

Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 2002

1. Vědecká činnost pracoviště a uplatnění jejích výsledků

a) Vědecká činnost UIACH AV ČR spadala v roce 2002 do oblasti separačních a spektrálních metod analytické chemie a byla publikačně velmi úspěšná; součet impaktních bodů publikací ústavu, po odečtení alikvotního podílu spoluautorů z jiných pracovišť, vzrostl z hodnoty cca 36 v roce 2001 na cca 55 v roce 2002.

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

Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic

Naše úsilí v oblasti proteomiky bylo soustředěno na metody extrakce bílkovin z obilí různých obilovin. K další charakterizaci extraktů bylo použito gelové elektroforézy a hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, která byla rovněž využita pro identifikaci bílkovin (**B**). Zajímavých výsledků jsme dosáhli i při studiu škrobových zrn z ječmene pomocí gravitační field-flow frakcionace. Ukázalo se, že charakter distribuce škrobových zrn je dán především odrudou a mnohem méně je ovlivněn lokalitou a sezónou (**B**). Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF byla využita k charakterizaci oligosacharidů v různých druzích zeleniny a ovoce a v potravinách. Výsledky prokázaly, že pro tyto účely je MALDI-TOF vhodnější technikou než dříve používané chromatografické a elektroforetické metody (**B**). S využitím nových, v ústavu vyvinutých pI-markerů byly prokázány výhody modifikace vnitřního povrchu křemenných kapilár technikou sol-gel pro kapilární isoelektrickou fokusaci (IEF) proteinů a mikroorganismů s fotometrickou a fluorescenční detekcí (**B**). Dále byla ověřena dlouhodobá stabilita gradientu pH při gelové IEF za přímého kontaktu elektrod s pracovním médiem, což je podstatná výhoda ve srovnání s uspořádáním, které využívá elektrodoých elektrolytů (**B**).

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Vhodnou volbou separačních podmínek v kapilární elektroforéze (CZE) lze do separačního procesu přechodně zapojit isotachoforézu (ITP), a tím zvýšit účinnost a citlivost separace využitím tzv. „stacking“ efektu. Výzkum se soustředil na roli chloridu, nejvýznamnějšího stackeru ve většině vzorků tělních tekutin. Výsledků získaných experimentálně, teoreticky a pomocí počítačových simulací lze využít při monitorování průběhu onemocnění *Diabetes mellitus* (**B**). Studium role základního elektrolytu s ohledem na vhodné migrační chování analytů, vedení elektrického proudu, udržení pH, Jouleovo teplo, elektroosmotický tok a základní detekční systémy ukázalo, že počet koiontů a jejich vlastnosti mají klíčový význam pro tvar píků a existenci systémové zóny (**B**). Pro rychlý výběr optimálních separačních podmínek při analýzách sledovaných látek v konkrétních matricích metodou CZE byl vyvinut databázový informační systém. Systém je schopen automaticky rozšiřovat svoji datovou bázi o nově publikované články, a na základě podobnosti fyzikálně chemických parametrů navrhnout optimální podmínky i pro dosud nepopsané situace (**B**). Byly vyvinuty metodiky pro chirální elektroforetické separace stericky odlišných forem nabitých klastrových boranů a jejich derivátů. Tyto metodiky jsou nutné pro vývoj a testování léčiv a pro vývoj homogenních stereoselektivních katalyzátorů na bázi klastrových sloučenin boru (**C**).

