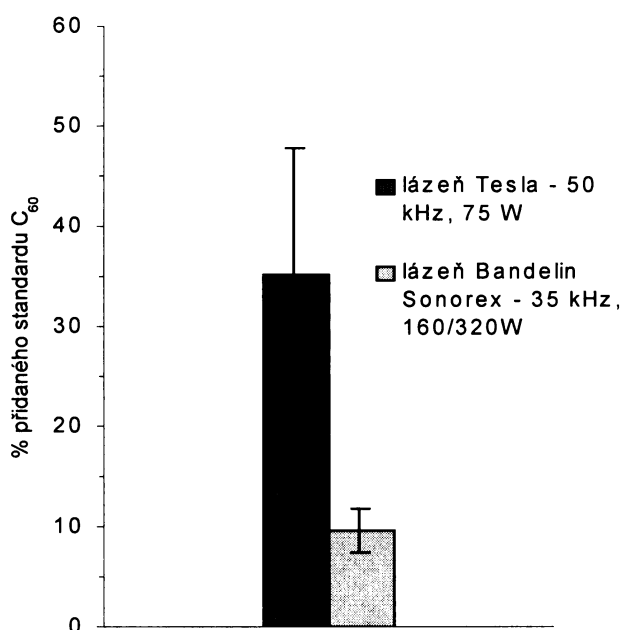
Obr. 19: Chromatogram extraktu po tříhodinové ultrasonikaci.



Obr. 20: Porovnání výtěžků ultrazvukové extrakce po dobu 3 hodin při použití teflonových filtrů 0,45 µm a skleněných filtrů 1 µm.

6.2. Vliv použité ultrazvukové lázně

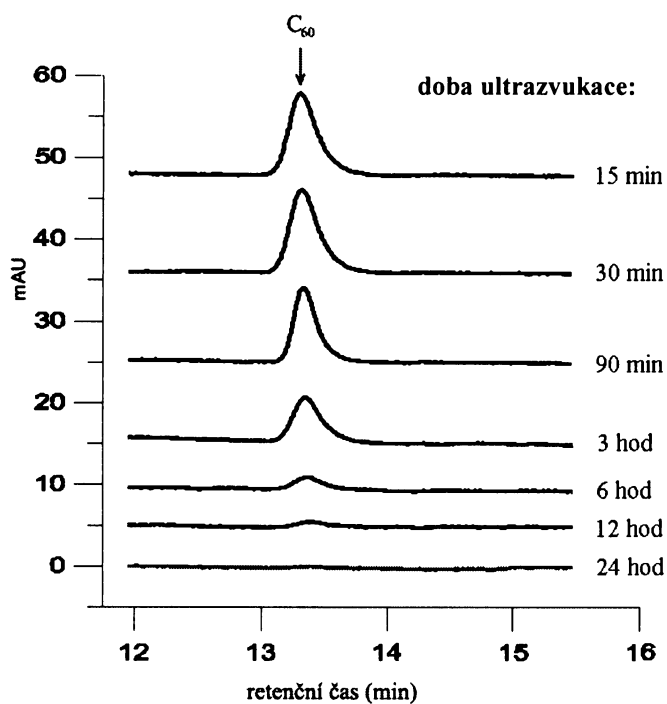
Výsledky tříhodinové ultrazvukové extrakce uhlí s přidaným standardem C_{60} , kdy byly testovány dvě různé ultrazvukové lázně, jsou vyobrazeny na obr. 21. Je patrné, že ultrasonikace v lázni Tesla (50 kHz, 75 W) vedla k více než trojnásobnému výtěžku C_{60} (35,11% \pm 12,78), než při použití lázně Bandelin Sonorex (35 kHz, 160/320 W), kdy byl výtěžek jen 9,64% \pm 2,18. Extrakt z lázně Bandelin Sonorex byl sytější žlutý, než v případě lázně Tesla.



Obr. 21: Srovnání výtěžků C_{60} po ultrasonikaci v lázni Tesla a Bandelin Sonorex.

6.3. Vliv doby ultrazvukace na výtěžek C_{60}

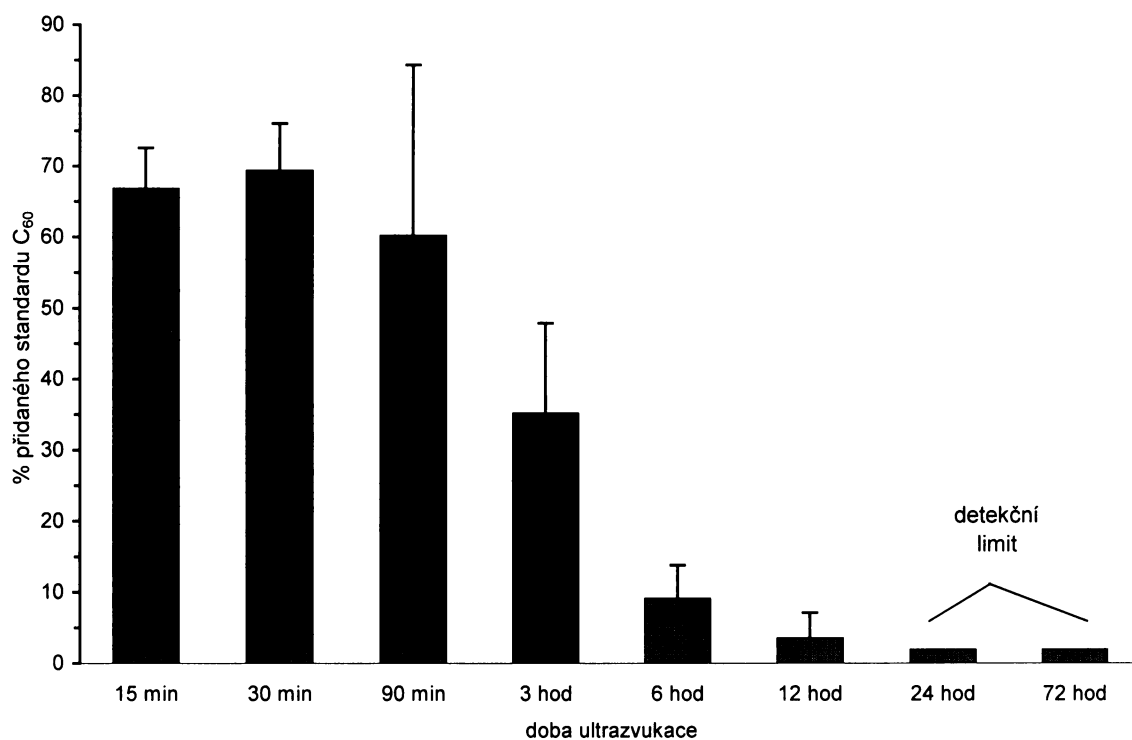
V tomto kroku byly jednotlivé vzorky ultrazvukovány po různě dlouhou dobu – konkrétně 15 min, 30 min, 90 min, 3 hod, 6 hod, 12 hod, 24 hod a 72 hod. V tab. 12 a na obr. 22 a 23 je patrný pokles koncentrace C_{60} při časech delších než 30 min, kdy s rostoucím časem klesá výtěžek C_{60} . Nejvyšších hodnot koncentrace C_{60} v extraktu tedy bylo dosaženo při 30 minutách ultrazvukace, a to 69,32% \pm 6,68. Hodnota po patnáctiminutové ultrazvukaci se však příliš neliší a vzhledem k chybě měření nelze tento rozdíl považovat za významný. Po 90 minutách sonikace je výsledná koncentrace nižší o cca 13% a po 3 hodinách klesá na ~51% výtěžku třicetiminutové ultrazvukace. Výsledek odpovídající dvanáctihodinové ultrazvukaci ukazuje na koncentraci C_{60} v extraktu pouhých 3,47% \pm 3,65 z původního přidaného množství. Po 24 a 72 hodinách již nebyly koncentrace C_{60} nad detekčním limitem HPLC, který byl v tomto případě 0,025 ppm.



Obr. 22: Srovnání píků C₆₀ z chromatografických záznamů extraktů po různé době ultrasonikace.

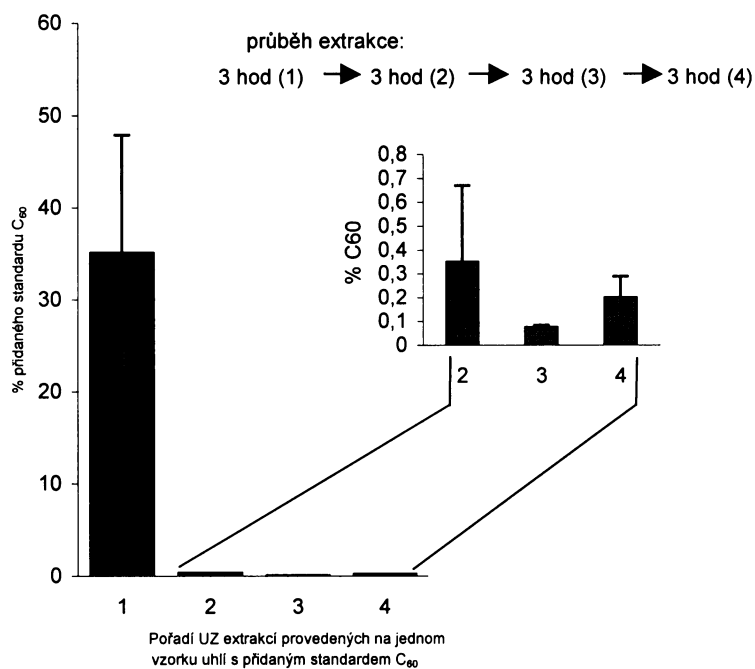
Vzorek	Čas extrakce	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
CEB-5	15 min	66,50%
CEC-5	15 min	66,78% ± 5,82
CE-5	15 min	70,98%
CE-6	30 min	70,98%
CEB-6	30 min	69,32% ± 6,68
CEC-6	30 min	65,84%
CEC-7	90 min	52,19%
CE-7	90 min	60,12% ± 24,20
CEB-7	90 min	70,81%
U-1C	3 hod	26,96%
U-1A	3 hod	35,11% ± 12,78
U-1B	3 hod	36,79%
CEB-1	6 hod	8,34%
CE-1	6 hod	9,08% ± 4,74
CEC-1	6 hod	21,43%
CE-2	12 hod	2,06%
CEB-2	12 hod	3,47% ± 3,65
CEC-2	12 hod	4,87%
CE-3	24 hod	<1,85%
CEB-3	24 hod	<1,85%
CEC-3	24 hod	<1,85%
CE-4	72 hod	<1,85%
CEB-4	72 hod	<1,85%
CEC-4	72 hod	<1,85%

Tab. 12: Naměřené hodnoty koncentrací C₆₀ (v procentuálním zastoupení vůči přidanému množství) při různých časech ultrasonikace. Tučně zvýrazněny jsou mediány detekovaných hodnot včetně intervalů spolehlivosti. Výsledek CEC-1 byl vyloučen jako odlehlá hodnota.



Obr. 23: Vliv doby ultrazvukace na výslednou koncentraci C₆₀ v extraktu.

6.4. Vliv opakované ultrazvukace

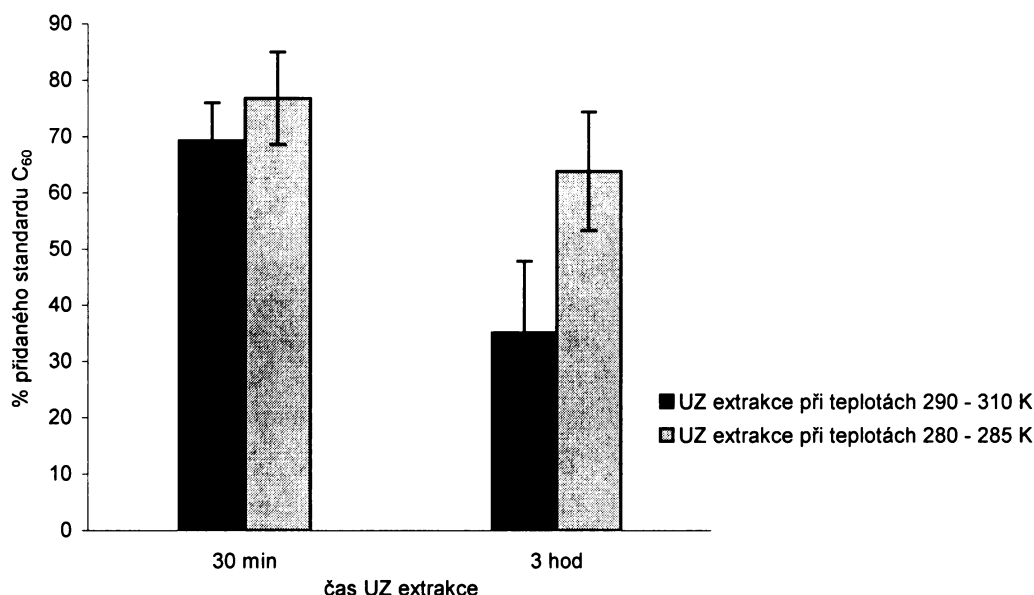


Obr. 24: Výsledek tříhodinové ultrasonikace vzorku černého uhlí s přidaným standardem C₆₀ + opakované tříhodinové extrakce téhož vzorku.

Opakovanou ultrazvukovou extrakcí vzorků U-1A, U-1B a U-1C, které již byly 3 hodiny sonikovány a extrakt odpipetován, nedošlo k vyextrahování významného množství C_{60} (~ 0,35% přidaného množství). Další dvě opětovné extrakce přinesly ještě nižší výtěžek, jak je vidět z obr. 24, výsledky opakovaných extrakcí se však blížily detekčnímu limitu HPLC stanovení a jejich rozdíly nelze považovat za příliš významné.

