

Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 2000

1. Vědecká činnost pracoviště a uplatnění jejích výsledků

a) Vědecká činnost UIACH AV ČR spadala v roce 2000 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

Rozvoj instrumentace a metodiky velmi rychlých separací fragmentů DNA kapilární zónovou elektroforézou (CZE) byl soustředěn do vysoce alkalické oblasti ($\text{pH} > 12$), kde probíhá denaturační proces velmi rychle a díky příznivým hodnotám viskozity prostředí a efektivního náboje lze dosáhnout zkrácení analýz (**B**). S využitím CZE byla provedena rychlá genotypizace bakteriofágů rodu *Staphylococcus aureus* a sestrojeny restriční enzymové mapy fágů. Restriční mapa fágů 3A a 77 je lineární, zatímco u fága 53 je cirkulární a vykazuje cirkulární permutaci (**B**). Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF byla ve spojení s enzymatickým štěpením použita k identifikaci několika bílkovin z ječmene, a byla také aplikována ke stanovení molekulových hmotností oligosacharidů ve sladu (**B**). Kombinace CZE a hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF umožnila odhalit falšování ovocných šťáv přidáváním náhražek cukerného původu (**C**).

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Vývoj metodologie CZE především rozšiřoval možnosti cíleného využití tzv. „stacking efektů“, které vyplývají z existence přechodné izotachofórey. Principy a vlastnosti procesů se stacking efektem včetně chování rozhraní mezi zónami byly popsány pro několik elektromigračních technik s důrazem na působení makrosložek v reálných vzorcích biologického původu (**B**). Studium chování analytů v CZE umožnilo navrhnout strategii, jak se vyhnout negativním vlivům na separační účinnost při použití některých běžných elektrolytových systémů, např. fosfátových pufrů (**B**). Práce soustředěná na definování koncepce a terminologie selektivity v CZE vyústila v návod, jak optimalizovat pracovní podmínky při separaci tak, aby bylo dosaženo maximální selektivity daných typů analýz (**B**). Pro izoelektrickou fokuzaci s UV-indukovanou fluorescenční detekcí byla vyvinuta nová skupina cíleně syntetizovaných standardů (**C**).

Oblast stopové prvkové analýzy

V rámci optimalizace "flame-in-gas shield" atomizátoru pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS) byl nalezen vliv přívodu kyslíku do mikroplaménku na rozložení hustoty volných atomů analytu a na spektroskopickou teplotu v různých pozorovacích výškách nad "hořákem" tohoto atomizátoru (**B**). Pomocí AAS a radiometrických měření izotopu ^{75}Se byla stanovena účinnost elektrochemického generování selenovodíku za různých podmínek a byl zjištěn rozsah rušivých vlivů (**B**). Stejnou metodikou byla testována výtěžnost jednotlivých kroků stanovení selenu v biologických vzorcích a byl stanoven obsah selenu ve vzorcích kostí z prehistorických nálezů (**C**). Byl studován účinek příjmu bromidu na záchyt a vylučování jodidu ve štítné žláze a kůži potkanů za podmínek (i) dostatečného přívodu jodu (více než 25 $\mu\text{g}/\text{den}$) a (ii) jodové deficience (méně než 1 $\mu\text{g}/\text{den}$) (**B**).

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Aromatické látky ve vzorcích vín byly stanoveny záchytem na pevný sorbent, extrakcí nadkritickým oxidem uhličitým a analýzou extraktu pomocí GC-MS. Následná aplikace klastrové a diskriminační funkční analýzy pak umožnila využít spektra charakteristických látek k určení autenticity vzorku vína (**C**). Kapalinná extrakce za vysokých teplot a tlaků byla použita k extrakci polycyklických aromatických ketonů z půd a ke stanovení celkového obsahu tuků v biologických materiálech (**B**). Termodynamické aplikace chromatografických retenčních dat pokračovaly studií parciálních molárních veličin naftalenu a bifenyly v nekonečném zředění oxidem uhličitým (**B**).

