

## Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 2005

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

#### a) *stručná charakteristika vědecké činnosti pracoviště*

Ústav analytické chemie se zaměřuje na výzkum nejmodernějších metod pro chemické analýzy s využitím v bioanalýze a chemii životního prostředí. Kromě základního metodologického výzkumu jde také o vývoj praktických postupů a analytické instrumentace. Směry výzkumu jsou určeny Výzkumným záměrem Z 40310501 na léta 2005-2010 Moderní analytické techniky pro bioanalýzu, ekologii a nanotechnologie.

#### b) *několik nejdůležitějších výsledků vědecké činnosti a jejich aplikací*

Analýza životního prostředí: Pro studium složení jemné frakce aerosolů v ovzduší jsme sestrojili kolektor aerosolu, který pracuje na principu záhytu tohoto aerosolu ve dvou protiproudých paprscích aerosolu kapaliny (B). Pokračoval vývoj obohacovací techniky založené na principu záhytu těkavých sloučenin z ovzduší v denuderu se stékajícím filmem kapaliny, která byla využita při analýze emisí biogenních sloučenin z *Picea abies* (L) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého (B). Technika difúzního gradientu v tenkém filmu byla úspěšně odzkoušena pro charakterizaci potenciálně biologicky dostupných forem vybraných kovů (Cd, Cr, Cu, Ni a Pb) v půdách (B).

Bioanalytická instrumentace: Vyvinuli jsme postup pro přípravu miniaturizovaných enzymatických reaktorů pro přímé spojení s hmotnostní spektrometrií. Byly popsány teoretické i praktické základy funkce kapalinového spojení pro kontinuální připojení separací s elektrosprejem včetně aerodynamického adaptéru pro vedení iontů ke vstupní štěrbině hmotnostního spektrometru.

Elektromigrační metody: Byly zkoumány vlastnosti nově objeveného (hybridního) typu elektroforetického rozhraní zejména s ohledem na přechodné tvary migrujících zón. Byly popsány základní fáze časově proměnného vývoje tvaru zóny s hybridním rozhraním, což umožňuje předpovědět a vysvětlit neobvyklé tvary detegovaných píků (B, anotace). Studium vlastností nedokonale pufrovaných a nepufrovaných elektrolytových systémů ukázalo, že na výsledek separace má zvýšený vliv pH vzorku. Alkalické nebo kyselé vzorky mohou v takových systémech generovat vznik nekontrolovaných systémových zón iontů rozpouštědla ( $H^+$  nebo  $OH^-$ ) (B). Kapilární zónová elektroforéza byla využita k přesnému stanovení hodnot  $pK_a$  nově syntetizovaných látek s potenciálním nootropickým efektem, derivátů acetylamino-fenoxyoctové kyseliny (C). Byla vypracována metoda elektroforetického stanovení ethylglukuronidu, markeru konzumace alkoholu. Metoda využívá laktátu a acetátu přítomných ve vzorcích séra ke zvýšení citlivosti analýz vytvořením podmínek pro přechodnou izotachoforézu (C). Na příkladu sanguinarinu a chelerythrinu jsme studovali vliv malé rozpustnosti látek na elektroforetickou pohyblivost a tvar zón (B).

Separace v kapalně fázi: Vyvinuli jsme nové barevné markery isoelektrického bodu, které jsme využili pro rozvoj miniaturní instrumentace a kapilárních elektroforetických metod pro separace proteinů a jednobuněčných organismů (B). Navrhli a ověřili jsme originální metodu dvourozměrné isoelektrické fokusace na planárním gelu, která umožňuje výrazné zakoncentrování a účinnou separaci proteinů (B). Vypracovali jsme metodu pro velmi citlivou fluorimetrickou detekci mikroorganismů separovaných kapilárními elektroforetickými metodami (B). Byla navržena nová instrumentace a metodika fluorimeterické detekce pro mikrokolonové separace, která byla ověřena na kapilární isoelektrické fokusaci proteinů (B).