6.5. Vliv teploty vzorku při ultrazvukaci na výtěžek C_{60}

Ukazuje se, že teplota vzorku při ultrazvukové extrakci C_{60} hraje zřejmě důležitou roli. Z výsledků, vyobrazených v následujícím grafu (obr. 25) vyplývá, že při teplotě 280 – 285 K je výtěžek C_{60} lepší, než při teplotách vyšších, kdy teplota v ultrazvukové lázni Tesla pomalu stoupá z pokojové teploty na hodnotu ~ 310 K po 3 hodinách. Rovněž je patrné, že rozdíl výtěžku při různých teplotách se projevuje více při delších časech ultrazvukace. Výtěžek experimentu, který probíhal za nižší teploty vzorku během ultrasonikace, byl při čase 3 hodiny vyšší o ~45 % v porovnání s výsledkem experimentu uskutečněného za vyšší teploty. Při kratším čase ultrazvukace (30 min) byl výtěžek za nízké teploty vyšší o ~9,8 %.

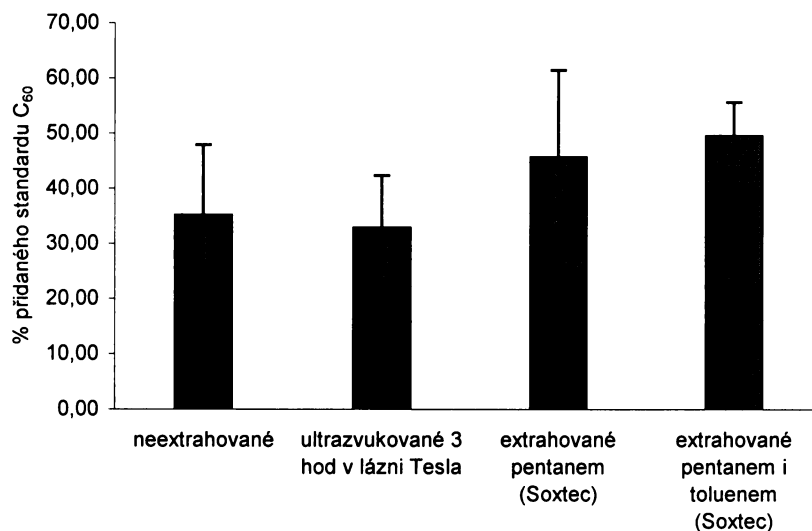


Obr. 25: Vliv teploty vzorku při ultrasonikaci na koncentraci C_{60} v extraktu.

6.6. Vliv preextrakce černého uhlí na výtěžek C_{60}

Na obr. 26 můžeme vidět srovnání výtěžku C_{60} přidaného k uhlí neextrahovanému, sonikovanému po 3 hodiny v toluenu (Tesla) a dále k uhlí extrahovanému pentanem a extrahovanému pentanem + toluenem (Soxhletovou extrakcí na systému Soxtec). Použití pentanu jako rozpouštědla při Soxhletově extrakci černého uhlí vede k vyextrahování především alifatických uhlovodíků. Ukazuje se, že tento krok mírně zvyšuje výtěžek C_{60} při následující ultrazvukové extrakci – výsledná koncentrace C_{60} v extraktu je $45,72\% \pm 15,77$, tedy o ~23% více než v případě uhlí nepreextrahovaného. Černé uhlí extrahované pentanem a poté ještě toluenem, bylo použito pro další pokus. Ultrazvuková extrakce takto upraveného uhlí s přidaným standardem C_{60} zvýšení výtěžku o dalších cca 8% ($49,59\% \pm 6,16$),

rozdíl mezi těmito dvěma výsledky však vzhledem k chybě měření nelze výrazněji interpretovat. Tento výsledek slouží jako informace o vlivu přítomnosti organických látek v uhlí na výtěžek C₆₀, ovšem preextrakci toluenem není možné použít při extrahování fullerenů z reálného vzorku.



Obr. 26: Srovnání výtěžků C₆₀ přidaného k uhlí neextrahovanému, ultrazvukovanému v lázni Tesla, extrahovanému pentanem a extrahovanému pentanem i toluenem; ultrasonikace 3hod na systému Soxtec.

6.7. Podmínky UZ extrakce, které nevedly k lepším výsledkům

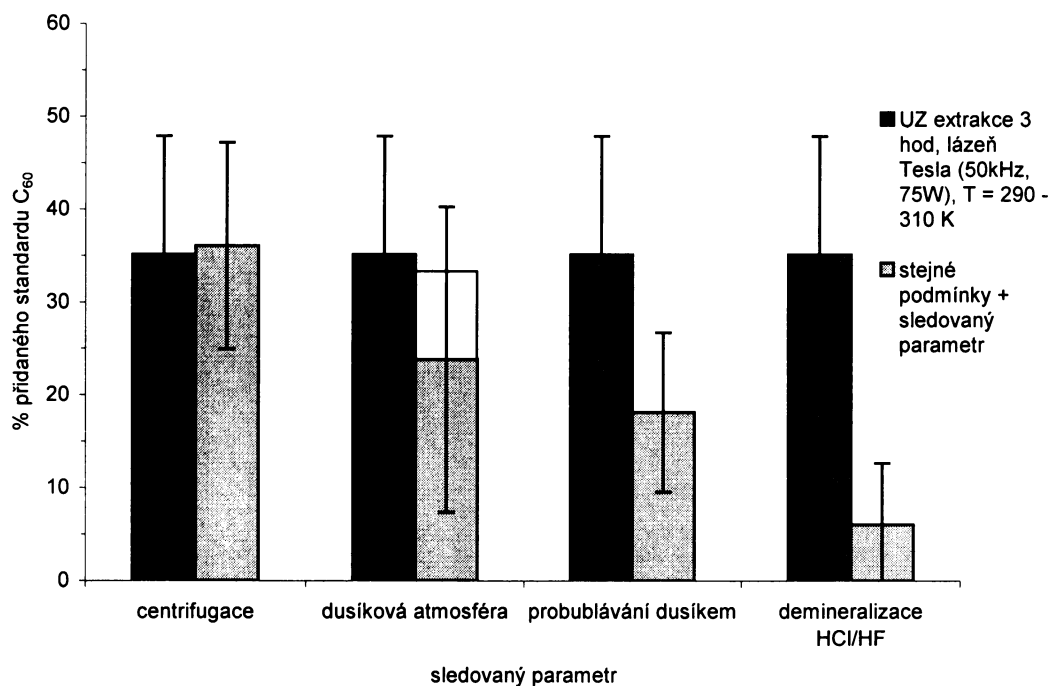
Některé testované podmínky UZ extrakce nevedly k efektivnějšímu vyextrahování C₆₀ z černého uhlí. Jako referenční měření byla u následujících experimentů použita extrakce trvající 3 hodiny v lázni Tesla za teplot 290 – 310 K (výsledná koncentrace C₆₀ 35,11 ± 12,78). Kromě vlivu jednotlivých testovaných parametrů byly zvoleny stejné extrakční podmínky. Sledovanými parametry byly – vliv centrifugace vzorku po extrakci, účinek dusíkové atmosféry při ultrazvukaci, vliv probublávání dusíku do vzorku při ultrazvukaci a dále účinek demineralizace č. uhlí před vlastní extrakcí).

Oddělení pevné fáze černého uhlí od toluenového extraktu centrifugací nevedlo k očekávanému zvýšení výtěžku. Výsledek mohl být ovlivněn rozdílným tvarem nádoby, ve které ultrazvukace probíhala – z metodických důvodů byl vzorek ultrasonikován přímo v centrifugační kyvetě. Při nižších teplotách vzorku uhlí v suspenzi sedimentuje rychleji a centrifugace tedy nakonec nebyla začleněna do finálního experimentu, kde byly použity nejlepší zjištěné parametry (kap. 6.9.).

Dalšími sledovanými parametry jsou účinek atmosféry N₂ nad vzorkem při ultrasonikaci a dále také vliv probublávání N₂ do vzorku během UZ extrakce. Ukazuje se, že při použití dusíkové atmosféry je výtěžek asi o třetinu nižší. Koncentrace C₆₀ v extraktu byla 18,15% ± 8,59. Možné důvody a důsledky tohoto jevu jsou diskutovány v kapitole 7.2.4.

Demineralizace uhlí s přidaným C₆₀ vedla k téměř šestkrát nižší koncentraci C₆₀ (6,07% ± 6,63) v extraktu po 3 hodinách sonikace, než v případě pokusu, kde nebyl proces demineralizace uhlí zahrnut. Zde zřejmě došlo ke ztrátě C₆₀ během procesu demineralizace.

Výsledky těchto experimentů jsou vyobrazeny v následujícím grafu.

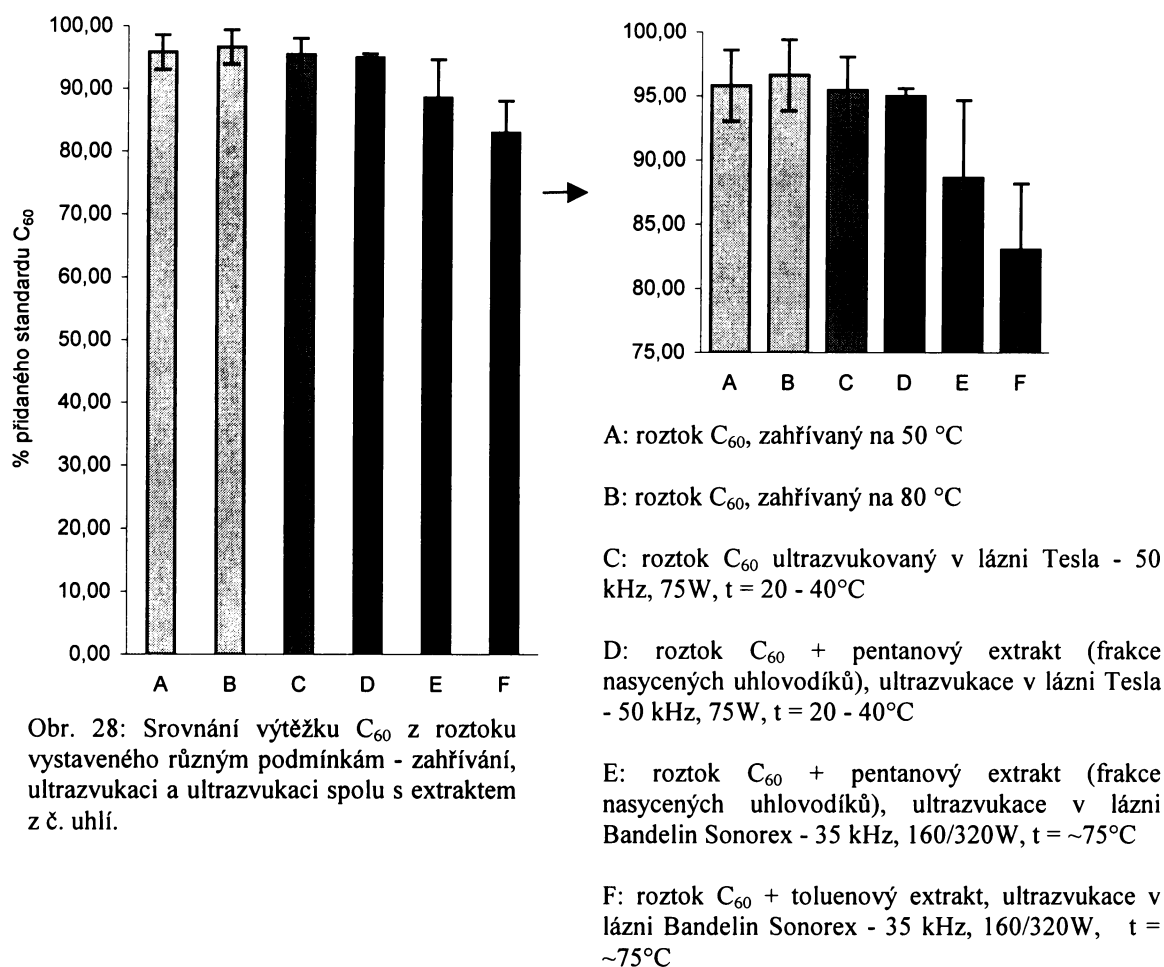


Obr. 27: Přehled sledovaných parametrů, které za daných podmínek nebyly shledány vhodnými pro ultrazvukovou extrakci fullerenu. U hodnoty (mediánu) výtěžku C_{60} , kdy byla při ultrasonikaci přítomna dusíková atmosféra nad vzorkem, je zároveň znázorněna hodnota, kdy byl použit pouze jeden filtr – nelze vyloučit, že použití více filtrů mohlo ovlivnit výsledek.

6.8. Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických molekul na chování C_{60} pouze v roztoku

Jak je vidět z grafu (obr. 28), samotným zahříváním roztoku C_{60} na 50°C (A) a 80°C (B) po dobu 3 hodin nedochází ani v jednom případě k výrazné ztrátě C_{60} . Ultrazvukace samotného roztoku C_{60} v lázni Tesla (pokus C) trvajících 3 hodiny rovněž nevede k významné ztrátě C_{60} . Totéž platí o dalším pokusu (D), kdy k roztoku C_{60} byla přidána frakce nasycených uhlovodíků pentanového extraktu černého uhlí. Ztráta ~ 3,5 - 5% u těchto vzorků mohla být způsobena jejich dalším zpracováním a nelze ji považovat za významnou z hlediska sledovaných vlivů.

Poslední dva experimenty představují ultrasonikaci roztoku C_{60} v lázni Bandelin Sonorex, kdy byl ke vzorkům přidán extrakt z černého uhlí. V prvním případě (E) to byla, stejně jako u pokusu D, frakce nasycených uhlovodíků pentanového extraktu. Ve srovnání s výše popsány výsledky je změřená výsledná koncentrace C_{60} za těchto podmínek o ~7% nižší ($88,62\% \pm 6,07$). Výsledek experimentu F ukazuje pokles koncentrace C_{60} o dalších ~5,5% na $83,05\% \pm 5,13$, v případě, že je k roztoku C_{60} přidán toluenový extrakt z černého uhlí.



