

Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 1996

1. Vědecká činnost pracoviště a uplatnění jejích výsledků

a) Stejně jako v roce předcházejícím spadala vědecká činnost ústavu do oblasti separačních metod analytické chemie, analytických spektrálních metod a analytické chemie životního prostředí.

b) Nejvýznamnější výsledky dosažené v jednotlivých oblastech činnosti ústavu jsou:

Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic

Byly popsány interakce ovlivňující separaci silikagelových nosičů pro HPLC metodou gravitační field-flow frakcionace (**B**) a tato metoda byla použita k mikropreparaci kmenových buněk kostní dřevě (**C**). Teoretický výzkum migrace fragmentů DNA v roztocích polymerů odhalil mimořádně vysokou selektivitu separace na rozhraní mezi volným elektrolytem a roztokem polymeru, způsobenou konformačními změnami polymerního klubka fragmentu DNA při elektromigraci přes rozhraní (**B**). Byla navržena metodika velmi rychlých separací s vysokým rozlišením ve velmi krátkých kapilárách a ověřena separací 11 restričních fragmentů modelového vzorku fX174 HaeIII v rozmezí velikostí 72 až 1353 párů bází za 29 sekund (**C**). V rámci studia posttranslační modifikace bílkovin karbonylovými sloučeninami se podařilo charakterizovat nový fluorofor vznikající při reakci nenasycených aldehydů s aminoskupinami peptidů a bílkovin (**B**). Ukázalo se, že oboustranně řízených změn iontové matrice v kapilární izoelektrické fokusaci (IEF) lze s výhodou využít k izolaci bílkovin z komplexních biologických směsí bez nosných amfolytů (**B**).

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Byla dokončena studie přechodových stavů v on-line kombinaci kapilární izotachoforézy (ITP) se zónovou elektroforézou (CZE) (**B**) a přednosti této kombinované techniky byly demonstrovány na analýze kyseliny hippurové v séru (**C**). Byl vyvinut jednoduchý matematický model pro rychlou předpověď tvaru a velikosti píků souboru analytů v daném základním elektrolytu se zvláštním zřetelem k vodivostní detekci (**B**) a model vysvětlující tzv. systémovou zónu jako migrující vakanci v koncentraci některé složky základního elektrolytu (**B**). Popis relaxačních dějů v kapilárách nekonstantního průřezu naznačil limity zlepšení citlivosti fotometrické detekce v CZE při použití rozšířené detekční kapiláry (**B**) a ukázal přednosti ITP fokusace v zúžené kapiláře, které byly experimentálně ověřeny s polyamfolytickými spacery a za využití dříve vyvinutých nízkomolekulárních amfolytů (**B**). Teoretický popis ITP s kontinuálními gradienty pH a vodivosti otevírá cestu k fokusacím silných a slabých elektrolytů (**B**). V sadě substituovaných morfolinmethylfenolů bylo prokázáno, že na rozdíl od hodnot pK_a těchto látek jsou jejich hodnoty pI velmi dobře korelovány s Hammettovými σ_m konstantami. Tento nálezný významně přispívá k možnosti cílené syntézy amfolytů s požadovaným izoelektrickým bodem (**B**). Bylo zkonstruováno zařízení pro ITP v zúžené kapiláře a byla zdokonalena optická detekce pro kapilární separace s využitím optických vláken (**C**). V rámci výzkumu separací chirálních sloučenin byla navržena metoda určení mobilit asociátů vznikajících během separací a pokračovalo studium vankomycinu jako chirálního selektoru jeho aplikací k separaci derivatizovaných aminokyselin s obsahem síry a selenu.

Oblast kapalinové chromatografie

Byly formulovány základní vztahy pro zkoncentrování a předseparaci složek vzorku dávkovaného na modifikovanou křemennou kapiláru společně s pulsem extrakční kapaliny. Při experimentálním ověření teorie v systému voda-cyklohexanol byly odděleny polární složky matrice a bylo dosaženo až stonásobného zkoncentrování polycyklických aromatických uhlovodíků a dialkylftalátů (**B**). Byly prostudovány možnosti využití iontů uranuly pro nepřímou fotometrickou detekci alkalických kovů v iontové chromatografii (**C**).