Stopová prvková analýza: Pro speciální analýzu tri- a pentavalentních anorganických a metylovaných sloučenin As pomocí selektivního generování těkavých sloučenin jsme vyvinuli automatickou kryoseparační jednotku, která podstatně zjednodušuje manuální a na obsluhu velmi náročnou techniku předkoncentrace a separace těkavých sloučenin vymrazováním v kapalném dusíku (B). Byl nalezen nový extrémně jednoduchý způsob předkoncentrace antimonu a bismutu založený na generování hydridů, jejich záhytu v modifikovaném konvenčním

křemenném atomizátoru a na atomizaci a detekci analytu atomovou absorpční spektrometrií (B, anotace). Byl navržen a vyzkoušen modulární design atomizátoru hydridů pro atomovou absorpční spektrometrii (B). Na základě studia vlivu kontaminace plynů vstupujících do tří plamenových atomizátorů hydridů pro atomovou fluorescenční spektrometrii (AFS) kyslíkem na tvar signálu, na zakřivení analytických kalibrací a na prostorové rozložení volných atomů analytu byl nalezen mechanismus rušivého vlivu molekulárního kyslíku na stanovení As, Se a Sb metodou AFS (B).

Superkritická kapalinová extrakce a chromatografie: Pomocí superkritické fluidní chromatografie (SFC) jsme studovali mezifázovou distribuci málo těkavých organických látek v progresivních rozpouštědlových systémech tvořených alkyylimidazoliiovými iontovými kapalinami a superkritickým oxidem uhličitým. Výsledky jsme interpretovali pomocí lineárních vztahů solvatační energie (B, anotace). Retenční měření SFC umožnila stanovit rozdělovací koeficienty aromatických sirných heterocyklů mezi superkritický CO<sub>2</sub> a iontovou kapalinu [hmim][Tf<sub>2</sub>N], které mohou mít význam v alternativních procesech odsiřování ropných produktů (C, anotace). S použitím extrakční aparatury vlastní konstrukce byly změřeny rozpustnosti několika polycyklických aromatických uhlovodíků ve stlačené horké vodě v teplotním oboru 40°C–210°C (B). Dostupné experimentální údaje byly využity k sestavení korelace pro odhad rozpustnosti polycyklických aromatických uhlovodíků ve stlačené horké vodě v širokém oboru teplot a tlaků (B).

Proteomika: Vypracovali jsme metodologii identifikace bílkovin z ječmene pomocí kombinace separačních metod a hmotnostní spektrometrie ve spojení s databázovým vyhledáváním (B). V extraktech pšeničné mouky byly analyzovány intaktní bílkoviny pomocí MALDI TOF/TOF MS. Vodné a chloridové extrakty byly separovány pomocí gelové chromatografie na několik frakcí, ve kterých byly intaktní bílkoviny analyzovány rovněž pomocí MALDI TOF/TOF MS a separovány pomocí 1-D PAGE (C). Analyzovali jsme organokovové komplexy s niklem pomocí off-line kombinace chromatografické separace na reverzní fázi a LDI-TOF hmotnostní spektrometrie (B).

*c) nejvýznamnější popularizační aktivity pracoviště*

V březnu se uskutečnilo na UIACH otevření Společné laboratoře UIACH a UŽFG za přítomnosti předsedkyně AVČR prof. RNDr. Heleny Illnerové, DrSc. a dalších významných zástupců předsednictva a kanceláře AVČR a zástupců místní samosprávy a tisku.

Ústav analytické chemie vystavoval na výstavě laboratorní techniky, vybavení, pomůcek a služeb "Laboratoř 2005" konané v Kongresovém centru v Praze 14.-15.9.2005 originál prvního plynového chromatografu sestrojeného na ústavu a patentovaného v roce 1952 prof. Ing. Jaroslavem Janákem, DrSc. Profesor Janák přednesl na této akci přednášku nazvanou "Vývoj chromatografie v Čechách". Mezi popularizační aktivity lze též zařadit další přednášky profesora Janáka "O čem k nám mluví vývoj separačních analytických metod" na seminářích pořádaných Českou společností chemickou v Praze Slovenskou chemickou společností na Přírodovědecké fakultě Univerzity Komenského v Bratislavě.