Obr. 28: Srovnání výtěžku C₆₀ z roztoku vystaveného různým podmínkám - zahřívání, ultrazvukaci a ultrazvukaci spolu s extraktem z č. uhlí.

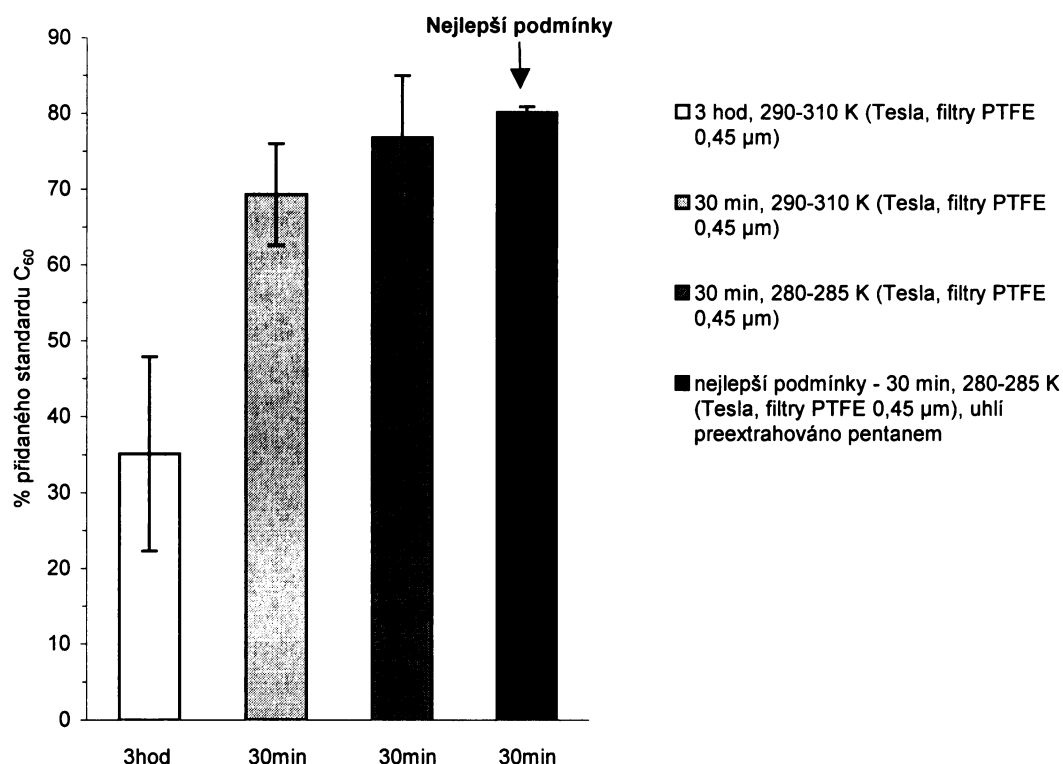
Ukazuje se tedy, že přítomnost uhlovodíků, vyextrahovaných z černého uhlí, v toluenovém roztoku C₆₀ má za určitých podmínek vliv na koncentraci C₆₀ v roztoku. Nicméně změny v koncentraci nejsou velké. Důležitým aspektem při ultrazvukové extrakci se tedy zdá být kontakt C₆₀ s pevnou fází.

6.9. Vyhodnocení nejlepších podmínek pro ultrazvukovou extrakci C₆₀ z hornin

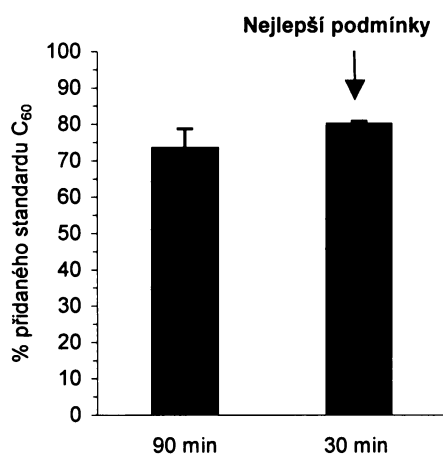
Na základě testovaných podmínek při ultrazvukové extrakci byly vybrány podmínky, při kterých se podařilo dosáhnout nevyšších výtěžků C₆₀. Ukázalo se, že největší vliv na celkový výtěžek má čas ultrazvukace, teplota vzorku při ultrazvukaci, menší zvýšení pak přinesla preextrakce uhlí pentanem. Vliv těchto parametrů na výtěžek extrakce je zobrazen na obr. 29. Pro srovnání jsou uvedeny výsledky, na jejichž základě se k vyhodnocení nejlepších podmínek došlo. Při všech těchto pokusech byly pro filtraci použity diskové filtry PTFE (0,45 μm), které se ukázaly být vhodnější, než skleněné filtry (1 μm). Extrakce probíhala v lázni Tesla, která rovněž poskytovala lepší výsledky, než lázeň Bandelin Sonorex.

Nejlepší zjištěné podmínky jsou následující: čas UZ extrakce 30 min, teplota vzorku při ultrazvukaci 280 – 285 K, uhlí preextrahované pentanem, (lázeň Tesla, filtry PTFE 0,45 μm, Millipore). Tyto podmínky byly tedy zvoleny pro poslední experiment. Výtěžek C₆₀ při těchto podmínkách je 80,14 % ± 0,77, což je o 13,5 % více oproti ultrasonikaci uhlí neperextrahovaného pentanem, probíhající při vyšších teplotách (290 – 310 K). Tento výsledek je zároveň o ~4,1 % vyšší, než výtěžek

získaný ultrazvukací při shodných teplotních podmínkách (280 – 285 K) uhlí, které nebylo preextrahováno. Pro srovnání byl proveden pokus, kdy byla doba ultrazvukace 90 min, výsledek byl $73,42 \% \pm 5,36$, tedy o $\sim 9,2 \%$ nižší (obr. 30).



Obr. 29: Shrnutí nejlepších podmínek pro UZ extrakci. Nejvyššího výtěžku bylo dosaženo ultrasonikací při teplotě 280 – 285 K po dobu 30 min, kdy bylo černé uhlí preextrahováno pentanem. Pro srovnání jsou zobrazeny hodnoty odpovídající stejné době ultrazvukace, kdy a) uhlí nebylo preextrahováno a b) ultrazvukace probíhala za teploty 290-310 K a uhlí rovněž nebylo preextrahováno. Dále je vyobrazen výsledek ultrazvukace nepreextrahovaného uhlí po dobu 3 hod při teplotě 290-310 K (z této kombinace podmínek se vycházelo na počátku experimentování). Všechny tři experimenty proběhly v lázni Tesla a extrakty byly filtrovány přes filtry PTFE 0,45 μm.



Obr. 30: Zde je patrné srovnání výsledku za nejlepších pomínek a výsledku, kdy byla doba ultrazvukace 90 min (ostatní podmínky byly stejné).

7. Diskuse

7.1. Jaké mohou být přirozené důvody rozdílných výsledků při identifikaci fullerenu v přírodních materiálech?

7.1.1. Heterogenita v distribuci fullerenu v hornině

Jedním z aspektů, který přispívá k rozporuplným a špatně reprodukovatelným výsledkům při analýze fullerenu v přírodních materiálech, je heterogenita v distribuci fullerenu v horninovém prostředí. Tomu nasvědčují některé nálezy fullerenu v přírodních vzorcích – například Jehlička a kol. (2003) detekoval C_{60} ve dvou ze čtyř vzorků pevného bitumenu z téže lokality – Mítov (jeden ze vzorků, který neobsahoval fullereny pocházel z povrchových akumulací uhlíkaté hmoty na polštářové lávě, zatímco další tři byly odebrány na kontaktu s nezávětralým bazaltem). V případě šungitu je výskyt fullerenu vázán na tenké vrstvy pokrývající praskliny v hornině (Buseck a kol., 1992).

Také v meteoritu Allende je podle Heymanna a kol. (2003) výskyt fullerenu nepravidelný v koncentracích řádu ppb. Tomu odpovídají rozdílné výsledky, kterých bylo dosaženo různými autory. Becker a kol. (1994a, 1995), Becker a Bunch (1997) v meteoritu Allende detekovali C_{60} i C_{70} a také fullereny ($C_{60}H_x$). Naproti tomu Heymann (1997) analyzoval 200 g vzorek meteoritu Allende metodou HPLC a nezaznamenal přítomnost C_{60} , C_{70} , oxidů C_{60} ani $C_{60}H_2$; hmotnostní spektrometrií (APCI-MS, atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry) byla vyloučena i přítomnost derivátů s funkčními skupinami O, OH, CH_3 . DeVries et al. (1993) analyzoval sublimační frakce, získané při 300, 450, a 600°C, demineralizovaných vzorků taktéž meteoritů Allende a Murchinson. Metodou hmotnostní spektrometrie s dvoukrokovou laserovou vaporizací resp. ionizací nebyla zjištěna přítomnost C_{60} v žádném z meteoritů.

7.1.2. Zvětrávací procesy

Dekompozice molekuly C_{60} při kontaktu s kyslíkem, zvláště ozonem, je známým jevem (Chibante a Heymann, 1993; viz kap. 2.2.). Lze tedy očekávat, že v povrchových partiích horninových celků, kde je hornina navětralá, se bude pravděpodobnost výskytu fullerenu snižovat. Pakliže jsou fullereny v hornině obsaženy, lze předpokládat jejich degradaci v řádu měsíců až let od odebrání vzorku (Jehlička a kol., 2003), záleží též na charakteru vzorku – zda-li jde o pevnou horninu či sediment. Pro zachování fullerenu v hornině a zabránění případné oxidaci se tedy zdá být důležitá jejich konzervace vůči okolí.

Uhlík pevného bitumenu z lokality Mítov (ČR), kde byl zaznamenán nález fullerenu C_{60} (Jehlička a kol., 2003), lze popsat jako skelný uhlík, který vzniká pyrolýzou polymerizovaných uhlovodíků (Oberlin, 2002). Jedná se o chemicky inertní, negrafitický a negrafitizující materiál (Rousseaux a Tchoubar, 1997; Jehlička a kol., 2003) s mikro- až mezoporézní mikrotexturou a uzavřenou porozitou (Yoshida a kol., 1991). Právě přítomnost uzavřené porozity pevného bitumenu se jeví jako velice důležitá pro konzervaci fullerenu. Bitumen je navíc uzavřen v podobě izolovaných akumulací uvnitř nezávětraleho bazaltu (Jehlička a kol., 2003). Podobný charakter má i uhlík, přítomný v šungitu, kde byly fullereny rovněž identifikovány (Buseck a kol., 1992; Parthasarathy a kol., 1998). Jehlička a kol. (2003) se domnívají, že pro konzervaci molekuly fullerenu v pevném bitumenu i karelském šungitu po dlouhou geologickou dobu bylo důležité, že se jedná v obou případech o negrafitický a negrafitizující materiál, mající charakter skelného uhlíku.

7.2. Vliv metodiky analýzy na nesourodost výsledků při identifikaci fullerenu v horninách

Nízké koncentrace fullerenu v horninovém prostředí znamenají vysoké nároky na použití analytických metod pro jejich detekci. Extrakce vzorku horniny do roztoku vhodným rozpouštědlem a následná analýza metodou hmotnostní spektrometrie či vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), je nejčastějším postupem.

Použití metody hmotnostní spektrometrie s laserovou desorcí (LD-MS), velmi účinné metody pro detekci fullerenu, bývá diskutováno s potenciálním druhotným vznikem fullerenu působením laseru na uhlíkatý materiál (Buseck, 2002). Laserové odpařování uhlíkatých prekurzorů je jedním z procesů syntetické přípravy fullerenu (např. Gu a kol., 1995; Kano a kol., 2003) – při laserové ablaci grafitu byly fullereny vůbec poprvé identifikovány (Kroto a kol., 1985). Podmínkami, které tento proces ovlivňují jsou, mimo jiné, hustota výkonu laseru a mód, který je pro detekci použit - ke vzniku fullerenu může snadněji dojít při detekci pozitivních iontů (Hettich a Buseck, 1996). Pro větší důvěryhodnost výsledků je tedy žádoucí potvrzení nálezu ještě jinou metodou. Buseck (2002) rovněž zmiňuje možnost přidání C_{78} nebo C_{84} jako standardu o známé koncentraci pro ověření, zda fullereny při měření pomocí LD-MS vznikají či ne.

Neefektivní extrakce fullerenu z geologických materiálů může být příčinou negativních výsledků a to jak při analýze pomocí HPLC, tak hmotnostní spektrometrií. Tento předpoklad je potvrzen prací Jehličky a kol. (2005b) a dokládá to i tato práce.

7.2.1. Pokles koncentrace C_{60} v extraktu – možné důvody

Diskutovány jsou dva hlavní procesy, které mohou být důvodem snižování koncentrace C_{60} v extraktu za určitých podmínek. Prvním je dekompozice molekuly fullerenu během extrakce, která může mít různé důvody. Dalším možným procesem, který vede nízkým výtěžkům, je adsorpce na pevnou fázi (černé uhlí).

