

## Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 1999

### 1. Vědecká činnost pracoviště a uplatnění jejích výsledků

a) Stejně jako v předcházejícím roce spadala vědecká činnost UIACH AV ČR do oblasti separačních a spektrálních metod analytické chemie.

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

#### **Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic**

Pokračoval vývoj instrumentace a metodiky ultra-rychlých separací fragmentů DNA kapilární zónovou elektroforézou (CZE). Jeho výsledkem je možnost rychle zjistit oblasti "short tandem repeat", které jsou zajímavé z hlediska diagnostiky dědičných nemocí a poruch, identifikace osob a určování otcovství. Ve srovnání s klasickým postupem gelové elektroforézy vede vypracovaný postup k 200-násobnému urychlení analýzy (**C**, anotace tohoto výsledku je přiložena). Bylo zahájeno studium charakterizace mono-, oligo- a polysacharidů pomocí CZE, hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF a kombinace kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) (**B**). Separace škrobových zrn frakcionací tokem v gravitačním poli (GFFF) byla optimalizována pro různé rozměry separačních kanálů a různé průtokové rychlosti nosné kapaliny (**B**).

#### **Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod**

Pokračoval vývoj předkoncentračních a předseparačních postupů s cílem plně využít možností CZE pro analýzy vzorků se složitými maticemi. Efektů, které vyplývají z existence přechodné izotachofórey (ITP), lze za předpokladu znalosti jejich principů cíleně využít ke zvýšení separační účinnosti a citlivosti analýz (**B**). Na základě studia faktorů, ovlivňujících selektivitu separace, bylo navrženo schéma, které umožňuje optimalizovat selektivitu i pro komplikované vzorky (**B**). V rámci rozsáhlé teoretické studie systémových píků v CZE byly popsány podmínky jejich vzniku v závislosti na hodnotě pH (**B**). Bylo navrženo experimentální zařízení pro kontinuální izotachoforetickou fokusaci silných a slabých elektrolytů v jednoduchých základních elektrolytech (**B**).

#### **Oblast stopové prvkové analýzy**

Byl vyvinut nový přístup k atomizaci těkavých sloučenin pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS) v křemenových atomizátorech, který výrazně zlepšuje odolnost proti atomizačním interferencím a linearitu analytických kalibrací (**B**). Metodou AAS s grafitovou kyvetou byly stanoveny koncentrace As, Cd, Cr, Mn, Ni a Pb ve vzorcích prašného aerosolu z ventilačního systému automobilového tunelu na Letné; u většiny sledovaných prvků se výsledky výborně shodují s hodnotami, získanými z instrumentální neutronové aktivační analýzy (**C**). Podařilo se nalézt podmínky pro stanovení celkového obsahu As v krvi metodou AAS s grafitovou kyvetou s pouhým ředěním vzorků bez mineralizace (**C**). Metodou radioaktivní indikace byl prokázán výrazný vliv vysoké hladiny bromidu v organismu dospělého laboratorního potkana na metabolismus jodu (**B**).

### **Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie**

V systému voda - superkritický oxid uhličitý byly stanoveny rozdělovací koeficienty fenolu a jeho vybraných derivátů (**B**). Získaných hodnot se dále využívá v analýze vodných roztoků superkritickou fluidní extrakcí. Bylo navrženo a zhotoveno plně automatizované zařízení pro kapalinovou extrakci za vysokých tlaků a teplot (**C**). V oblasti termodynamického využití chromatografických retenčních dat byla dokončena studie parciálních molárních veličin azulenu a acenaftylenu v nekonečném zředění oxidem uhličitým (**B**).