Oblast stopové prvkové analýzy

Byla dokončena studie mechanismu on-line atomizace selenovodíku v příčně vyhřívaném grafitovém atomizátoru, která ukázala výraznou závislost mechanismu atomizace na teplotě

(B). Byl popsán mechanismus atomizace hydridů a mechanismus odumírání volných atomů analytu v pozorovaném objemu „flame-in-gas shield“ atomizátoru **(B)**. Na základě systematického studia vlivu jednotlivých experimentálních parametrů a uspořádání optické trasy atomového fluorescenčního spektrometru na poměr signál/šum byla optimalizována metodika stanovení ultrastopových koncentrací selenu **(B)**. Pomocí jodu značeného ^{131}I byly zjištěny rychlosti přenosu jodidu mateřským mlékem, jakož i jodidu vyloučeného matkami i mláďaty. Dále bylo prokázáno, že biologický poločas bromidu závisí na příjmu sodíku a nikoli na příjmu chloridu, jak se dosud obecně předpokládalo **(B)**. Byl navržen způsob zajišťování kontroly jakosti výsledků stanovení těžkých kovů v prašných aerosolech, sledovaných v rámci národního programu „Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí“ **(C)**.

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Aktivita v oblasti superkritické fluidní extrakce (SFE) vodných médií byla zaměřena na vzorky piv s cílem izolovat a kvantifikovat tyto analytické skupiny: polycyklické aromatické uhlovodíky, polychlorované bifenyly a řadu těkavých komponent. Účelem první fáze optimalizačních experimentů s reálnými i modelovými vzorky bylo nalézt pracovní podmínky pro přijatelný kompromis mezi výtěžností a dobou trvání extrakce **(C)**. Rovněž byla dokončena optimalizační studie stanovení „zelených“ přírodních insekticidů pyrethrinové skupiny pomocí přímého spojení SFE a kapalinové chromatografie (HPLC). Pro ověření účinnosti kvantitativního zachytu analytů po SFE tuhých vzorků byly provedeny extrakce silničních prachů, které byly proměřeny několika pracovišti a několika různými metodami **(B)**. Byl navržen a prakticky ověřen nový způsob přípravy účinných a stabilních náplňových kapilárních kolon plněných suspenzí připravenou pomocí nadkritického oxidu uhličitého **(B)**. V oblasti termodynamických aplikací superkritické fluidní chromatografie byl popsán způsob zjišťování druhých křížových viriálních koeficientů v asymetrických směsích a byly zahájeny předběžné experimenty s iontovými kapalinami v roli stacionárních fází **(B)**.

Oblast analytické chemie životního prostředí

V souvislosti se sledováním zatížení půd těžkými kovy byla testována technika „Diffusive Gradients in Thin Film“ v kombinaci s atomovou spektroskopií **(B)**. Bylo vyvíjeno zařízení ke kontinuálnímu odběru jemné frakce vzdušného aerosolu a byly studovány děje související s UV redukcí dusičnanového anionu na kyselinu peroxodisítnou **(B)**. Pro monitorování koncentračního pozadí amoniaku v ovzduší byl zkonstruován příslušný detektor **(B)**. Byl vyvinut a ve spolupráci s belgickým partnerem testován anulární denuder sloužící k lepší chemické identifikaci jemné frakce biogenních aerosolů v ovzduší **(B)**.

d) Den otevřených dveří Ústavu analytické chemie AV ČR jsme letos uspořádali v neobvyklém termínu, totiž už 30. ledna 2002. Tento termín souvisel s tím, že právě u nás v Brně se ve dnech 29.-31. ledna konalo letošní ústřední kolo Chemické olympiády (ChO) v kategorii 3. a 4. ročníků gymnázií. Po dohodě s organizátory ChO jsme se rozhodli využít této výjimečné příležitosti k operativnímu uspořádání Dne otevřených dveří našeho ústavu, aby se studenti z celé republiky s vyhraněným zájmem o chemii mohli seznámit s pokročilými separačními metodami. V rámci této cílené akce navštívilo Ústav analytické chemie dne 30. ledna 40 účastníků ústředního kola ChO. Přestože byl tento počet nižší než při "běžných" dnech otevřených dveří našeho ústavu v předchozích letech (např. 19. října 2002 celkem 101 návštěvníků), pokládáme letošní akci za přínosnější díky relativně vysoké specializaci a vyššímu zájmu návštěvníků i díky lepšímu a snad produktivnějšímu využití času našich pracovníků, kteří se studentům v jednotlivých laboratořích věnovali. Ústav