- Dekompozice molekuly C_{60}

Procesy, které mají vliv na stabilitu resp. dekompozici molekuly C_{60} jsou popsány v kapitole 2.2. Ukazuje se, že stabilita C_{60} jak v roztoku, tak v krystalickém stavu, je ovlivňována přítomností kyslíku, především O_3 . Vzniklé kyslíkaté addukty C_{60} jsou náchylnější k termální a fotochemické dekompozici než samotná molekula C_{60} (Chibante a Heymann, 1993). Prokázána je rovněž fotodisociace C_{60} v roztoku vlivem UV záření (Taylor a kol., 1991; Heymann a Chibante 1993). Práce Chibanteho a kol. (1993) ukazuje, že při zahřívání C_{60} v krystalickém stavu rovněž dochází k dekompozici C_{60} (v závislosti na teplotě a na čase). Tyto procesy se pak mohou více projevit při extrakci vzorku s nízkou koncentrací C_{60} (Jehlička a kol., 2005).

Fulleren C_{60} se chová jako elektronově deficitní polyen s 30 dvojnými vazbami, které jsou lokalizované - častými chemickými reakcemi jsou tedy radikálové adice na dvojně vazby v šestičetných kruzích C_{60} (Fagan a kol., 1992). Autoři popisují adice např. CH_3 , CH_3CH_2 , $CH_3CH_2CH_2$, $(CH_3)_2CH$ a benzylu na fulleren C_{60} . Také McEwen a kol. (1992) popisuje snadné adice alkylových radikálů na C_{60} . Není tedy vyloučeno, že radikálové reakce C_{60} se mohou podílet na degradačních procesech C_{60} při ultrazvukaci a mohou rovněž ovlivňovat adsorpci C_{60} na pevnou fázi (viz dále).

Experimenty, provedené v rámci této práce nenaznačují, že by docházelo k rozkladu molekuly C_{60} v roztoku samotným působením vyšší teploty (50, resp. 80 °C) při zahřívání roztoku C_{60} po dobu 3 hodin. Výsledky u vzorků, kde byl samotný roztok C_{60} vystaven působení ultrazvuku ukazují, že samotné ultrazvukové vlnění a kavitace spojená s působením ultrazvuku na toluen rovněž nezpůsobuje rozklad molekuly C_{60} .

Pokles koncentrace C_{60} v roztoku je však patrný po přidání alifatické frakce pentanového extraktu či toluenového extraktu z černého uhlí a ultrasonikaci v lázni Bandelin Sonorex - dá se předpokládat, že vyšší teplota, které je dosahováno v této lázni (~70 °C) může mít vliv na rychlost případných reakcí mezi fullereny a uhlovodíky. Roli zde však mohou hrát i jiné parametry při ultrasonikaci, které v ultrazvukové lázni nelze zcela přesně definovat (vzdálenost od zdroje ultrazvukového vlnění, výška hladiny vody).

Nicméně snížení koncentrace C_{60} vlivem působení organických látek v roztoku není ani v jednom případě zdaleka tak výrazné, jako při kontaktu z pevnou fází černého uhlí. Navíc v publikaci Jehličky a kol. (2005b) se ukazuje, že problém s nízkým výtěžkem C_{60} existuje stejně tak i při extrakci jiných materiálů než je uhlí – šungitu, grafitu a dokonce i křemene. Zdá se tedy, že ačkoli přítomnost organických molekul v extraktu může ovlivnit koncentraci C_{60} v roztoku, není tento vliv tak významný jako kontakt s pevnou fází.

Výsledkem modelové extrakce C_{60} (Jehlička a kol., 2005b) s použitím křemene jako pevné fáze, byl rovněž pokles koncentrace fullerenu v extraktu, zejména při nižších počátečních koncentracích C_{60} – 0,1 a 0,9 ppm. V suspenzi tedy nebyly přítomny alifatické či aromatické uhlovodíky, ani jiné organické látky, tak jako při extrakci C_{60} z černého uhlí. Rovněž specifický povrch a porozita křemene jsou ve srovnání s uhlíkatými materiály nízké a lze předpokládat, že adsorpce C_{60} na křemen zde nebude tak významná. Nabízí se tedy možnost, že dochází rovněž k dekompozici molekuly C_{60} za přítomnosti pevné fáze, nezávisle na přítomnosti organických látek.

- Adsorpce C_{60} na pevnou fází

Schopnost uhlí sorbovat fullereny vyplývá z publikace Inukai a kol. (1995), kteří zkoumali vhodnost různých typů uhlí (od 66,4 do 89,1 hm% C) pro chromatografickou separaci C_{60} a C_{70} . Autoři se domnívají, že rozhodujícím faktorem, který ovlivňuje separační vlastnosti uhlí, je porozita. Naopak aromaticita a tedy možné reakce typu π - π mezi fullereny a polyaromatickými uhlovodíky, nejsou podle autorů pro separaci významné. Autoři Jehlička a kol. (2005b) rovněž považují za významný vliv porozity černého uhlí na adsorpci C_{60} , zmiňují také možnou funkci aromatických struktur a kyslíku nasorbovaného na povrchu uhlí jako sorpčních míst pro fullereny během jejich extrakce. Vliv preextrakce černého uhlí na výtěžek C_{60} po následné ultrazvukaci, pozorovaný v předkládané práci, také nasvědčuje možné funkci organických látek v uhlí jako sorpčních míst pro C_{60} . Lepšího výtěžku bylo však dosaženo také po preextrakci pouze alifatických uhlovodíků. Preextrakce černého uhlí pouze v ultrazvukové lázni, kdy je vyextrahováno mnohem méně organických látek než při Soxhletově extrakci, neměla na výsledek v podstatě vliv, což jen potvrzuje předchozí řádky.

Podle Jehličky a kol. (2005b) může být chemisorpce prostřednictvím volných radikálů důležitým procesem, který snižuje koncentraci C_{60} ve výsledném extraktu. Výskyt radikálů na povrchu uhlíkaté hmoty by zvyšoval její reaktivitu vůči fullerenům. Tento proces lze v případě černého uhlí jako pevné fáze očekávat, vzhledem k obsahu kyslíku a vodíku v tomto materiálu. Dalším možným procesem je vznik fullerenuového radikálu, který pak snadněji reaguje s povrchem pevné fáze.

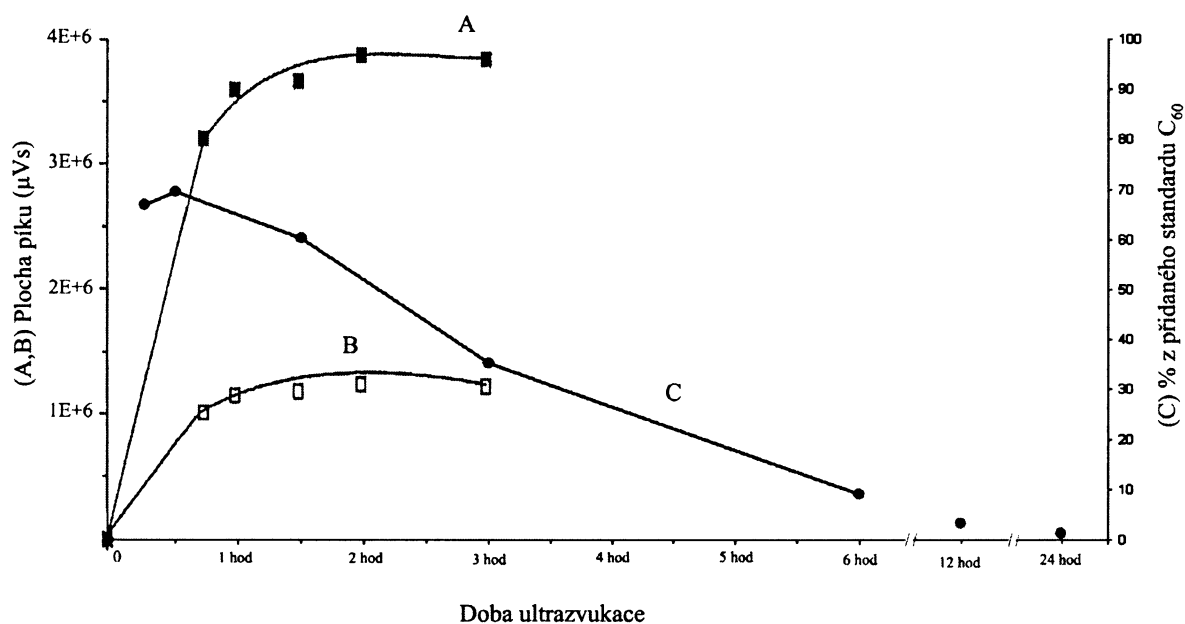
Z pokusů, provedených v této práci vyplývá, že ke ztrátě fullerenu C_{60} nedochází vlivem adsorpce na černé uhlí zachycené na filtru během filtrace extraktu, v případě, že je filtr promyt 10 ml čistého toluenu a nedojde k výraznému zanesení filtru. Testování probíhalo za podmínek, kdy hmotnost uhlí naneseného na filtru byla max. 0,1029g u diskového teflonového filtru a 0,1560 u skleněného filtru. Nelze vyloučit, že větší množství naneseného uhlí by mohlo negativně ovlivnit koncentraci C_{60} v extraktu. Promytí filtru toluenem se zdá být při zpracování důležité, jelikož lze očekávat existenci chromatografického efektu (Inukai a kol., 1995). Tomu nasvědčují i některé výsledky v této práci. U vzorků, kdy bylo při zpracování zapotřebí použít tři filtry (série pokusů, kdy byl testován vliv atmosféry N_2 při ultrasonikaci) byl promyt pouze jeden z filtrů – výtěžek byl pak nižší než při použití pouze jediného filtru.

Důležitým parametrem pro adsorpci fullerenů může být specifický povrch uhlí. Během ultrazvukové extrakce může docházet vlivem microjettingu (tento jev je popsán v kap. 4.1.) k rozbíjení pevných částic uhlí. Lze tak předpokládat, že dochází ke zvyšování specifického povrchu a možných sorpčních míst. Tento proces je z principu závislý na čase a může hrát významnou úlohu při poklesu koncentrace C_{60} s prodlužující se dobou ultrazvukace.

7.2.2. Vliv doby ultrazvukace

Z řady výsledků, odpovídajících různé době ultrazvukace vyplývá, že po ~ 30 minutách začíná docházet k poklesu koncentrace C_{60} v extraktu s prodlužující se dobou sonikace. Po 90 min ještě není pokles výrazný, ovšem tříhodinová sonikace již vedla k významnému poklesu koncentrace C_{60} v extraktu. Po 24 hodinách již nebylo v extraktu zaznamenáno detekovatelné množství C_{60} . Je tedy nasnadě se domnívat, že s prodlužující se dobou ultrazvukace se stále více projevují výše popsané vlivy. S delší dobou sonikace může docházet k rozbíjení částic uhlí vlivem proudového efektu (microjetting) způsobeného akustickou kavitací, vzrůstu specifického povrchu a tím sorpčních míst pevné fáze.

Je však třeba brát v úvahu, že v reálných geologických materiálech jsou fullereny dispergovány značně odlišným způsobem, než v takto připravených vzorcích, kdy k černému uhlí byl přidán standard C_{60} v roztoku. U přírodního materiálu s obsahem fullerenů lze předpokládat, že fullereny jsou pevněji vázány ve struktuře horniny – jak je popsáno výše, u karelského šungitu (Buseck a kol., 1992) i pevného bitumenu z Mítova (Jehlička a kol., 2003) se předpokládá uzavření fullerenů v mikro- a mezopórech uhlíkaté hmoty. Demineralizace či zpřístupnění pórů uhlíkaté hmoty, mohou být tedy kroky, jejichž zahrnutí do procesu izolace fullerenů z hornin může být podle Jehličky a kol. (2005b) důležité. U reálného geologického materiálu lze předpokládat odlišný průběh závislosti výtěžku extrakce na době ultrazvukace než je vidět na obr. 23. Lze očekávat průběh, kdy bude do jisté doby výtěžek vzrůstat, dosáhne maxima a dále bude klesat, tak jak bylo pozorováno v tomto experimentu. Takovému průběhu nasvědčuje také experiment, který provedli Cleempoel a kol. (1996). Autoři zkoumali časovou závislost výtěžku C_{60} při ultrazvukové extrakci C_{60} a C_{70} z fullerenových sazí (srovnání s daty získanými v této práci je na obr. 31). Výsledek ukazuje, že v případě sazí, kde jsou fullereny pevněji vázány v jejich struktuře, koncentrace C_{60} i C_{70} stoupá do doby sonikace asi 1 hod., poté roste již jen nepatrně či je spíše konstantní. Data pro dobu kratší než 45 min však nejsou v grafu vynesena, pouze extrapolována. Průběh závislosti koncentrace C_{60} v extraktu na době ultrazvukace zjištěný v předkládané práci je odlišný, což lze očekávat vzhledem ke způsobu přidávání standardu C_{60} k uhlí, kdy nebyly fullereny na začátku extrakce zcela nasorbovány na pevnou fázi uhlí. Fullerenové saze se liší od přírodních vzorků a také koncentrace fullerenů v sazích byly zhruba o čtyři řády vyšší, než koncentrace přidávané k uhlí v této práci. Pozorování vlivů dekompozice či adsorpce fullerenů tedy ani nelze očekávat.



Obr. 31: Vliv doby ultrazvukace na výtěžek C₆₀ (A) a C₇₀ (B) v toluenových extraktech z fullerénových sazí (Cleempoel a kol., 1996). Pro srovnání je vyobrazena závislost výtěžku C₆₀ na době sonikace, zjištěná na základě výsledků této práce (C), kdy koncentrace C₆₀ byla o čtyři řády nižší než u fullerénových sazí. Srovnávají se pouze trendy získaných souborů dat, nikoli skutečné hodnoty koncentrací. Obsah fullerénů v extraktech byl detekován v obou případech pomocí HPLC.

Jako důležitý poznatek při sledování výtěžku C₆₀ v závislosti na době ultrazvukace se jeví maximální doba, kdy ještě není patrný pokles výsledné koncentrace C₆₀ – tedy 30 min. K výrazným ztrátám nedochází ještě při ultrazvukaci trvající 90 min. Po 3 hodinách sonikace je však výsledná koncentrace v extraktu zhruba o polovinu nižší.