### **Oblast analytické chemie životního prostředí**

Byl zhotoven a testován komplexní analytický monitorovací systém určený k měření teploty vzduchu, relativní vlhkosti, rozptýleného záření a ke sledování obsahu oxidu dusičitého, kyseliny dusičné, kyseliny dusité a ozonu v ovzduší v "reálném" čase (**C**). Byla provedena stanovení vybraných prioritních polutantů ve vzorcích ovzduší, vod a půd v silně exponovaných lokalitách v okolí chemických závodů s využitím pasivních vzorkovačů na principu semipermeabilních membrán (SPMDs) (**C**).

d) V rámci Dnů vědy v ČR ústav uspořádal Den otevřených dveří (22. 10. 1999), kdy se s naší činností seznámilo celkem 120 zájemců, převážně formou předem dohodnutých exkurzí studentů brněnských středních škol. Ústav také prezentoval expozici výsledků své činnosti na výstavě Invence na Prozatímním výstavišti v Praze-Letňanech (21.-24. 10. 1999). Řada dalších exkurzí středoškolských a vysokoškolských studentů však ústav navštívila i mimo Dny vědy; šlo mj. o přírodovědně orientované vítěze soutěže Talent roku, kterou organizuje Nadace Křižovatka, o maturitní ročník Střední zdravotnické školy v Brně a o studenty 4. ročníku oboru "Měřicí technika" na Fakultě elektrotechnické VUT v Brně.

e) Ve vědecké orientaci ústavu se začínají uplatňovat pokročilé techniky hmotnostní spektrometrie, a to díky úspěchu ústavu v soutěži o konkursní investiční prostředky v minulých letech a v důsledku získání zahraničních grantů. Podařilo se ústav vybavit vyspělým LC/MS systémem Esquire (Bruker - HP). V roce 1999 v ústavu také proběhly atestace vědeckých pracovníků, na jejichž základě byly vědeckým pracovníkům prodlouženy pracovní smlouvy.

## 2. Spolupráce pracoviště s vysokými školami

Jmenovité zhodnocení všech významných domácích spoluprací pracoviště s našimi vysokými školami:

a) Vědecká spolupráce ústavu s českými vysokými školami, totiž s Masarykovou univerzitou v Brně, Mendelovou zemědělskou a lesnickou univerzitou v Brně, Univerzitou Palackého v Olomouci, Univerzitou Pardubice a Karlovou univerzitou probíhala převážně v rámci 10 společných grantových projektů (GA ČR, GA AV ČR), které podstatně přispěly k výsledkům shrnutým v části 1.b) této zprávy. Kromě toho pokračovaly neformální spolupráce s Vojenskou vysokou školou pozemního vojska ve Vyškově na sledování kontaminace vojenských újezdů aromatickými sloučeninami a s Chemickou fakultou VUT v Brně na studiu povrchových procesů a na vývoji metodiky pasivního vzorkování semivolatilních organických polutantů v životním prostředí selektivními koncentrátory na principu semipermeabilních membrán.

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. Laboratoř se v roce 1999 zabývala vývojem metod stanovení velmi nízkých koncentrací arzenu v krvi bez mineralizačního kroku a srovnávací studií správnosti stanovení stopových prvků v prašných aerosolech. Centrum analytické chemie molekulárních struktur, které působí v rámci spolupráce s Univerzitou Palackého v Olomouci na projektu MŠMT VS 96021, se zabývalo využitím elektroforetických měření ke zjišťování disociačních konstant fytohormonů cytokininů a jejich strukturních analog s cytostatickými účinky.

c) Příprava nových vědeckých pracovníků ústavu probíhá v ústavu, je řízena pracovníky ústavu a její věcná náplň je součástí programu příslušné skupiny; organizačně je zajištěna formou postgraduálního studia na Přírodovědecké fakultě MU v Brně, na Univerzitě Pardubice a na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. Na ústavu také probíhá výchova externích doktorandů z University Palackého v Olomouci a z VUT v Brně. Kromě toho se v laboratořích ústavu a pod odborným vedením pracovníků ústavu školilo 7 diplomantů a 2 studenti v ústavu působili jako pomocné vědecké síly. K přípravě nových vědeckých pracovníků v širším smyslu přispívají i přednášky pracovníků ústavu na vysokých školách a laboratorní cvičení pro studenty v laboratořích ústavu a pod vedením pracovníků ústavu. Jeden pracovník ústavu se habilitoval na Chemické fakultě VUT v Brně.