analytické chemie rovněž patřil mezi několik ústavů AV ČR, které se podílely na výstavě Invence 2002, pořádané sdružením AMAVET v Kongresovém centru v rámci Týdne vědy a techniky (17.-19.10.). Vystavovali jsme přístroj pro vysokotlakou kapalinovou extrakci a zařízení pro nepřímou optickou detekci v kapalných médiích. Do této kategorie aktivit patrně spadá i zajištění krátkodobé odborné praxe v ústavu pro 3 studenty Střední průmyslové školy chemické v Brně.

f) Během roku 2002 vypověděl Ústav analytické chemie AV ČR smlouvu o sdružení, na jejímž základě byla společně s Českým geologickým ústavem a Českou zemědělskou univerzitou provozována Sdružená ultrastopová laboratoř (Praha 5 - Barrandov). Pracovníci ústavu působící v laboratoři přejdou do detašovaného pracoviště ústavu v krčském areálu AV ČR.

g) Vědecká orientace Ústavu analytické chemie AV ČR se postupně stává různorodější; hnací silou tohoto posunu je globální růst významu vysokomolekulárních látek biologického původu ve spektru zájmových objektů analytické chemie, k němuž v posledních letech dochází v důsledku potřeb molekulární biologie a medicíny. Ve struktuře ústavu se zmíněný globální posuv nejvýrazněji odrazil ve vzniku oddělení bioanalytické instrumentace k 1. 4. 2001. Z pohledu požadavků trvale udržitelného rozvoje však přitom neztrácí na významu ani rozvoj analytických metod pro látky nízkomolekulární, což vede ke zmíněné diversifikaci. Pokud jde o zařazování pracovníků ústavu do kvalifikačních stupňů ve smyslu příslušné směrnice Akademické rady AV ČR a navazujících úprav časových termínů, rozhodnutím ředitele ústavu byly jmenovány dvě atestační komise, z nichž jedna posuzovala návrhy na zařazení do kvalifikačního stupně „*vedoucí vědecký pracovník*“ a druhá návrhy na zařazení do nižších kvalifikačních stupňů. Jednání obou komisí proběhlo koncem listopadu 2002 a jeho dosavadním výsledkem je doporučení řediteli o zařazení pracovníků do kvalifikačních stupňů. Patrně nejvýraznějším problémem v činnosti pracoviště je nedostatek mzdových prostředků pro doktorandy, v jehož důsledku jsme bohužel nemohli přijmout některé slibné zájemce.

2. Vědecká a pedagogická spolupráce pracoviště s vysokými školami

a) Ústav analytické chemie AV ČR se zatím nepodílí na činnosti žádného výzkumného centra a nemá společná pracoviště s vysokými školami.

b) Vědecká spolupráce ústavu s českými vysokými školami probíhala převážně v rámci 6 společných grantových projektů (5 × GA ČR, 1 × MZdrav ČR), které významně přispěly k výsledkům shrnutým v části 1.b) této zprávy, a zahrnovala Universitu Karlovu (3 projekty), Masarykovu universitu v Brně (2 projekty), Universitu Palackého v Olomouci (1 projekt) a Universitu Pardubice (1 projekt).

c) Akreditace doktorského studijního programu Chemie se studijním oborem Analytická chemie, který je uskutečňován Přírodovědeckou fakultou UP v Olomouci a Ústavem analytické chemie AV ČR, byla rozhodnutím MŠMT ČR č.j. 23474/2002-30 ze dne 15. srpna t.r. prodloužena do 15. srpna 2006. 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. Neformální

spolupráce při výchově doktorandů probíhá s Universitou Pardubice. Na základě těchto kooperací se v ústavu během roku 2002 školilo 15 doktorandů. Kromě toho v laboratorních ústavu a pod odborným vedením pracovníků ústavu pracovalo na svých diplomových pracích celkem 14 diplomantů. Ve snaze o posílení motivace mladých pracovníků (do 33 let) prezentovat vlastní výsledky na mezinárodních i tuzemských konferencích a tím získávat zkušenosti a kontakty jsme v roce 2002 zorganizovali 2. kolo "Soutěže mladých pracovníků UIACH AV ČR o finanční podporu účasti na symposiích".