Ústav se výrazně podílel na organizačním zajištění i odborné náplni brněnské části Týdne vědy a techniky 2005. Přednáškami určenými pro veřejnost přispěli Ing. F. Foret, CSc. („Menší, rychlejší, citlivější - mikrofluidika v biochemické analýze“) a doc. RNDr. Michal Roth, CSc. („Stlačená rozpouštědla, iontové kapaliny a superkritické tekutiny v (nejen) analytické chemii“). Součástí Týdne vědy a techniky 2005 byl i Den otevřených dveří UIACH AV ČR (8.11.2005), kterého se zúčastnilo přes 70 návštěvníků.

Do oblasti popularizačních aktivit dále spadají přednášky pracovníků ústavu v rámci 3. ročníku Školy HPLC/MS (Katedra analytické chemie Univerzity Pardubice a Spektroskopická společnost J. M. Marci, Doubice, 29.8.-2.9.2005 -Ing. K. Klepárník, CSc., Ing. P. Karásek, PhD., Ing. K. Klepárník, CSc., kurzu Analýza organických látek (pořadatel 2 THETA, Komorní Lhotka, 10.-13.10.2005 - doc. RNDr. L. Křivánková, CSc., Ing. J. Planeta, PhD.), a kurzu Automatická spektrometrie (pořadatel 2 THETA, Komorní Lhotka, 6.-10.6. 2005 - doc. RNDr. B.Dočekal, CSc.).

d) *domácí a zahraniční ocenění zaměstnanců pracoviště*

Profesor Janák získal čestnou medaili „DE SCIENTIA ET HUMANITATE OPTIME MERITIS“, kterou uděluje Akademie věd České republiky vynikajícím osobnostem za zvláště záslužnou činnost v oblasti vědy a humanitních idejí.

e) *další specifické informace o pracovišti*

V listopadu bylo atestováno 20 pracovníků výzkumu, v souladu s atestačními kritérii přijatými v roce 2004 doporučila atestační komise ředitele přeřazení pracovníků do kvalifikačních stupňů odpovídajících jejich vědecké a pedagogické aktivitě a úspěšnosti v získávání projektů.

2. Vědecká a pedagogická spolupráce pracoviště s vysokými školami

a) *nejvýznamnější vědecké výsledky pracoviště vzniklé ve spolupráci s vysokými školami*

V rámci společného projektu s pracovníky katedry analytické chemie PřF UK v Praze (GA AV ČR A400310507 "Speciální analýza atomovou fluorescenční a atomovou absorpční spektrometrií založená na generování hydridů" byla řešena především prekoncentrace hydridů v modifikovaném konvenčním křemenném atomizátoru a vývoj modulárního designu atomizátoru hydridů, výsledky jsou zahrnuty v bodu 1b.

Ve spolupráci s Chemickou fakultou VUT v Brně řešíme společný projekt IAA400310506 GA AV ČR "Mikrofluidické a hmotnostně spektrometrické systémy pro diferenciální proteomiku a metabolomiku průmyslově důležitých mikroorganismů". Pro tento výzkum byla vybudována část infrastruktury nezbytné pro vlastní návrh a přípravu mikrofluidických prvků.

Ve spolupráci s Masarykovou univerzitou v Brně při řešení společného projektu GA ČR 203/03/0515 " Integrovaná genomická a proteomická analýza terapeuticky důležitých bakteriofágů" byla vypracována metoda přípravy enzymatických mikroreaktorů.

V oblasti problematiky elektroforetických technik a extrakce stlačenou horkou vodou řešíme společně s katedrou analytické chemie Univerzity Pardubice projekt GA ČR 203/05/2106.

Spolupráce na využití rychlé elektroforetické separace s velmi citlivou fluorimetrickou detekcí pro identifikaci mikroorganismů probíhá s oddělením mikrobiologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně v rámci řešení projektu (A 4031302).