Oblast analytické chemie životního prostředí

Byla zhotovena a otestována měřicí stanice určená k současnému monitorování stopových koncentrací vybraných anorganických polutantů životního prostředí (NO_2 , O_3 , HNO_2 a HNO_3) (**C**). Vzorkovače na bázi semipermeabilních membrán (SPMD) byly aplikovány ke stanovení vyšších polycyklických aromatických uhlovodíků a byla vypracován postup stanovení těchto látek metodou LC-MS (**B**).

d) Podobně jako další ústavy AV ČR uspořádal Ústav analytické chemie Den otevřených dveří (22. 10. 2000). Při této příležitosti se s naší činností seznámilo celkem 72 zájemců; naprostou většinu z nich tvořili studenti 3. a 4. ročníků brněnských středních škol v rámci předem dohodnutých exkurzí. Pracovníci ústavu však zajišťují i řadu dalších popularizačních aktivit, z nichž některé už mají v lokálním měřítku značnou tradici. Patří sem například každoroční exkurze studentů 4. ročníku oboru "Měřicí technika" na Fakultě elektrotechnické VUT v Brně, každoroční popularizační přednášky pro učitele základních škol s aprobací chemie - biologie, seminář o vysokotlaké kapalinové extrakci pro Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, nebo přednáška na Seminári mladých badatelů, pořádaném Vojenskou vysokou školou pozemního vojska ve Vyškově.

e) V roce 2000 se vědecká orientace ústavu dále posunula směrem k pokročilým technikám hmotnostní spektrometrie. Dva mladí pracovníci ústavu se v rámci dlouhodobých zahraničních stáží připravují k práci v této oblasti. Projekt "Výzkumné centrum analytické chemie", kterým ústav společně se třemi brněnskými vysokými školami obeslal výběrové řízení v rámci programu "Výzkumná centra" MŠMT, se sice umístil mezi projekty doporučenými k financování, ale nikoli mezi projekty skutečně financovanými.

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. V roce 2000 začala spolupráce s Ústavem patologické fyziologie LF MU na výzkumu detekčních metod raných stadií buněčné apoptózy. V rámci neformální spolupráce s VŠCHT v Praze byly rozvíjeny aplikace vzorkovačů na bázi semipermeabilních membrán (SPMD).

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 2000 zabývala vývojem referenčního materiálu – filtrů s depozitem městského prachu. V rámci vývoje tohoto materiálu bylo provedeno testování homogenity filtrů s depozitem, připravených v laboratořích Mezinárodní agentury pro atomovou energii, s ohledem na toxikologicky významné prvky: As, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb a Zn. Spolupráce s Centrem analytické chemie molekulárních struktur, které působilo při Universitě Palackého v Olomouci v rámci projektu MŠMT VS 96021, se soustředila na problematiku využití CZE pro stanovení konstant stability komplexů a disociačních konstant.

c) Příprava nových vědeckých pracovníků byla v roce 2000 organizačně zajištěna formou postgraduálního studia na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně, na Vysokém učení technickém v Brně, na Přírodovědecké fakultě UK v Praze, na Universitě Palackého v Olomouci a na Universitě Pardubice. Kromě toho se v laboratořích ústavu a pod odborným vedením pracovníků ústavu školilo 9 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.

d) Rozšířením akreditace Přírodovědecké fakulty UP v Olomouci v letošním roce získal ústav akreditaci pro obor "Analytická chemie" doktorského studijního programu "Analytická chemie". V návaznosti na příslušnou rámcovou smlouvu mezi AV ČR a VUT v Brně, resp. mezi AV ČR a MZLU v Brně uzavřel Ústav analytické chemie AV ČR smlouvu o spolupráci při uskutečňování doktorských studijních programů s Fakultou chemickou VUT v Brně, resp. s Agronomickou fakultou MZLU 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 grantem IGA MZ ČR NJ/4513-3 *Zabezpečení jakosti stanovení stopových prvků ve vzorcích prašného aerosolu* (nositelem je SZÚ Praha) a grantem GA AV ČR IAA7011813 *Vliv nadbytku bromu, jodového deficitu nebo jejich kombinace na metabolismus thyroidních hormonů ve tkáních* (nositelem je FGÚ AV ČR). Ústav se kromě toho účastní projektu *Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí*, který je koordinován Státním zdravotním ústavem Praha a podporován Evropskou unií. Spolupráce s Výzkumným ústavem zdraví dítěte v Brně probíhá v rámci grantů GA ČR 203/00/0772 *Vývoj ultracitlivých analytických metod pro molekulární identifikaci a diagnostiku závažných chorob* (nositelem je UIACH AV ČR) a GA ČR 303/00/0928 *Cystinurie - biochemická a molekulárně biologická studie* (nositelem je Universita Palackého v Olomouci). Výsledky těchto spoluprací 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. Spolupráce s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství v Brně se

týkala vývoje metodiky stanovení vyšších polycyklických aromatických uhlovodíků v matricích životního prostředí.

d) V roce 2000 ústav neposkytl státním orgánům žádná písemně zpracovaná odborná stanoviska nebo posudky (pokud sem samozřejmě nepočítáme četná individuální stanoviska jednotlivých pracovníků ústavu, především posudky grantových přihlášek).