3. Spolupráce pracoviště s dalšími institucemi a s podnikatelskou sférou

a) Spolupráce s Výzkumným ústavem zdraví dítěte (Brno) probíhá v rámci projektu Programu podpory cíleného výzkumu a vývoje IBS4031209 *Kombinace mikročipu s hmotnostní spektrometrií pro vysoce efektivní populační a selektivní screening vrozených metabolických poruch* (příjemcem je UIACH AV ČR).

Spolupráce s Fakultní nemocnicí v Brně probíhá v rámci grantů GA ČR 203/00/0772 *Vývoj ultracitlivých analytických metod pro molekulární identifikaci a diagnostiku závažných chorob* (příjemcem je UIACH AV ČR, dalším spolupříjemcem je Masarykova universita v Brně) a GA ČR 303/00/0928 *Cystinurie - biochemická a molekulárně biologická studie* (příjemcem je Universita Palackého v Olomouci, vedle UIACH AV ČR jsou dalšími spolupříjemci jsou Universita Palackého v Olomouci a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze).

Spolupráce s Výzkumným ústavem potravinářským (Praha) probíhá v rámci projektů Ministerstva zemědělství ČR QD1005 *Vliv distribuce velikosti škrobových zrn na technologickou kvalitu ječmene* (příjemcem je Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., UIACH AV ČR je dalším spolupříjemcem) a QD1023 *Analýza glutenu (lepků) a sledování kvality bezlepkových potravin a surovin* (příjemcem je UIACH AV ČR, dalšími spolupříjemci jsou MBU AV ČR, Sdružení celiaků ČR a Immunotech, a.s.). Výsledky těchto spoluprací jsou zahrnuty v části 1.b) této zprávy.

Spolupráce se Státním zdravotním ústavem na státním úkolu *Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí* byla soustředěna na testování způsobilosti laboratoří v rámci příslušného národního programu, garantovaného Českým institutem pro akreditaci. Byly řešeny otázky jakosti výsledků a přípravy testovacích materiálů pro mezilaboratorní porovnávací zkoušky.

b) Na základě 4 hospodářských smluv byly v roce 2003 provedeny tyto činnosti:

Pro Výzkumný ústav liečiv (Modra, Slovenská republika) byly pomocí HPLC/MS identifikovány nečistoty ve dvou vyvíjených léčivech.

Identifikace nečistot v léčivech byla rovněž předmětem smlouvy s firmou Biotika (Slovenská Lupča, Slovenská republika).

Smlouva s firmou Test-line, s.r.o, Brno zahrnovala aplikaci hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF k potvrzení struktury proteinů pro využití v oblasti klinické biochemie.

Předmětem smlouvy se Státním zdravotním ústavem byla kvantifikace akrylamidu v různých stádiích potravních řetězců.

c) V rámci výzkumu a vývoje bioanalytické instrumentace byly uzavřeny dohody s firmou Gyros (Švédsko) o společném výzkumu mikrofabrikovaných zařízení a s firmou ABI (USA) o podpoře výzkumu bioanalytického využití hmotnostní spektrometrie. Součástí obou dohod je finanční i materiální podpora příslušných činností v ústavu, v případě firmy ABI včetně

poskytnutí hmotnostního spektrometru ESI-TOF. Pokračovala rovněž dlouhodobá spolupráce s firmami SEKO-K s.r.o., Brno a Applied Separations, Inc., Allentown, Pennsylvania, USA na vývoji laboratorních přístrojů pro kapalinovou extrakci za vysokých teplot a tlaků. V rámci spolupráce se Státním zdravotním ústavem pokračovalo zjišťování míry zdravotních rizik obyvatelstva, způsobovaných inhalací jemných frakcí aerosolů. V roce 2002 byla tato činnost soustředěna na zjišťování obohacovacích faktorů pro řadu relevantních prvků (As, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb).