7.2.3. Vliv teploty vzorku při ultrazvukaci

Při nízkých teplotách extrakce, které se pohybují v okolí teploty maximální rozpustnosti C₆₀ 280 K (Ruoff a kol, 1993b), byla koncentrace C₆₀ v extraktu vyšší než při teplotách 290 – 310 K, kterých je běžně dosahováno v ultrazvukové lázni Tesla, není-li voda v lázni chlazená. Rozdíl ve výtěžku se projevoval více při delší době ultrazvukace. Tento jev nasvědčuje tomu, že za nižších teplot se zpomaluje kinetika procesů, vedoucích k úbytku C₆₀ v extraktu. V lázni Bandelin Sonorex, kde dochází k zahřátí vzorku na ~70 °C bylo dosaženo horších výsledků. Zde však může mít vliv řada jiných faktorů, spojených s akustickým vlněním, které nelze přesně definovat.

Akustická kavitace vzniká v případě, klesne-li lokální tlak v místě vzniku bubliny pod tlak nasycených par kapaliny. Jde tedy o jev, který je závislý na teplotě kapaliny a bude vznikat snadněji při vyšších teplotách. V případě suspenze toluenu a částic černého uhlí působí pevné částice jako diskontinuity, kde jsou vazby molekul v kapalině nejslabší a ke kavitaci tak naopak dochází snadněji (Suslick a kol., 1990). Vliv teploty na vznik kavitace by proto v takovém případě nemusel být zásadní. Pokud však ano, vliv na výtěžek v případě reálného vzorku, kde jsou fullerény zakomponovány do struktury

horniny, by mohl být spíše opačný. Efektivita extrakce při nižších teplotách by proto měla být dále ověřena.

7.2.4. Vliv N₂

Jako jeden z možných důvodů nízkých výtěžků extrakce byl uvažován vznik kyslíkatých adduktů C₆₀, proto byl testován vliv přítomnosti inertního plynu, konkrétně N₂, při ultrazvukaci. Experiment, kdy byla při ultrazvukaci nad vzorkem přítomna dusíková atmosféra, nepřinesl lepší výsledek než pokus bez atmosféry N₂. Výsledky ukazují spíše opak, důvodem však mohou být však technické problémy při oddělení extraktu. Pro zajištění dusíkové atmosféry byla pro tento experiment použita extrakční baňka se zábrusem, což zkomplikovalo následné oddělení extraktu od pevné fáze a výsledek tím mohl být ovlivněn. Zároveň došlo u dvou ze tří vzorků k zanesení filtrů a bylo tak nutné použít více filtrů pro filtraci extraktu, zanesené filtry nemohly být promyty toluenem, což mohlo také ovlivnit výsledek. U extraktů získaných ultrazvukací za současného probublávání vzorku dusíkem nebylo pozorováno zvýšení koncentrace C₆₀, ba naopak výtěžek byl výrazně nižší. Důležitým jevem, který byl pozorován především při ultrasonikaci se současným probubláváním dusíku do vzorku byl vliv na chování pevné fáze. Částice černého uhlí po ultrazvukaci sedimentovaly pomaleji, než v pokusu bez přísunu dusíku. Sedlina černého uhlí na dně kádinky pak byla výrazněji bahnitější. Tyto jevy nasvědčují tomu, že dochází k výraznějšímu rozbíjení a tedy zmenšování částic uhlí. To může být příčinou častějšího výskytu kavitace v důsledku přítomnosti bublin dusíku, které působí rovněž jako diskontinuity v kapalině a mohou tak vznik kavitace podporovat (Suslick a kol., 1990). Zvýšení specifického povrchu uhlí a snadnější sorpce C₆₀ může být proto v tomto případě důvodem výrazně horších výsledků.

7.2.5. Vliv demineralizace černého uhlí

Demineralizace horniny s nízkým podílem organického uhlíku před extrakcí je běžně užívaný postup při stanovení fullerenu v horninovém materiálu (Heymann a kol., 1994, 1996). Nejčastěji se demineralizace provádí pomocí HCl/HF, případně HF/BF₃ (Becker a kol, 1996; Elsila a kol., 2005). Heymann a kol. (1996) diskutují možnou ztrátu fullerenu během demineralizace sedimentů (modravě-šedý slín) z rozhraní křída/terciér z lokalit Sumbar a Malyi Balkhan (Turkmenistan), kdy u vzorků, které nebyly demineralizovány, byly identifikovány fullereny C₆₀ i C₇₀, naopak identifikovány nebyly v případě vzorků, kdy byly karbonáty nejdříve rozpuštěny v HCl a vzorky dále demineralizovány směsí HF/HCl. U jílovitých sedimentů z lokality Stevns Klint (Dánsko) tomu bylo naopak. V případě dalšího vzorku z lokality Sumbar (jedná se také o modravě-šedý slín) byly fullereny identifikovány u vzorku, který byl podroben pouze rozkladu karbonátu pomocí HCl. U neupraveného, ani u vzorku dále demineralizovaného nebyly fullereny detekovány. Autoři tedy vedle analýzy preparovaného vzorku doporučují vždy analýzu také nedemineralizovaného vzorku.

Frank (2005) provedl experiment, kdy k vzorku suevického horniny z kráteru Ries přidal C₆₀ o známé koncentraci. Vzorek byl demineralizován pomocí HF-HCl. Následnou ultrazvukovou extrakcí v toluenu byl získán výtěžek 88% C₆₀, což naopak ukazuje, že výsledek nebyl procesem demineralizace příliš ovlivněn. Výrazné rozdíly zaznamenal Elsila a kol. (2005) při detekci C₆₀ ve vzorcích demineralizovaných kyselinami HF/HCl a HF/BF₃. Jednalo se o horniny z impaktového kráteru Gardnos (Norsko) – v případě suevitu byl metodou SELDI zaznamenán výrazný signál C₆₀ u vzorku demineralizovaného metodou HF/BF₃, zatímco u vzorku demineralizovaného pomocí HF/HCl nebyl C₆₀ detekován. U uhlíkem bohaté černé brekcie naopak nebyla zjištěna přítomnost C₆₀ v případě

vzorku (10g) demineralizovaného pomocí HF/BF₃. Ve vzorku černé brekcie (18g) demineralizovaném metodou HF/HCl byl identifikován C₆₀ blízko detekčního limitu metody SELDI. Výsledek mohl být ovlivněn rozdílným množstvím vzorku.

V předkládané práci byla provedena demineralizace černého uhlí pomocí HF/HCl. Rozkladem minerálních složek černého uhlí bylo odstraněno asi 10 hm.% vzorku. Před demineralizačním procesem byl na uhlí nakapán standard C₆₀ v toluenovém roztoku a rozpouštědlo bylo poté na vzduchu odpařeno. Proces přidávání C₆₀ byl tedy odlišný od ostatních experimentů, což mohlo ovlivnit výsledný výtěžek, který byl zhruba 3x – 7x nižší než bez demineralizace a výsledky velice byly nesourodé. Vzhledem k extrémně nízké rychlosti sedimentace černého uhlí ve vodném prostředí celý proces probíhal asi 10 dní, případné degradační procesy či adsorpce C₆₀ na pevnou fázi, se tedy mohly projevit o to více. Demineralizace materiálu s vysokým podílem organické hmoty jako je černé uhlí v tomto případě nebyla přínosným krokem. Nelze však s jistotou říci, jaký je podíl jednotlivých zmíněných faktorů na celkově nízkém výtěžku C₆₀.

Zdá se tedy, že preparace organické hmoty rozpouštěním minerálního podílu horniny může vést v některých případech k výraznému zvýšení výtěžku, jindy zase naopak. Vhodnost demineralizace u konkrétního vzorku lze ze současnými znalostmi jen obtížně předpovídat. Výsledek také ovlivňuje konkrétní postup demineralizace, tedy zda je použito HF/HCl, HF/BF₃, či jsou rozpuštěny pouze karbonáty kyselinou chlorovodíkovou.

7.2.6. Shrnutí

Z dosažených výsledků je patrné, že koncentrace C₆₀ v extraktu z černého uhlí je závislá především na době ultrazvukace, teplotě vzorku, použité ultrazvukové lázni, menší vliv má také obsah organických látek v uhlí a způsob filtrace.

Před započítáním vlastní extrakce je třeba zvolit ultrazvukovou lázeň. Ze dvou testovaných se jeví lépe Tesla s parametry 50 kHz, 75 W, nelze však jasně interpretovat, proč tomu tak je. Pro zvýšení výtěžku C₆₀ při ultrazvukové extrakci je důležitá optimální volba doby ultrazvukace - na základě provedených experimentů lze doporučit spíše kratší dobu. Při použití ultrazvukové lázně se stejnými parametry jako testovaná Tesla se jeví jako nejlepší doba 30 min. Maximální dobou, kdy ještě nedochází k výraznému úbytku C₆₀ v extraktu je pak 90 min. Podchlazení vody v lázni na teplotu, kdy je rozpustnost C₆₀ v běžně užívaných rozpouštědlech (toluen, CS₂) nejvyšší, tedy ~280 K (Ruoff a kol., 1993b) vedlo v provedených experimentech k výrazně lepším výsledkům. Pozitivní vliv tohoto kroku lze předpokládat i v případě extrakce reálného geologického materiálu. Zjištěný byl též kladný přínos preextrakce černého uhlí pentanem při extrakci C₆₀. Je však třeba ověřit, zda i přes minimální rozpustnost C₆₀ v pentanu, nemůže docházet k jeho rozpouštění v tomto rozpouštědle při preextrakci horninového materiálu.

Pro filtraci extraktu lze doporučit teflonové (PTFE) filtry Millipore 0,45 μm. Aby bylo vyloučeno zachycení fullerenů na filtru, případně na částicích nanosené pevné fáze, je důležité jejich dostatečné promytí (10 ml rozpouštědla) po filtraci extraktu.

Demineralizace materiálu s vysokým podílem organického uhlíku, jako je použité černé uhlí, se neukázala jako vhodný krok. U vzorků s vysokým obsahem minerální fáze ovšem může být demineralizace pomocí HCl/HF, případně HF/BF₃ rozhodující pro identifikaci fullerenů v hornině (Elsila a kol., 2005). Pokud je k dispozici dostatečné množství vzorku, nejlepším řešením je extrakce jak demineralizovaného vzorku tak i vzorku neupraveného.

Opakovaná extrakce a centrifugace vzorku nepřinesly výrazné zlepšení výsledku extrakce a jejich zahrnutí do metodického postupu se zdá být neefektivní. Přítomnost dusíkové atmosféry či probublávání vzorku N₂ nelze doporučit.

7.3. A co dále?

Pro ověření vlivu akustické kavitace na částice uhlí by bylo vhodné zjistit jeho fyzikální parametry (povrch a objem mikro-, mezo- a makropórů, specifický povrch) po určité době ultrazvukace.

Pro další vylepšování metodiky analýzy fullerenu v horninách je žádoucí hlubší porozumění distribuce fullerenu v horninovém prostředí a způsob jejich zakomponování do struktury horniny. Dalším postupem při zkoumání extrahovatelnosti fullerenu z horniny by mohlo být vytvoření modelového vzorku, kde by fullereny byly silněji vázány ve struktuře použité matrice. Při extrakci fullerenu z takto připraveného materiálu by mohly být využity a ověřeny informace, získané v této práci. Jiným možným postupem s důrazem na ověření získaných výsledků by mohla být ultrazvuková extrakce fullerenu z sazí. Optimálním řešením je otestování zjištěných nejlepších podmínek při ultrazvukové extrakci horninového materiálu s přirozeným obsahem fullerenu, kde byly fullereny opakovaně identifikovány (vzorky ze Sudbury, rozhraní K/T). Provedení tohoto experimentu je dále plánováno.

Kromě hornin z impaktové struktury Sudbury, sedimentů z rozhraní křída/terciér a také perm/trias, je v dalším stadiu výzkumu fullerenu v horninách v rámci naší skupiny plánováno studium hornin z hlubokých vrtů v oblasti Karelíe v Rusku.

8. Závěr

Náplní této diplomové práce bylo otestovat vliv jednotlivých podmínek při ultrazvukové extrakci fullerenu z hornin na výsledný výtěžek C_{60} . Práce vychází z poznatků, které byly zjištěny Jehličkou a kol. (2005b), kdy bylo ověřeno, že extrakce C_{60} z horninových materiálů není kvantitativní a při nízkých iniciálních koncentracích C_{60} je výtěžek často pod 5% z přidaného standardu C_{60} .

Ze srovnání dvou ultrazvukových lázní – Tesla (50 kHz, 75 W) a Bandelin Sonorex (35kHz, 160/320 W) poskytla lepší výsledky lázeň Tesla, ve které byla tudíž provedena většina experimentů. Z řady pokusů, které byly provedeny v rámci této práce se ukazuje, že při ultrazvukaci černého uhlí s přidaným C_{60} je koncentrace fullerenu v extraktu závislá na době ultrazvukace, kdy při době delší než 30 minut dochází k jejímu poklesu a po 24 hodinách již v extraktu nebylo obsaženo detekovatelné množství C_{60} . Také bylo zjištěno, že výsledná koncentrace C_{60} v extraktu je vyšší, probíhala-li ultrazvukace za teplot 280 – 285 K, rovněž pokles koncentrace C_{60} s prodlužující se dobou ultrazvukace je při těchto teplotách pomalejší. Mírné zlepšení přinesla preextrakce černého uhlí pentanem a pentanem + toluenem Soxhletovou extrakcí na systému Soxtec, naopak preextrakce uhlí ultrazvukovou extrakcí v toluenu neměla na výsledek, vliv. Opakovanou tříhodinovou extrakcí bylo dosaženo jen nepatrného výtěžku $< 0,4\%$ C_{60} . Pro filtraci extraktu se ukázaly být o něco vhodnější teflonové filtry, ve srovnání s filtry skleněnými. Během filtrace extraktu zřejmě dochází k retenci fullerenu na filtru zaneseném černým uhlím, ovšem při dostatečném propláchnutí filtru toluenem (zde bylo použito 10 ml) nedochází ke ztrátě C_{60} při filtraci.