Projekt GA ČR 526/03/1182 "Emise biogenních sloučenin z Picea abies (L) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého" je řešen ve spolupráci s Agrochemickou fakultou MZLU Brno a Ústavem krajinné ekologie AV ČR. V rámci tohoto projektu je sledován vliv oxidu uhličitého na zvýšení oxidační kapacity atmosféry s horizontem do roku 2050.

Grant FRVŠ 919/2005 G6 „Studium interferencí při kolekci hydridotvorných prvků v metodách atomové absorpční spektrometrie“ je řešen v rámci spolupráce s FCH VUT. V tomto projektu, řešeném studentkou FCH VUT a jejím školitelem z UIACH, poskytuje UIACH speciální špičkovou přístrojovou techniku (atomový absorpční spektrometr Perkin-Elmer 4110 ZL) a čisté laboratoře splňující potřebné podmínky pro stopové a ultrastopové analýzy.

b) *nejvýznamnější výsledky činnosti výzkumných center a dalších společných pracovišť ústavu AV s vysokými školami*

V roce 2005 zahájilo činnost "Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele programu "Výzkumná centra PP2-DP01" podporované MŠMT. UIACH se podílí na řešení dané problematiky jako jeden ze spolupříjemců finanční podpory. Náš ústav vypracoval v tomto roce metodologii identifikace bílkovin ze zrna ječmene odrůdy Jersey využívající špičkovou instrumentaci pro separační techniky (kapalinová chromatografie, gelová elektroforéza a hmotnostní spektrometrie ve spojení s databázovým vyhledáváním).

c) *spolupráce s vysokými školami na uskutečňování doktorských studijních programů (DSP) a magisterského a bakalářského studia*

UIACH má akreditaci pro doktorský studijní obor Analytická chemie, který je uskutečňován s PřF UP v Olomouci, a pro obor "Chemie životního prostředí" s UCHTOŽP FCH VUT v Brně. Ústav má též uzavřenu smlouvu o spolupráci při uskutečňování doktorských studijních programů s Agronomickou fakultou MZLU v Brně. Spolupracujeme při výchově doktorandů s FaF VFU v Brně, Univerzitou Pardubice a VŠCHT Praha.

Řada zaměstnanců je členy oborových rad a komisí pro státní doktorské zkoušky a obhajoby doktorských disertačních prací (dr. D. J. Dědina na PřF UK; doc. Křivánková, doc. Roth, dr. Chmelík na PřF UP v Olomouci; doc. Křivánková, Ing. Foret, doc. Roth, doc. Šlais na PřF MU v Brně; doc. Dočekal, doc. Křivánková, dr. Kahle na UCHTOŽP FCH VUT v Brně.

Zaměstnanci přednášejí na řadě univerzit a vysokých škol v ČR i v zahraničí: PřF UK – dr. Dědina; FJFI ČVUT – dr. Dědina, dr. Vobecký; FCHI VŠCHT Praha – dr. Dědina, doc. Dočekal; Univerzita Pardubice – Ing. Foret, doc. Křivánková; FaF VFU Brno - doc. Vespalec.

Ing. Foret je členem zkušební komise při PhD studentů na Univerzitě v Lundu (Švédsko) a San Pablo-CEU University v Madridu (Španělsko).

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

#### *a) společné projekty výzkumu a vývoje podpořené z veřejných prostředků*

V roce 2005 byl zahájen provoz společné proteomické laboratoře UIACH a UŽFG AVČR. Během roku byla laboratoř vybavena instrumentací pro separační techniky, dvourozměrnou kapalinovou chromatografii a gelovou elektroforézou, a čtečkou gelů GemiDocXRS. Instrumentace je využívána pro izolaci bílkovin a peptidů. Byl zahájen rutinní provoz identifikace bílkovin extrahovaných z různých živočišných a rostlinných tkání pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF/TOF založené na přesném stanovení hmotnosti skupiny peptidů získaných proteolýzou izolované bílkoviny pomocí sekvenčně specifických endoproteáz a jejich porovnáním s databázemi bílkovin.