Oblast stopové prvkové analýzy

Experimenty s radioaktivními isotopy Se, As a Sb v příčně vyhřívaném grafitovém atomizátoru pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS) ukázaly, že v poměrně širokém rozmezí experimentálních parametrů dochází ke kompletní kolekci hydridů těchto prvků, což má zásadní význam pro rutinní využití in-situ kolekce (**B**). V rámci optimalizace citlivosti "flame-in-gas shield" atomizátoru byl studován vliv jednotlivých faktorů na reakce a transport volných atomů v pozorovaném objemu a jeho blízkém okolí (**B**). Bylo ukázáno, že hodnota biologického poločasu bromu ve štítné žláze laboratorního potkana je prakticky shodná s biologickým poločasem jodu a že mechanismus ustavení rovnovážného poměru koncentrací obou prvků je dán úrovní přívodu jodu (**B**). Byla vyvinuta metoda stanovení bazálních koncentrací stroncia v krevní plazmě (desítky ng/ml) a dále hodnot o dva řády vyšších metodou AAS s atomizací v grafitové kyvetě (**C**).

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Byl nalezen nový způsob záchytu analytů v off-line SFE využitím přehřáté páry organického rozpouštědla (**B**). Pokračoval vývoj mikronáplňových kolon pro SFC (**B**). Byl zpracován poruchový model vlivu molekulárních parametrů systému na retenci solutu v superkritické fluidní chromatografii (**B**). Byly zkoumány termodynamické předpoklady využití alternativních chladiv jako rozpouštědel v superkritické fluidní extrakci (**B**).

Oblast analytické chemie životního prostředí

Denudery s kontinuálně se obnovujícím povrchem a aerosolová obohacovací jednotka byly aplikovány ke zjišťování distribuce zdraví škodlivých látek ve vybraných ekosystémech (**C**).

e) 3 pracovníci přednášeli na workshopu fy Lambda Bio-Med na Mendelově zemědělské a lesnické universitě v Brně a 1 pracovník na workshopu ChF VUT v Brně.

f) Úspěch záměru využívat v ústavu moderních technik hmotnostní spektrometrie je podmíněn získáním potřebných investičních prostředků.

2. Spolupráce pracoviště s vysokými školami a dalšími domácími institucemi

2.1. Jmenovité zhodnocení všech významných domácích spoluprací pracoviště s našimi vysokými školami

a) Vědecká spolupráce ústavu s vysokými školami probíhá v rámci 14 společných grantových projektů, které podstatně přispěly k výsledkům shrnutým v části 1.b) této zprávy.

b) Ústav provozuje společně s Českou zemědělskou univerzitou a Českým geologickým ústavem Sdruženou ultrastopovou laboratoř (Praha 5 - Barrandov); příslušná smlouva o sdružení byla uzavřena podle §829 ad. Občanského zákoníku na dobu neurčitou. V rámci spolupráce s Univerzitou Palackého v Olomouci na projektu MŠMT VS 96021 bylo vytvořeno Centrum analytické chemie molekulárních struktur.

c) Příprava nových vědeckých pracovníků ústavu probíhá formou postgraduálního studia na Přírodovědecké fakultě MU v Brně a na Univerzitě Pardubice. Ústav tíživě pociťuje malý zájem absolventů vysokých škol o akademickou kariéru.

2.2. Zhodnocení spolupráce s dalšími mimovysokoškolskými výzkumnými a mimoakademickými pracovišti

Pracovníci ústavu se podílejí na společných projektech se 4 pracovišti. Výsledky spolupráce se Státním zdravotním ústavem Praha a s oddělením humánní genetiky Dětské nemocnice v Brně jsou zahrnuty v části 1.b) této zprávy. Ve spolupráci s firmou SEKO s.r.o. v Brně byl dokončen vývoj superkritického fluidního extraktoru SE-1 a spolupráce s firmou IMOS Holding s.r.o. v Brně zahrnuje studium distribuce emisí motorových vozidel.

3. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

a) Mezi zahraniční pracoviště v oblasti separačních a spektrálních metod analytické chemie, se kterými pracovníci UIACH v roce 1996 udržovali intenzivní pracovní kontakty, patří mj.: Barnett Institute, Northeastern University, Boston (MA), USA (Prof. B. Karger), Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington (IN), USA (Prof. M. Novotný),

Istituto di Cromatografia del C. N. R., Řím, Itálie (Dr. S. Fanali), Department of Physical Chemistry, University of Leeds, Leeds, Velká Británie (Prof. K. D. Bartle),

Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C. N. R., Pisa, Itálie (Dr. A. D'Ulivo), Sektion Analytik und Höchstreinigung, Universität Ulm, SRN (Prof. V. Krivan) a Netherlands Energy Research Foundation (ECN), Petten, Holandsko (Prof. J. Slanina).