Významné zlepšení výsledku nebylo pozorováno při provedení centrifugace vzorku po ultrazvukaci. Také nebyl zaznamenán významný vliv dusíkové atmosféry při ultrazvukaci na celkový výtěžek C_{60} . Výrazný pokles koncentrace C_{60} byl identifikován u experimentu, kdy byl vzorek během sonikace probubláván dusíkem a dále u pokusu, kdy bylo černé uhlí před ultrasonikací demineralizováno.

Rovněž byla zkoumána stabilita C_{60} v roztoku bez přítomnosti pevné fáze v závislosti na zvýšené teplotě, působení ultrazvuku a také přítomnosti organických látek vyextrahovaných z uhlí. Po tříhodinové ultrasonikaci roztoku C_{60} (2 ppm) a frakce nasycených uhlovodíků v lázni Bandelin Sonorex, $t = \sim 70$ °C, klesla koncentrace fullerenu v roztoku na $88,62\% \pm 6,07$. Při totožných podmínkách a přítomnosti toluenového extraktu v roztoku bylo snížení koncentrace C_{60} ještě patrnější - $83,05\% \pm 5,13$. Pokles koncentrace C_{60} v přítomnosti pevné fáze uhlí byl však mnohem větší a zdá se tedy, že úbytek C_{60} je způsoben především adsorpcí na pevnou fázi.

Experimenty provedené v této práci pomohly identifikovat některé jevy, které ovlivňují koncentraci C_{60} v extraktu. Byly stanoveny podmínky ultrazvukace, při kterých byl výtěžek C_{60} nejvyšší – doba ultrazvukace 30 min, při teplotě 280-285 K v lázni Tesla - 50 kHz, 75 W, extrakt byl filtrován přes PTFE filtry, $0,45\ \mu\text{m}$ (Millipore), uhlí bylo preextrahováno pentanem. Tento postup lze doporučit pro extrakci C_{60} z hornin. Pro další ověření metody by bylo vhodné postup aplikovat nelépe na přírodní materiál, ve kterém již byly fullereny identifikovány.

9. Použitá literatura

Ajie, H., Alvarez, M. M., Anz, S. J., Beck, R. D., Diederich, F., Fostiropoulos, K., Huffman, D. R., Krätschmer, W., Rubin, Y., Schriver, K. E., Sensharama, D., Whetten, R. L., 1990. Characterization of the Soluble All-Carbon Molecules C₆₀ and C₇₀. *Journal of Physical Chemistry*, **94**, 8630-8633.

Alvarez, L., Alvarez, W., Asaro, A. F., Michel, H. V., 1980. Extraterrestrial cause for the Cretaceous/Tertiary extinction. *Science*, **208**, 1095-1108.

Becker, L., Bada, J. L., Winans, R. E., Bunch, T. E., 1994a. Fullerenes in the Allende Meteorite. *Nature*, **372**, 507.

Becker, L., Bada, J. L., Winans, R. E., Hunt, J. E., Bunch, T. E., French, B. M., 1994b. Fullerenes in the 1,85-Billion-Year-Old Sudbury Impact Structure. *Science*, **265**, 642-645.

Becker, L., Bada, J. L., Bunch, T. E., 1995. PAHs, fullerenes and fulleranes in the Allende meteorite (abstract). *Lunar Planetary Science*, **26**, 85-86.

Becker, L., Poreda, R. J., Bada, J. L., 1996. Extraterrestrial helium trapped fullerenes in the Sudbury impact structure. *Science*, **272**, 249-252.

Becker, L., Bunch, T. E., 1997. Fullerenes, fulleranes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Allende meteorite. *Meteoritics & Planetary Science*, **32**, 479-487.

Becker, L., Poreda, R. J., Bunch, T. E., 2000. Fullerenes: An extraterrestrial carbon carrier phase for noble gases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 2979-2983.

Becker, L., Poreda, R. J., Hunt, A. G., Bunch, T. E., Rampino, M., 2001. Impact event at the Permian-Triassic boundary: evidence from extraterrestrial noble gases in fullerenes. *Science*, **291**, 1530-1533.

Bethune, D. S., Meijer, G., Tang, W. C., Rosen, H. J., Golden, G., Seki, H., Brown, Ch. A., de Vries, M. S., 1991. Vibrational Raman and infrared spectra of chromatographically separated C₆₀ and C₇₀ fullerene clusters. *Chemical Physics Letters*, **179**, 181-186.

Buseck, P. R., Tsipurski, S. J., Hettich, R., 1992. Fullerenes from the geological environment. *Science*, **257**, 215-217.

Buseck, P. R., Tsipursky, S. J., 1995. Origins of fullerenes in rocks, Reply to comment. *Science*, **268**, 1635.

Buseck, P. R., Galdobina, L. P., Kovalevski, V. V., Rozhkova, N. N., Valley, J. W., Zaidenberg, A. Z., 1997. Shungites: the C-rich rocks of Karelia, Russia. *Canadian mineralogist*, **35**, 1363-1378.

Buseck, P. R., 2002. Geological fullerenes: review and analysis. *Earth and Planetary Science Letters*, **203**, 781-792.

- Cabrera, K., Wieland, G., Schäfer, M., 1993. High-performance liquid chromatographic separation of fullerenes (C₆₀ and C₇₀) using chemically bonded γ -cyclodextrin as stationary phase. *Journal of Chromatography*, **644**, 396-399.
- Cleempoel, Van A., Gijbels, R., Zhu, D., Claeys, M., Richter, H., Fonseca, A., 1996. Quantitative determination of C₆₀ and C₇₀ in soot extracts by high performance liquid chromatography and mass spectrometric characterization. *Fullerene Science and Technology*, **4**, 1001-1017.
- Cuesta, A., Martínez-Alonso, A., Torres, M. R., Tascón, J. M. D., 1992. *Carbon '92 Proceedings*, DKG: Essen, Germany, 1992, str. 804.
- Daly, T. K., Buseck, P. R., Williams, P., Lewis, Ch., F., 1993. Fullerenes from a Fulgurite. *Science*, **259**, 1599-1601.
- David, W. I. F., Ibberson, R. M., Matthewmann, J. C., Prassides, K., Dennis, T. J. S., Hare, J. P., Kroto, H. W., Taylor, R., Walton, D. R. M., 1991. Crystal structure and bonding of ordered C₆₀. *Nature*, **353**, 147-149.
- David, W. I. F., Ibberson, R. M., Dennis, T. J. S., Hare, J. P., Prassides, K., 1992. Structural phase transitions in the fullerene C₆₀. *Europhysical Letters*, **18**, 735-736.
- de Vries, M. S., Reihs, K., Wendt, H. R., Golden, W. G., Hunziker, H. E., Fleming, R., Peterson, E., Chang, S., 1993. A search for C₆₀ in carbonaceous chondrites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **57**, 933-938.
- Di Brozolo, R. F., Bunch, T. E., Fleming, R. H., Macklin, J., 1994. Observation of fullerenes in an LDEF impact crater. *Nature*, **369**, 37-40.
- Ebbesen, T. W., Hiura, H., Hedenquist, J. W., Deronde, C. E. J., Andersen, A., Often, M., Melezhik, V. A., 1995. Origins of fullerenes in rocks. *Science*, **268**, 1634-1635.
- Ehrenfreund, P., and Foing, B., H. 1995. Search for fullerenes and PAHs in the diffuse interstellar medium. *Planetary and Space Science*, **43**, 1183-1187.
- Eletskii, A. V., Smirnov, B. M., 1995. Fullerenes and carbon structures. *Physics – Uspekhi*, **38**, 935-964.
- Elsila, J. E., de Leon, N. P., Plows, L., Buseck, P. R., Zare, R. N., 2005. Extracts of impact breccia samples from Sudbury, Gardnos, and Ries impact craters and the effects of aggregation on C₆₀ detection. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **69**, 2891-2899.
- Fagan, P. F., Chase, B., Calabrese, J. C., Dixon, D. A., Harlow R., Krusic, P. J., Matsuzawa, N., Tebbe, F. N., Thorn, D. L., Wasserman, E., 1992. Some well characterized chemical reactivities of Buckminsterfullerene (C₆₀). *Carbon*, **30**, 1213-1226.
- Fang, P. H., Wong, R., 1997. Evidence for fullerene in a coal of Yunnan, Southwestern China. *Materials Research Innovations*, **1**, 130-132.
- Farley, K. A., Mukhopadhyay, S., 2001. An extraterrestrial impact at the Permian-Triassic boundary?. *Science*, **293**, 2343.

- Foing, B. H., Ehrenfreund, P., 1994. Detection of interstellar absorption-bands coincident with spectral features of C-60(+). *Nature*, **369**, 296-298.
- Frank, O., Jehlička, J., Rouzaud, J.-N., Bény, J.-M., Svatoš, A., 2004. Evaluation of solid state methods to Detect Fullerenes in Geological Materials. Abstr. Carbon, 2004, Providence, RI. 53.
- Frank, O., 2005. *Origin of Fullerenes in Rocks*. Doktorská práce, Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů, PřF UK, Praha, 194 str.
- Frank, O., Jehlička, J., Hamplová, V., Svatoš, A., 2005. Search for Fullerenes in Rocks from the Ries Impact Crater. *Meteoritics and Planetary Science*, **40**, 307-314.
- Furton, K. G., Jolly, E., Pentzke, G., 1993. Recent advances in the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes. *Journal of Chromatography*, **642**, 33-45.
- Greenwood, P. F., Strachan, M. G., El-Nakat, H. J., Willett, G. D., Wilson, M. A., Attalla, M. I., 1990. Laser ablation Fourier transform mass spectrometric investigation of coals and model materials. *Fuel*, **69**, 257-260.
- Gu, Y., Wilson, M. A., Fisher, K. J., Dance, I. G., Willett, G. D., Ren, D., Volkova, I. B., 1995. Fullerenes and shungite. *Carbon*, **33**, 862-863.
- Guldi, D. M., 2001. Fullerenes. In Moore, J.H.; Spencer, N.D. (eds.). *Encyclopedia of Chemical Physics and Physical Chemistry*. Volumes 1 - 3. Institute of Physics.
- Haddon, R. C., 1988. π -electrons in three dimensions. *Accounts Chemical Research*, **21**, 243-249.
- Haddon, R. C., 1993. Chemistry of the fullerenes: manifestation of strain in a class of continuous aromatic molecules. *Science*, **261**, 1545-50.
- Hainey, P. A., Fischer, J., McGhie, A., Romanow, W. J., Denenstein A. M., McCauley, J. P., Smith, A. B. III, Cox, D. E., 1991. Orientational ordering transition in solid C₆₀. *Physical Review Letters*, **67**, 1468.
- Hayney, P. A., 1992. Structure, Dynamics and Ordering Transition of Solid C₆₀. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, **53**, 1333-1352.
- Hare, J. P., Kroto, H. W., Taylor, R., 1990. Preparation and UV/visible spectra of fullerenes C₆₀ and C₇₀. *Chemical Physics Letters*, **177**, 394-398.
- Hawkins, J. M., Meyer, A., Lewis, T. A., Loren, S., Hollander, F. J., 1991. Crystal – structure of osmylated C₆₀ – confirmation of the soccer ball framework. *Science*, **252**, 312-313.
- Hedberg, K., Hedberg, L., Bethune, D. S., Brown, C. A., Dorn, H. C., Johnson, R. D., de Vries, M., 1991. Bond lengths in free molecules of buckminsterfullerene, C₆₀, from gas-phase electron-diffraction. *Science*, **254**, 410-412.
- Hettich, R. L., Buseck, P. R., 1996. Concerning fullerenes in shungite. *Carbon*, **5**, 685-687.

- Heymann D., Chibante, L. P. F., 1993. Photo-transformations of C₆₀, C₇₀, C₆₀O and C₆₀O₂. *Chemical Physics Letters* **207**, 339-342.
- Heymann, D., Wolbach, W. S., Chibante, L. P. F., Brooks, R. R., Smalley, R. E., 1994. Search for extractable fullerenes in clays from the Cretaceous/Tertiary boundary of the Woodside Creek and Flaxbourne River sites, New Zealand. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**, 3531-3534.
- Heymann, D., 1995. Search for ancient fullerenes in anthraxolite, shungite and thucholite. *Carbon*, **268**, 1634-1635.
- Heymann, D., Chibante, L. P. F., Smalley, R. E., 1995. Determination of C₆₀ and C₇₀ fullerenes in geologic materials by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **689**, 157-163.
- Heymann, D., 1996. Solubility of C₆₀ in alcohols and alkanes. *Carbon*, **34**, 627-631.
- Heymann, D., Korochantsev, A., Nazarov, M. A., Smit, J., 1996. Search for fullerenes C₆₀ and C₇₀ in Cretaceous-Tertiary boundary sediments from Turkmenistan, Kazakstan, Georgia, Austria, and Denmark. *Cretaceous Research*, **17**, 367-380.
- Heymann, D., 1997. Fullerenes and fulleranes in meteorites revisited. *The Astrophysical Journal*, **489**, L111-L114.
- Heymann, D., Yancey, T. E., Wolbach, W. S., Thiemens, M. H., Johnson, E. A., Roach, D., Moecker, S., 1998. Geochemical markers of the Cretaceous-Tertiary boundary event at Brazos River, Texas, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **62**, 173-181.
- Heymann, D., Dressler, B. O., Knell, I., Thiemens, M. H., Buseck, P. R., Dunbar, R. B., Mucciarone, D., 1999. Origin of carbonaceous matter, fullerenes, and elemental sulfur in rocks of the Whitewater Group, Sudbury impact structure, Ontario, Canada. In *Large Meteorite Impacts and Planetary Evolution II*. Dressler, B. O., Sharpton, V. L., Eds. *Special Paper*, **339**, Geological Society of America, 345-360.
- Heymann, D., Jenneskens, L. W., Jehlička, J., Koper, C., Vlietstra, E., 2003. Terrestrial and Extraterrestrial Fullerenes. *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures*, **11**, 333-370.
- Hildebrand, A. R., Penfield, G. T., Kring, D. A., Pilkington, M., Jacobsen, S., Boynton, W. V., 1991. The Chicxulub crater: a possible Cretaceous-Tertiary boundary impact crater on the Yucatán Peninsula, Mexico. *Geology*, **19**, 867-871.
- Chibante, L. P. F., Chenyu, P., Pierson, M. L., Haufler, R. E., Heymann, D., 1993. Rate of decomposition of C₆₀ and C₇₀ heated in air and the attempted characterization of the products. *Carbon*, **31**, 185-193.
- Chibante, L. P. F., Heymann, D., 1993. On the geochemistry of fullerenes: Stability of C₆₀ in ambient air and the role of ozone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **57**, 1879-1881.
- Chijiwa, T., Arai, T., Sugai, T., Shinohara, H., Kumazawa, M., Takano, M., Kawakami, S., 1999. Fullerenes found in the Permo-Triassic mass extinction period. *Geophysical Research Letters*, **26**, 767-770.