d) V roce 2002 Ústav analytické chemie AV ČR neposkytl státním orgánům žádná písemně zpracovaná odborná stanoviska nebo posudky (pokud sem samozřejmě nepočítáme řadu individuálních stanovisek jednotlivých pracovníků ústavu, především posudky grantových přihlášek a diplomových a disertačních prací).

4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

a) Ústav se v roce 2002 podílel na řešení následujících projektů v rámci mezinárodních vědeckých programů:

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 UIACH 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. EVK2-CT-1999-0052 SUB-AERO.

Characterization and Sources of Carbonaceous Atmospheric Aerosols (belgicko-český projekt financovaný z prostředků EU, č. SPSD II EV/02/11).

b) Mezi nejvýznamnější vědecké výsledky, získané v rámci mezinárodní spolupráce, patří část výsledků v oblasti analýzy biopolymerů (spolupráce s Barnett Institute, Northeastern University, Boston, USA), v oblasti studia mechanismu atomizace v AAS (spolupráce s Istituto per i Processi Chimico-Fisici del C.N.R., Pisa, Itálie), v oblasti optimalizace a predikce separačních podmínek v kapilární zónové elektroforéze (Eindhoven University of Technology, Eindhoven, Holandsko a Universita v Bernu, Švýcarsko), v oblasti metod charakterizace proteinů ječmene (spolupráce s Universitou ve Vídni), v oblasti vývoje rychlých metod pro stanovení kvality škrobových zrn z různých druhů obilovin (spolupráce s universitami ve Ferrare a Bologni) a v oblasti optimalizace přímého spojení SFE-HPLC (Universita v Siegen, Německo).

c) V roce 2002 Ústav analytické chemie AV ČR nepořádal akce s mezinárodní účastí.

d) V roce 2002 navštívili Ústav analytické chemie AV ČR tito významní zahraniční vědci: Prof. M. M. Érico Flores (Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brazílie) –

atomová spektroskopie

Dr. Leonardo Lampugnani (Istituto per i Processi Chimico-Fisici del C.N.R., Pisa, Itálie) –
mechanismy atomizace v AAS

Prof. Michael Przybylski (Universita Konstanz, Německo) – moderní techniky hmotnostní spektrometrie biopolymerů

Dr. Patricia Smichowski (Comisión Nacional de Energía Atómica, Buenos Aires, Argentina)
– radioanalytické metody

Prof. Bernd W. Wenclawiak (Universita Siegen, Německo) – aplikace superkritických tekutin
v analytické chemii

e) Ústav analytické chemie AV ČR má fungující dvoustrannou dohodu s Universitou ve Vídni o spolupráci v oblasti studia proteomu ječmene.

5. Předpokládané hlavní okruhy vědecké činnosti pracoviště v roce 2002

Oblast separace, charakterizace a mikropreparace biopolymerů a částic

Pozornost v oblasti proteomiky bude soustředěna na identifikaci bílkovin z obiliek ječmene a charakterizaci obilných prolaminů pomocí různých technik hmotnostní spektrometrie. Těchto technik využijeme rovněž pro studium terciární struktury a konformačních změn bílkovin. Bude pokračovat studium distribuce škrobových zrn včetně vývoje jednoduché instrumentace. Bude studována tvorba a degradace škrobových polymerů pomocí kombinace separačních a hmotnostně spektrometrických technik. Kombinaci separačních metod a hmotnostní spektrometrie budeme věnovat pozornost jak při zdokonalování současné instrumentace, tak při studiu dalších aplikací v oblasti biologických i syntetických makromolekul. Studium elektroforézy biopolymerů a mikroorganismů bude pokračovat s využitím nekovalentní modifikace pro optickou a fluorescenční detekci.