### 3. Spolupráce pracoviště s dalšími institucemi a s podnikatelskou sférou

Zhodnocení spolupráce s dalšími mimovysokoškolskými výzkumnými a mimoakademickými pracovišti:

a) Spolupráce se Státním zdravotním ústavem Praha je kryta granty IGA MZ ČR NJ/4513-3 *Zabezpečení jakosti stanovení stopových prvků ve vzorcích prašného aerosolu*, IGA MZ ČR 3980-3 *Metodická studie stanovení arzenu v tělních tekutinách* (nositelem obou grantů je SZÚ Praha) a grantem GA AV ČR IAA 7011813 *Vliv nadbytku bromu, jodového deficitu nebo jejich kombinace na metabolismus thyroidních hormonů ve tkáních* (nositelem je FGÚ AV ČR). Výsledky jsou zahrnuty v části 1.b) této zprávy.

c) Pokračovala spolupráce s firmami SEKO-K s.r.o., Brno a Applied Separations, Inc., Allentown, Pennsylvania, USA na vývoji laboratorních zařízení pro kapalínovou extrakci za vysokých teplot a tlaků. Pro firmu Kaučuk Kralupy bylo provedeno stanovení distribuce délek polybutadienových řetězců. Pro Výzkumný ústav vodohospodářský byly zhotoveny pasivní vzorkovače organických polutantů na principu semipermeabilních membrán.

d) V roce 1999 ústav neposkytl státním orgánům žádná písemně zpracovaná odborná stanoviska nebo posudky.

### 4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

a) Ústav se v roce 1999 podílel na řešení následujících grantů se zahraniční účastí:

*Development of Rapid Methods for Assessing the Quality of Starch Particles from Various Cereal Species for Purposes of Agriculture and Food Industry*, INCO Copernicus, Proposal No. ERB 3512 PL 979070, Contract No. ERB IC15-CT98-0909.

*Cycling of Trace Metals in Sustainable Management of Agricultural Soils*, INCO Copernicus, Proposal No. ERB 3512 PL 971161, Contract No. ERB IC15-CT98-0124.

*Subgrid Scale Investigations of Factors Determining the Occurrence of Ozone and Fine Particles SUB-AERO*, INCO Copernicus, No. SUB-AERO-EVK2-1999-00327.

*Vývoj rychlých metod pro stanovení kvality škrobových zrn z různých druhů obilovin pro účely zemědělství a potravinářského průmyslu*, MŠMT ČR (4. rámcový program EU), č. OK 348.

*Cyklický transport kovů při udržitelném hospodaření na zemědělských půdách* MŠMT ČR (4. Rámcový program EU), OK 385/1999

*Kontinuální preparativní elektroforéza pro biotechnologie*, MŠMT ČR (program KONTAKT), č. ME065.

*Studium posttranslačních modifikací bílkovin karbonylovými sloučeninami pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF a kapilární elektroforézy*, MŠMT ČR (program KONTAKT), č. ME230.

b) Mezi nejvýznamnější vědecké výsledky, získané v rámci mezinárodní spolupráce, patří část výsledků v oblasti ultra-rychlých separací fragmentů DNA (spolupráce s Barnett Institute, Northeastern University, Boston, USA), v oblasti studia mechanismu funkce atomizátorů v AAS (spolupráce s Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C.N.R., Pisa, Itálie), v oblasti vývoje předkoncentračních a předseparačních postupů pro CZE (Eindhoven University of Technology, Eindhoven, Holandsko), v oblasti micelární elektrokinetické chromatografie (Himeji Institute of Technology, Kamigori, Hyogo, Japonsko) a v oblasti termodynamických měření superkritickou fluidní chromatografií (Department of Chemical Engineering, Kangwon National University, Chunchon, Korejská republika).

c) V rámci dvoudenní konference Brno Analytika 1999 ústav uspořádal seminář o gradientových technikách v analytických separačních metodách.

d) Z významných zahraničních vědců navštívili ústav Prof. R. Bye (University of Oslo, Norsko), Dr. A. D'Ulivo (Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C.N.R., Pisa, Itálie), Dr. A.-L. Rantalainen (University of Jyväskylä, Finsko) a Prof. M. Schimpf (University of Idaho, Boise, USA).