Inukai, Y., Attalla, M. I., Pang, L. S. K., Wilson, M. A., 1995. Separation of fullerenes by chromatography on coal. *Fuel*, **74**, 83-87.

Jehlička, J., 1994. Etude structurale de matières organiques soumises à des processus métamorphiques. **238**, Editions BRGM Orléans, str.1-230.

Jehlička, J. a Rouzaud, J.-N., 1992. Glass-like carbon: New type of natural carbonaceous matter from precambrian rocks. *Carbon*, **30**, 1133-1134.

Jehlička, J., Ozawa, M., Slanina, Z., Osawa, E., 2000. Fullerenes in solid bitumens from pillow lavas of Precambrian Age (Mítov, Bohemian Massif). *Fullerene Science and Technology*, **18**, 449-452.

Jehlička, J., Svatoš, A., Frank, O., Uhlík, F., 2003. Evidence for fullerenes in solid birumen from pillow lavas of Proterozoic age from Mítov (Bohemian Massif, Czech Republic). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **67**, 1495-1506.

Jehlička, J., Frank, O., Pokorný, J., Rouzaud, J. N., 2005a. Evaluation of Raman spectroscopy to detect fullerenes in geological materials. *Spektrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **61**, 2364-2367.

Jehlička, J., Frank, O., Hamplová, V., Pokorná, Z., Juha, L., Boháček, Z., Weishauptová, Z., 2005b. Low extraction recovery of fullerene from carbonaceous materials spiked with C₆₀. *Carbon*, **43**, 1909-1917.

Kano, S., Kohno, M., Sakiyama, K., Sasaki, S., Aya, N., Shimura, H., 2003. Irradiation of CW-CO₂ laser on a powder target. Formation of fullerene film from graphite powder. *Chemical Physics Letters*, **378**, 474-480.

Kele, M., Compton, R. N., Guiochon, G., 1997. Optimization of the high-performance liquid chromatographic separation of fullerenes using 1-methylnaphtalene as the mobile phase on a tetraphenylporphyrin-silica stationary phase. *Journal of Chromatography A*, **786**, 31-45.

Kon'kov, O. I., Terukov, E. I., Pfauder, N., 1994. Fullerenes in shungite. *Physics-Solid State*, **36**, 1685-1686.

Krätschmer, W., Lamb, L. D., Fostiropoulos, K. and Huffman, D. R., 1990. Solid C₆₀: A new form of carbon. *Nature*, **347**, 354 - 358.

Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., Smalley, R. E., 1985. Buckminsterfullerene. *Nature*, **318**, 162-163.

Kroto, H. W., Allaf, A. W. and Balm, S. P., 1991. C₆₀: Buckminster fullerene. *Chem. Rev.* **91**, 1213 - 35.

Masterov, V. F., Chudnovski, F. A., Kozyrev, S. V., Zaidenberg, A. Z., Rozhkova, N. N., Podosenova, N. G., Stefanovich, G. B., 1994. Microwave absorption in fullerene-containing shungites. *Molecular Materials*, **4**, 213-216.

Mauser, H., van Eikema Hommes, N. J. R., Clark, T., Hirsch, A., Pietzak, B., Weidinger, A., Dunsch, L., 1997. Stabilization of atomic nitrogen inside C₆₀. *Angewandte Chemie International Edition in English*, **36**, 2835-2838.

McEwen, Ch, N., McKay, R. G., Larsen, B. S., 1992. C₆₀ as a Radical Sponge. *American Chemical Society*, **114**, 4412-4414.

Melezhik, V., Fallick, A., 2000. Isotopic Evidence for Biological origin of Shungite, Generation of Petroleum and ¹³C Depleted Nature of Initial Biomass at 2.0 Ga ago. In: *Journal of Conference Abstracts*, Goldschmidt, Oxford (UK), September 3rd-8th, 2000, Volume 5, str. 701.

Mossman, D., Eigendorf, G., Tokaryk, D., Gauthier-Lafaye, F., Guckert, K. D., Melezhik, V., Farrow, C. E. G., 2003. Testing for fullerenes in geologic materials: Oklo carbonaceous substances, Karelian shungites, Sudbury Black Tuff. *Geology*, **31**, 255-258.

Neppiras, E. A., 1980. Acoustic cavitation. *Physics Reports*, **61**, 159-251.

Oberlin, A., 2002. Pyrocarbons. *Carbon*, **40**, 7-24.

Ohta, H., Saito, Y., Nagae, N., Pesek, J. J., Matyska, M. T., Jinno, K., 2000. Fullerenes separation with monomeric type C₃₀ stationary phase in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **883**, 55-66.

Onuska, F. I., Terry, K. A., 1995. Microwave extraction in analytical – chemistry of pollutants – polychlorinated – biphenyls. *Journal of High Resolution Chromatography*, **18**, 417-421.

Opekar, F., Jelínek, I., Rychlovský, P., Plzák, Z., 2002. *Základní analytická chemie*. Univerzita Karlova v Praze – Nakladatelství Karolinum, Praha, 201 str.

Osterrothová – Tlustá, K., 1999. Geochemie rozpustného podílu organické hmoty zvětrávajících uhlí. Diplomová práce, Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů, PŘF UK, Praha, 96 str.

Parthasarathy, G., Srinivasan, R., Vairamani, M., Ravikumarf, K., Kunwar, A. C., 1998. Occurrence of natural fullerenes in low grade metamorphosed Proterozoic shungite from Karelia, Russia. *Geochemica et Cosmochemica Acta*, **62**, 3541-3544.

Pizzarello, S., Huang, Y., Becker, L., Poreda, R. J., Nieman, R. A., Cooper, G., Williams, M., 2001. The organic content of the Tagish Lake meteorite. *Science*, **293**, 2236-2239.

Qiu, J. S., Yang, Z. G., Wang, N. L., Zhang, F., Tsang, S. C., Harris, P. J. S., 2000. Preparation of fullerenes from several Chinese coals. *Molecular Materials*, **73**, 377-384.

Richter, H., Taghizadeh, K., Grieco, W. J., Lafleur, A. L., Howard, J. B., 1996. *Journal of Physical Chemistry*, **100**, 19603.

Rouseaux, F. and Tchoubar, D., 1977. Structural evolution of glassy carbon as a result of thermal treatment between 1000 and 2700°C: II. Tridimensional configuration of a glassy carbon. *Carbon*, **15**, 63-68.

Ruoff, R. S., Tse, D. S., Malhotra, R., Lorents, D. C., 1993a. Solubility of C₆₀ in variety of solvents. *Journal of Physical Chemistry*, **97**, 3379-3383.

Ruof, R. S., Malhotra, R., Huestis, D. L., Tse, D.S, Lorents, D. C., 1993b. Anomalous solubility behaviour of C₆₀. *Nature*, **362**, 140-141.

Sivaraman, N.; Dhamodaran, R., Kaliappan, I., Srinivasan, T. G., Vasudeva Rao, P. R., Mathews, C. K., 1992. Solubility of C₆₀ in organic solvents. *Journal of Organic Chemistry*, **57**, 6077-6079.

Taylor, R., Parsons, J. P., Avent, A. G., Rannard, S. P., Dennis, T. J., Hare, J. P. Kroto, H. W., Walton, D. R. M., 1991. Degradation of C₆₀ by light. *Nature*, **351**, 277.

Taylor, R., Abdul-Sada, A. K., 2000. There are no fullerenes in the K-T boundary layer. *Fullerene Science and Technology*, **8**, 47-54.

Tomanek, D., Schluter, M. A., 1991. Growth regimes of carbon clusters, *Physical Review Letters*, **67**, 2331-2334.

Treubig Jr., J. M. and Brown, P. R., 2002. Analysis of C₆₀ and C₇₀ fullerenes using high-performance liquid chromatography-Fourier transform infrared spektroskopy. *Journal of Chromatography A*, **960**, 135-142.

Urban, O., 1998. Organické produkty uvolňované z hald hnědého a černého uhlí během zvětrávání. Diplomová práce, Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů, PřF UK, Praha, 116 str.

Vantendeloo, G., Vanheurck, C., Vanlanduyt, J., Amelinckx, S., Verheijen, M. A., Vanloosdrecht, P. H. M., Meijer, G., 1992. Phase-Transitions in C₆₀ and the Related Microstructure – a Study by Electron-Diffraction and Electron-Microscopy. *Journal of Physical Chemistry*, **96**, 7424-7430.

Veselovskii, V. S., 1960. *Grafit* (Graphite), Moscow: Nauka.

Webster, A. S., 1991. Comparison of a calculated spectrum of C₆₀H₆₀ with the unidentified astronomical infrared emission features, *Nature*, **352**, 412.

Webster, A. S., 1992. Fullerenes, fullerenes and the interstellar extinction. *Astronomy and Astrophysics*, **257**, 750-756.

Weston, A., Murthy, M., 1996. Synthesis of fullerenes: an effort to optimize process parameters. *Carbon*, **34**, 1267-1274.

Wolbach, W. S., Lewis, R. S., Anders, E., 1985. Cretaceous extinctions: evidence for wildfires and search for meteoritic material. *Science*, **230**, 167-170.

Xie, S. Y., Deng, S. L., Yu, L. J., Huang, R. B., Zheng, L. S., 2001. Separation and identification of perchlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes (C₆₀, C₇₀) by coupling high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorption spectroscopy and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **932**, 43-53.

Yoshida, A., Kaburagi, Y., Hishiyama, Y., 1991. Microtexture and magneto resistance of glass-like carbons. *Carbon*, **29**, 1107-1111.

Youngman, M. J. and Green, D. B., 1999. Microwave-assisted extraction of C₆₀ and C₇₀ from fullerene soot. *Talanta*, **48**, 1203-1206.

Internetové zdroje:

<http://www.scs.uiuc.edu/suslick/britannica.html>, 14. 4. 2006.

<http://home.att.net/~Berliner-Ultrasonics/u-s.html>, 14. 4. 2006.

Přílohy

Tabulky s výsledky jednotlivých experimentů (kromě tabulek, které jsou uvedeny v kapitole Výsledky):

Filtrace extraktu

Vzorek	Filtr	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
U-1C	filtrace extraktu filtry PTFE 0,45 μm (Millipore)	26,96%
U-1A		35,11% ± 12,78
U-1B		36,79%
U-5C	filtrace extraktu skleněnými filtry 1 μm (Millipore)	19,03%
U-5B		23,94% ± 7,64
U-5A		24,91%

Tab. 13: filtrace extraktu teflonovými filtry 0,45 μm (Millipore) a filtry skleněnými 1 μm (Millipore). Výsledek 35,11% ± 12,78 je srovnáván s řadou dalších výsledků (především v grafech), jelikož se jedná o jeden z prvních výsledků, ze kterého se vycházelo. Ultrazvukace černého uhlí s přidaným standardem C₆₀ probíhala 3 hodiny v lázni Tesla, při teplotě 290 – 310 K.

Srovnání dvou ultrazvukových lázní

Vzorek	Použitá lázeň	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
LC-1	ultrazvukace č. uhlí s přidaným standardem C ₆₀ v lázni B. Sonorex, 3 hod	8,04%
L-1		9,64% ± 2,18
LB-1		9,72%
U – 1C	ultrazvukace č. uhlí s přidaným standardem C ₆₀ v lázni Tesla, 3 hod	26,96%
U – 1A		35,11% ± 12,78
U – 1B		36,79%

Tab. 14: Koncentrace C₆₀, získané po tříhodinové ultrazvukaci v lázni Tesla (50 kHz, 75 W) a lázni Bandelin Sonorex (35 kHz, 160/320W).

Opakovaná extrakce

Vzorek	Fáze ultrazvukace	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
U – 1C	1. Fáze - ultrazvukace č. uhlí s přidaným standardem C ₆₀ , 3 hod	26,96%
U – 1A		35,11% ± 12,78
U – 1B		36,79%
U – 2A	2. fáze - opakovaná ultrazvukace, 3 hod	0,20%
U – 2C		0,35% ± 0,32
U – 2B		0,45%
U – 3C	3. fáze - další opakovaná ultrazvukace, 3 hod	0,068%
U – 3A		0,075% ± 0,009
U – 3B		0,075%
U – 4C	4. fáze - další opakovaná ultrazvukace, 3 hod	0,18%
U – 4B		0,20% ± 0,09
U – 4A		0,25%

Tab. 15: výsledky tříhodinové ultrazvukace černého uhlí s přidaným standardem C₆₀ a následných opakovaných extrakcí.