Oblast teorie a metodologie elektromigračních metod

Bude pokračovat teoretické a metodologické studium vlastností elektrolytových systémů a zón analytů se zaměřením na jejich elektromigrační a systémové vlastnosti. Detailní pozornost bude věnována v praxi velmi používaným elektrolytovým systémům obsahujícím borát. Bude pokračovat studium vlivů složité matrice na separaci mikrosložek s cílem maximálně eliminovat negativní jevy a vytvořit podmínky pro využití vlastností systému k dosažení co nejvyšší analytické výpovědi a citlivosti stanovení. Bude pokračovat systematický výzkum chirálních separací aniontových klastrových boranů a jejich derivátů včetně vývoje analytických metod s použitím nativních cyklodextrinů jako chirálních selektorů. Vývoj automatického zařízení pro kapilární elektrochromatografii bude soustředěn zejména na dosažení automatického reprodukovatelného dávkování vzorku a na vývoj software pro řízení přístroje. Bude pokračovat vývoj barevných a fluorescenčních pl markerů a instrumentace pro gelovou isoelektrickou fokusaci.

Oblast stopové prvkové analýzy

Budou studovány nové přístupy ke kolekci hydridů, především v křemenových atomizátorech, v "graphite filter furnace" a na povrchu wolframového atomizátoru. Bude ověřena možnost chromatografické separace As(III) a As(V) pro přípravu radioaktivního indikátoru ^{73}As z ozářeného terče a možnost přípravy radioaktivního indikátoru ^{58}Co ozařováním v jaderném reaktoru LVR-15. Budou provedeny pokusy na biologickém modelu za řízeného deficitu jodu v potravě k simulaci stavu populace žijící v podmínkách sníženého příjmu jodu u rizikových skupin (kojenci, těhotné a kojící matky). Vyhledání a příprava nového testovacího materiálu pro analýzy prašných aerosolů bude soustředěna na tyto aktivity: testování homogenity a stability, dodání vztažných hodnot. V rámci sledování

zdravotních rizik plynoucích ze znečištění ovzduší bude prováděn metodický výzkum v oblasti zjišťování forem jednotlivých analytů.

Oblast superkritické fluidní extrakce a chromatografie

Superkritické fluidní extrakce kapalných vzorků budou soustředěny na praktické využití při stanovování obsahů polycyklických aromatických uhlovodíků, polychlorovaných bifenyly a těžkých látek v pivu. Vývoj instrumentace v oblasti superkritické fluidní chromatografie (SFC) bude zaměřen na deaktivaci komerčních silikagelových sorbentů a přípravu nových sorbentů. Termodynamické aplikace SFC budou soustředěny na využití iontových kapalin v roli stacionárních fází pro měření rozdělovacích koeficientů látek v aplikačně významných systémech iontová kapalina – superkritický oxid uhličitý. Budou prováděny vysokotlaké kapalinové extrakce chmele a chmelových produktů s cílem nalézt podmínky (teplota, tlak, rozpouštědlový systém, extrakční mód) pro stanovení alfa-hořkých kyselin v různorodých vzorcích a bez výrazných mechanických nebo chemických úprav.

Oblast analytické chemie životního prostředí

Bude sledován vliv zvýšeného obsahu oxidu uhličitého v atmosféře na emise biogenních sloučenin z porostu smrku ztepilého. Dosavadní měřicí stanice obsahující monitory ozonu, oxidu dusičitého, kyseliny dusičné, dusité teploty a vlhkosti bude doplněna o monitor amoniaku. Bude dokončen vývoj zařízení, které bude sloužit k odběru jemné frakce vzdušného aerosolu.

V Brně dne 15. ledna 2003

RNDr. Josef Chmelík, CSc.
ředitel UIACH AV ČR