## 5. Předpokládané hlavní okruhy vědecké činnosti pracoviště v roce 2000

### **Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic**

Výzkum v oblasti využití CZE pro rychlé a extrémně citlivé diagnostické metody bude pokračovat vývojem metodiky pro detekce mutací způsobujících Wilsonovu chorobu, Smith-Lemli-Opitzův syndrom a cystinurii. Bude zahájen vývoj originální instrumentace a analytické metodiky pro detekci apoptózy s využitím kapilární elektroforézy obsahu jediné buňky s detekcí pomocí laserem indukované fluorescence. Bude pokračovat studium interakcí chirálních analytů s chirálními selektory s orientací na klinicky zajímavé biomakromolekuly. Frakcionace tokem v poli (GFFF) bude využita k charakterizaci škrobových zrn z rozsáhlého souboru vzorků sladařského ječmene.

### **Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod**

Budou pokračovat práce zaměřené na metodologii stopových analýz složitých vzorků biologického původu kapilární zónovou elektroforézou s cílem definovat obecná pravidla a postupy umožňující využít vlastností samotné matrice vzorku k dosažení maximální separační účinnosti a citlivosti analýz. Budou dále studovány podmínky pro minimalizaci možných disperzních jevů a postulována pravidla pro optimální volbu separačního systému a pro správnou interpretaci záznamu analýzy. Bude vyhledán vhodný systém pro stanovení sacharidů (glukózy, fruktózy a sacharózy) v ovocných šťávách kapilární elektroforézou. Dále budou vyvíjeny barevné tenzidy pro detekci proteinů v CZE, markery izoelektrického bodu pro ITF a bude rozvíjena teorie fokusačních variant elektroforézy.

### **Oblast stopové prvkové analýzy**

U prvků, které netvoří těkavé hydridy, budou ověřeny nové přístupy ke generování těkavých hydridů pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS). Křemenový atomizátor s vícenásobným přívodem kyslíku bude optimalizován pro atomizaci analyticky užitečných hydridů. U samic laboratorního potkana bude studován vliv zvýšeného přívodu bromu na metabolismus jodu, zvláště v době laktace v podmínkách jodové deficiencie. Metoda AAS s grafitovou bude aplikována ke sledování zastoupení jednotlivých analytů v jemnějších frakcích prašných aerosolů.

### **Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie**

V oblasti kontinuální superkritické fluidní extrakce vodných médií oxidem uhličitým bude pokračovat měření rozdělovacích koeficientů modelových látek a charakterizace nápojů a vodných výluhů. Vývoj instrumentace a metodologie mikronáplňové chromatografie bude soustředěn na charakterizaci vysokovroucích produktů zpracování ropy. Bude provedena studie výtěžnosti kapalinové extrakce za vysokých tlaků a teplot ve srovnání s konvenčními technikami. Chromatografická měření parciálních molárních veličin v superkritickém oxidu uhličitým budou rozšířena na další soluty.

### **Oblast analytické chemie životního prostředí**

Budou pokračovat studie transportu a distribuce zdraví škodlivých sloučenin a prvků v ekosystémech, zejména studie transportu a vzájemných přeměn sloučenin dusíku v ovzduší, nových polutantů životního prostředí a vývoj nekonvenčních obohacovacích technik pro stanovení polutantů v ovzduší.

V Brně dne 18. ledna 2000

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