Ultrazvukace při T = 280-285K

Vzorek	doba ultrazvukace	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
NTC -1	3 hod při 280-285K	57,08%
NT - 1		63,88% ± 8,20
NTB -1		65,17%
NTC - 2	30 min při 280-285K	73,32%
NT - 2		76,82% ± 10,51
NTB - 2		79,63%

Tab. 16: Výsledky ultrazvukace černého uhlí s přidaným standardem C₆₀ za nízkých teplot (280-285 K) a době sonikace 30 min resp. 3 hod.

Vliv preextrakce černého uhlí

Vzorek	Uhlí	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
EU-3	ultrazvukované 3 hod	27,50
EU-2		32,82 ± 9,56
EU-1		34,85
PEB - 1	preextrahované pentanem	41,07%
PE - 1		45,72% ± 15,77
PEC - 1		53,20%
TLEC-1	preextrahované pentanem a toluenem	46,00%
TLEB-1		49,59% ± 6,16
TLE-1		50,74%

Tab. 17: Výsledky, které přinesla ultrazvukace černého uhlí s přidáním C₆₀, kdy bylo uhlí nejprve osnikováno v čistém toluenu, dále kdy bylo preextrahováno pentanem a také pentanem + toluenem.

Podmínky, které nevedly k lepším výsledkům

Vzorek	Sledovaný vliv	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
CS - 1	centrifugace vzorku po ultrazvukaci	34,05%
CSB - 1		36,07% ± 11,14
CSC - 1		42,62%
N-1	atmosféra N ₂ nad vzorkem při ultrazvukování	20,76%
NC-1		23,83% ± 16,43
NB-1		33,40%
N - 2	probublávání N ₂ do suspenze vzorku při ultrazvukování	11,97%
NB -2		18,15% ± 8,59
NC - 2		18,58%
DMUB-1	demineralitace černého uhlí před ultrazvukovou extrakcí	4,94%
DMUC-1		6,07% ± 6,63
DMU-1		10,04%

Tab. 18: Souhrn výsledků, kdy byly testovány podmínky ultrazvukové extrakce, které nakonec nevedly ke zvýšení výtěžku C₆₀.

Vliv teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických látek na koncentraci C₆₀ v roztoku

Vzorek	Experiment	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
H-1	Zahřívání roztoku C ₆₀ na 50°C	95,32%
HC-1		95,80% ± 2,78
HB-1		97,46%
SL1	Zahřívání roztoku C ₆₀ na 80°C	96,10%
SLC-1		96,63% ± 2,78
SLB-1		98,24%
S-1	ultrazvukace roztoku C ₆₀ v lázni Tesla při teplotě 20-40°C	93,70%
SB-1		95,46% ± 2,59
SC-1		95,69%
SPUB – 1	ultrazvukace roztoku C ₆₀ v lázni Tesla při teplotě 20-40°C	94,53%
SPU – 1		95,00% ± 0,61
SPUC - 1		95,00%
SPUB-2	ultrazvukace roztoku C ₆₀ + frakce nasycených uhlovodíků v lázni B. Sonorex při teplotě ~75°C	88,26%
SPU-2		88,62% ± 6,07
SPUC-2		92,93%
STUC-1	ultrazvukace roztoku C ₆₀ + toluenový extrakt č. uhlí v lázni B. Sonorex při teplotě ~75°C	82,82%
STU-1		83,05% ± 5,13
STUB-1		86,77%

Tab. 19: test vlivu teploty, ultrazvukace a přítomnosti organických látek na koncentraci C₆₀ v roztoku, po jeho tříhodinovém vystavení těmto podmínkám.

Nejlepší podmínky

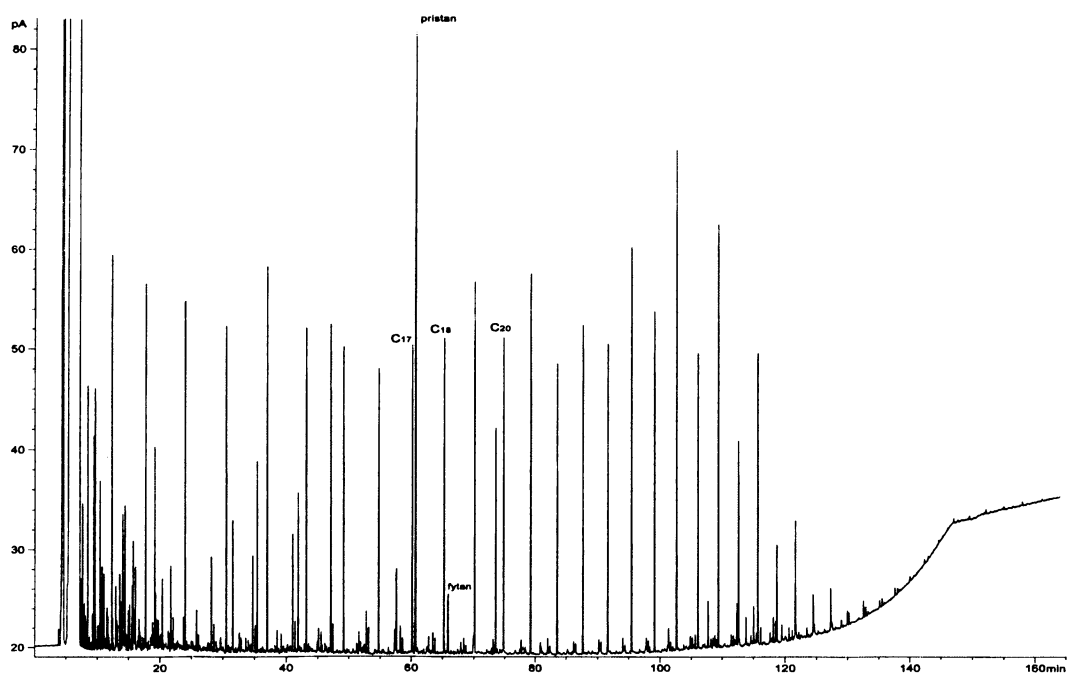
Vzorek	Podmínky	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
K-3	Nejlepší zjištěné podmínky	79,31%
K-5		79,74%
K-2		80,14% ± 0,77
K-4		80,21%
K-1		80,82%

Tab. 20: Ultrazvukace při nejlepších zjištěných podmínkách: ultrazvukace probíhala 30 min při teplotě 280-285K v lázni Tesla - 50 kHz, 75 W, extrakt byl filtrován přes PTFE filtry, 0,45 μm (Millipore), uhlí bylo preextrahováno pentanem.

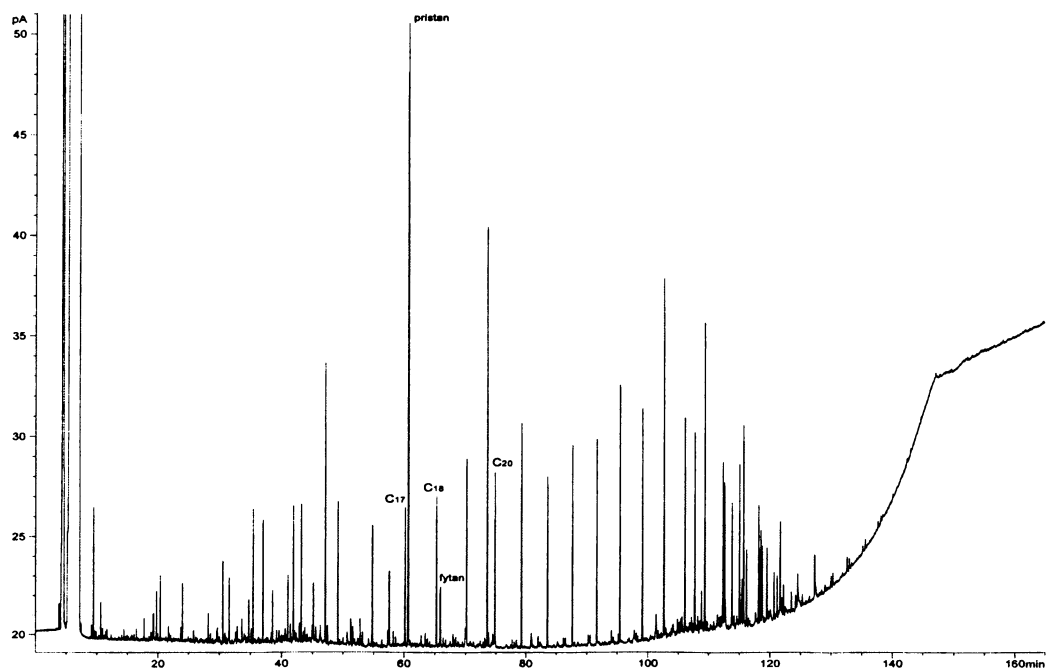
Vzorek	Podmínky	% C ₆₀ z teoretického množství (ve standardu)
KN-5	ultrazvukace 30 min při 280-285K (lázeň Tesla, filtry PTFE 0,45 μm, Millipore), uhlí preextrahované pentanem	63,88%
KN-4		66,27%
KN-3		73,42% ± 5,36
KN-1		73,50%
KN-2		74,38%

Tab. 21: Ultrazvukace po dobu 90 min, ostatní podmínky odpovídají nejlepším zjištěným podmínkám.

Chromatogramy z analýzy plynovou chromatografií:



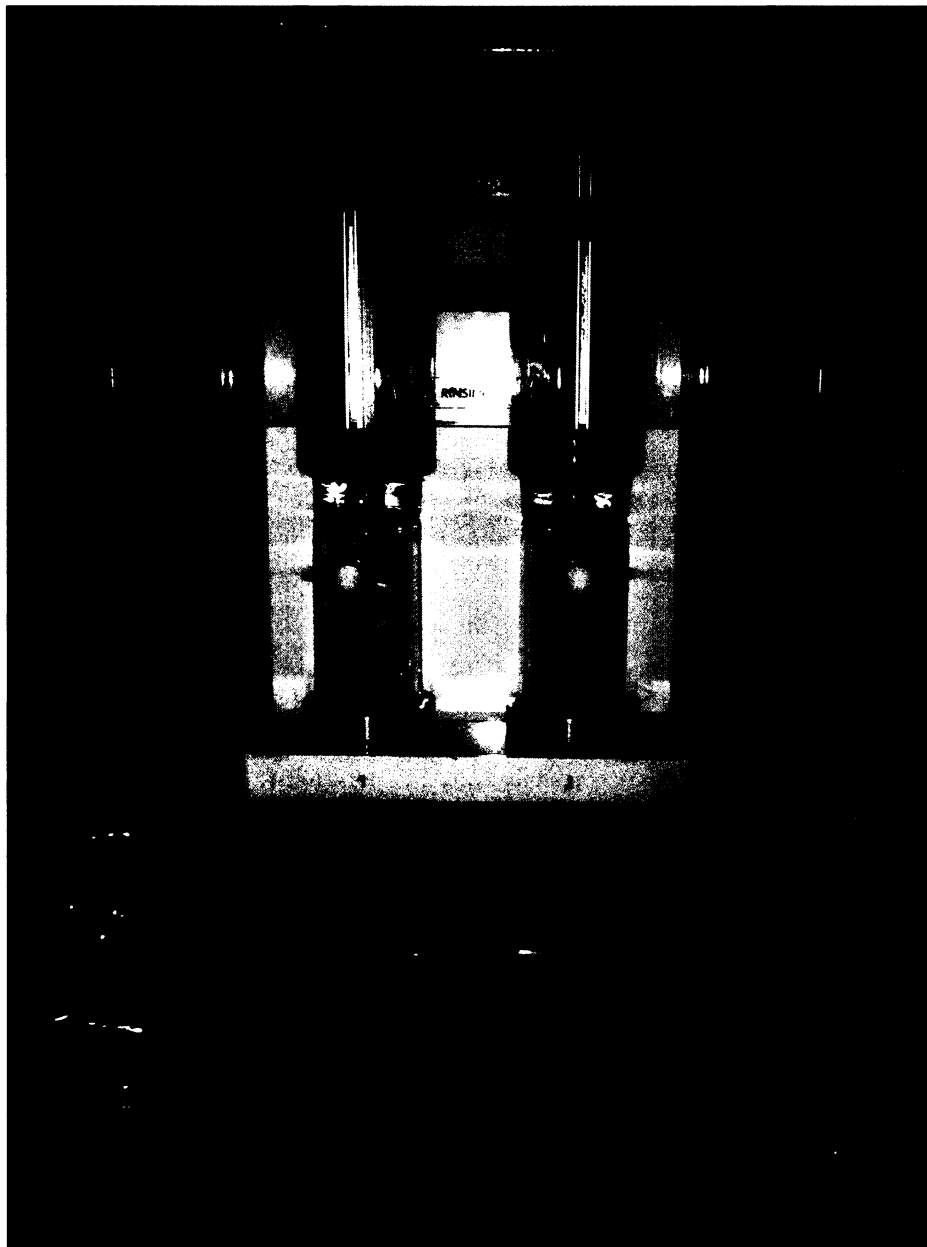
Obr. 32: Chromatogram z analýzy pentanového extraktu pomocí GC – frakce nasycených uhlovodíků.



Obr. 33: Chromatogram z GC analýzy nasycených uhlovodíků v toluenovém extraktu.

Příloha III, Petr Vitek, Optimalizace ultrazvukové extrakční metody a chromatografického stanovení fullerenu v horninách.

Fotografie systému Soxtec:



Obr. 34: Soxtec System HT 2, Tecator v laboratoři České geologické služby v Brně, kde byla provedena preextrakce černého uhlí.