4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

a) Ústav se v roce 2000 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 (tento grant je vědecky koordinován z Ústavu analytické chemie AV ČR).

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-CT-1999-0052 SUB-AERO.

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.

Ochrana životního prostředí a zdraví, MŠMT ČR (4. Rámcový program EU), OK 385.

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 atomizace v AAS (spolupráce s Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C.N.R., Pisa, Itálie), v oblasti generování těkavých sloučenin pro AAS (Institute for National Measurement Standards, National Research Council, Ottawa, Canada), v oblasti vývoje předkoncentračních a předseparačních postupů pro CZE (Eindhoven University of Technology, Eindhoven, Holandsko a Universita v Bernu, Švýcarsko) a v oblasti vývoje rychlých metod pro stanovení kvality škrobových zrn z různých druhů obilovin (spolupráce s universitami v Lundu, Ferrare, Bologni, Patrasu, Limoges a Moskvě).

c) V roce 2000 ústav neuspořádal žádnou akci s významnější zahraniční účastí.

d) Z významných zahraničních vědců navštívili ústav Prof. R. Bye (Universita v Oslo, Norsko), Prof. M. Claeys (Universita v Antverpách, Belgie), Dr. A. D'Ulivo (Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C.N.R., Pisa, Itálie) a Prof. W. Thormann (Universita v Bernu, Švýcarsko).

5. Předpokládané hlavní okruhy vědecké činnosti pracoviště v roce 2000

Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic

V oblasti využití CZE pro rychlé a extrémně citlivé diagnostické techniky bude pokračovat výzkum detekčních metod pro studium buněčné apoptózy a vývoj metod pro molekulární identifikaci patogenních organismů a diagnostiku některých významných dědičných chorob. Pomocí frakcionace tokem v gravitačním poli GFFF budou pro šlechtitelské účely charakterizována škrobová zrna v ječmeni a bude stanovena distribuce jejich velikosti.

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Pozornost bude v této oblasti soustředěna zejména na vzorky se složitými maticemi převážně biologického původu. Bude pokračovat základní výzkum systémových jevů v CZE se zaměřením na studium vlastností vícesložkových základních elektrolytů. Cílem bude získat teoretický popis chování systémů a na jeho základě formulovat důsledky systémových efektů pro analytickou praxi. Výzkum v oblasti chirálních separací se bude orientovat na zajímavé karboranové sloučeniny. Výzkum vzájemných interakcí látek v roztoku bude zaměřen na interakce biologicky nebo farmakologicky účinných látek se složkami nukleových kyselin. Bude pokračovat vývoj miniaturizované instrumentace pro elektroforézu a vývoj fluorescenčních standardů pro detekci na bázi laserem indukované fluorescence.

Oblast stopové prvkové analýzy

Budou provedeny modelové experimenty s generováním těkavých sloučenin přechodových prvků pro AAS. Konstrukce křemenového atomizátoru s vícenásobným přívodem kyslíku bude optimalizována pro zlepšení dynamického rozsahu a odolnosti vůči atomizačním interferencím. Atomizátor „flame-in-gas shield“ bude testován pro atomizaci jiných hydridů než selenovodíku. Spojení elektrochemického generování selenovodíku s in-situ záchytem v grafitovém atomizátoru bude optimalizováno pro minimalizaci meze detekce. Bude sledován přenos jodu mlékem na mláďata potkanů v podmínkách jodové deficeience za současné expozice bromem. Budou optimalizovány podmínky odběru i analytických postupů pro stanovení jednotlivých analytů v jemnějších frakcích prašných analytů metodou AAS s grafitovou květou.

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Bude pokračovat vývoj metodologie a instrumentace pro superkritickou fluidní extrakci vodných médií nadkritickým oxidem uhličitým, pro mikronáplňovou chromatografii (SFC, HPLC) a pro kapalinovou extrakci za vysokých tlaků a teplot. Termodynamické aplikace superkritické fluidní chromatografie budou pokračovat studiiemi parciálních molárních veličin dalších solutů v oxidu uhličitém.

Oblast analytické chemie životního prostředí

Bude pokračovat vývoj nekonvenčních obohacovacích technik pro stanovení znečišťujících látek v ovzduší, zejména pro studie vzniku, transportu a vzájemných přeměn sloučenin dusíku. Budou vyvíjeny metody pro detekci peroxyacetylnitrátu a amoniaku ve vzduchu. K analýze organických polutantů v tuhých maticích budou využity nové extrakční techniky.

Budou také rozvíjeny metody vzorkování organických polutantů v půdách s využitím semipermeabilních membrán.

V Brně dne 5. ledna 2001

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