Výsledky těchto spoluprací jsou začleněny v části 1.b) této zprávy.

b) UIACH se v roce 1996 nepodílel na pořádání mezinárodních konferencí.

c) UIACH se podílel na řešení grantu Komise Evropských společenství COPERNICUS CIPA-CT94-0146.

4. Předpokládané hlavní okruhy vědecké činnosti pracoviště v roce 1997

Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic

Bude rozvíjena technika sekvenování DNA s využitím CZE v krátkých kapilárách o délce několika centimetrů s cílem stanovit sekvenci 500 bází genomové DNA některých bakteriofágů za dobu kratší než 10 minut. Bude pokračovat vývoj metodiky analýz DNA pro prenatalní diagnostiku závažných dědičných chorob. Bude studován vliv různých interakcí na separace v gravitační FFF s využitím modifikace povrchu stěn separačního kanálu. V oblasti kapilární isoelektrické fokusace bude studován způsob dosažení maximální koncentrace amfolytu v jeho výsledné zóně podmýváním pomocným amfolytem a bude optimalizováno

on-line spojení s elektroforézou. Program studia posttranslačních změn bílkovin po modifikaci karbonylovými sloučeninami bude zahájen na přístroji Compact MALDI III, který bude na dobu 1 roku zapůjčen firmou Shimadzu.

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Cílem teoretického výzkumu bude popsat a vysvětlit existenci, tvar a velikost všech elektroforetických píků včetně systémových píků a posoudit možnosti praktického využití systémových zón. Budou rozvíjeny metody výpočtu asociačních konstant z elektroforetických migračních dat naměřených s nízkomolekulárními chirálními selektory. Bude zahájen systematický výzkum využitelnosti kapilární zónové elektroforézy k charakterizaci pevných povrchů a jejich rozhraní s roztoky elektrolytů. Bude pokračovat experimentální ověřování hranic analytických možností on-line spojení kapilární isotachoforézy se zónovou elektroforézou v rovině praktických problémů biologických věd a medicíny. Bude pokračovat teoretická analýza isotachoforézy s kontinuálními gradienty vodivosti a pH. Teorie bude ověřována v modelových experimentech s cílem optimalizovat separaci a fokusaci silných a slabých elektrolytů. Vývoj instrumentace bude soustředěn do oblasti optické detekce v kapilárách. Bude pokračovat syntéza nových barviv pro charakterizaci a detekci v kapilární elektroforéze.

Oblast stopové prvkové analýzy

Stanovení účinnosti in-situ kolekce a vlivu relevantních experimentálních parametrů na ni pomocí radioizotopové techniky bude rozšířeno na podélně vyhřívaný grafitový atomizátor pro AAS. Pro zlepšení poměru signál/šum "flame-in-gas shield" atomizátoru bude optimalizována konstrukce tohoto atomizátoru. Bude studováno vzájemné ovlivnění retencí jodu a bromu ve štítné žláze. Bude pokračovat řešení problematiky ultrastopových obsahů analytů v biologickém materiálu.

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Bude pokračovat vývoj metodiky a instrumentace kontinuální SFE vodných médií nadkritickým oxidem uhličitým a vývoj metodiky spojení SFE-SFC. Budou studovány nové způsoby in-situ modifikace tuhých matric v off-line SFE a budou ověřeny další možnosti zachytu analytů, vyplývající z charakteru expandující fluidní směsi. Termodynamický popis analytických aplikací superkritických tekutin bude soustředěn na soustavy s obsahem helia.

Oblast analytické chemie životního prostředí

Vývoj metod analýzy různých matric životního prostředí bude orientován především na tyto okruhy analytů: prvky, polychlorované bifenyly, polycyklické aromatické uhlovodíky, terpeny a organické sloučeniny cínu. Rozvoj instrumentace bude soustředěn na monitorování oxosloučenin dusíku ve vzduchu v reálném čase.

V Brně dne 8. ledna 1997

Prof. RNDr. Petr Boček, DrSc.
ředitel UIACH AV ČR