Za podpory Ministerstva zemědělství řešíme společně s Výzkumným ústavem potravinářským projekt 1B 53002 "Hodnocení bezpečnosti potravin pro bezlepkovou dietu". V roce 2005 byla provedena optimalizace extrakce gliadinů z pšenice. Frakcionací etanolového extraktu gliadinů pomocí gelové chromatografie byly získány 4 frakce a pomocí ELISA analýzy a gelovou elektroforézou byla určena frakce obsahující nejvyšší množství gliadinů.

Část úkolů grantového projektu GAČR 203/05/2106 týkající se extrakcí stlačenými tekutinami byla řešena ve spolupráci s Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským, a.s.

Projekt GA AVČR A400310505 "Elektrická fokusační předkoncentrace a kontinuální prvková analýza aerosolů atomovou emisní spektrometrií" je řešen ve spolupráci s Ústavem fyzikálního inženýrství, FSI, VUT Brno.

Projekt GAČR 526/03/1182 "Emise biogenních sloučenin z *Picea abies* (L) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého" je řešen ve spolupráci s MZLU v Brně a ÚKE AVČR.

Grant QF4082 grantové agentury NAZV Ministerstva zemědělství ČR „Výzkum možností zdokonalení postupu výroby dohříváných sýrů s využitím biochemických charakteristik používaných ČMK“ je řešen společně s firmou Milcom a.s. Tábor. Badatelský výzkum biochemických procesů při zpracování mléka na sýry doplňujeme o cílený výzkum a vývoj instrumentace pro analýzy s využitím technicky jednoduchých řešení. V roce 2005 jsme dokončili prototypovou verzi přístroje pro přesné stanovení obsahu laktózy v surovém kravském mléce.

Pokračovala dlouhodobá spolupráce s firmou BioRad ( Hercules, USA) při vývoji nízkomolekulárních markerů izoelektrického bodu vhodných zejména pro kapilární, free-flow a další nové formy izoelektrické fokusace proteinů.

#### *b) výsledky výzkumu a vývoje pro ekonomickou sféru*

Vývoj zařízení pro automatizaci elektrochromatografické a elektroforetické analýzy byl prováděn v rámci programu podpory cíleného výzkumu a vývoje AV ČR č. S4031201 ve spolupráci s firmou ECOM s.r.o. Praha. Byly vyvinuty uzly (detektor, dávkování) automatizovaného kapilárního elektrochromatografu, pro který firma dodávala některé původní instrumentální komponenty.

Ve spolupráci s firmou RS Dynamic s.r.o. je vyvíjena instrumentace pro analýzu výbušnin. Vývoj instrumentace byl ukončen pro stanovení neznámějších výbušnin na "suché" cestě. Předpokládaný termín započetí výroby je první pololetí roku 2006.

*c) odborné expertizy zpracované v písemné formě pro státní orgány a instituce*

Zaměstnanci ústavu vypracovávají celoročně posudky diplomových, disertačních, habilitačních prací, grantových přihlášek a rukopisů zaslaných do významných mezinárodních časopisů, především Electrophoresis, Journal of Chromatography, Journal of Separation Science, Analytical Chemistry, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, Spectrochimica Acta Part B a Talanta, Current Analytical Chemistry, Analytical and Bioanalytical Chemistry.

4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

*a) přehled mezinárodních projektů, které pracoviště řeší v rámci mezinárodních vědeckých programů*

Ústav se v roce 2005 podílel na řešení projektu "Optimized Hydride Generation Systems for Arsenic Speciation Analysis" v rámci programu "Fogarty International Research Collaboration Award", jehož zastřešujícími organizacemi jsou "Fogarty International Center" a "National Institute of Environmental Health Sciences".

Dalším projektem byl "Optimized Hydride Generation Systems for Arsenic Speciation Analysis", který byl řešen ve spolupráci Department of Nutrition, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA.

Z prostředků EU, SPSS II EV/02/11 byly financovány úkoly řešené na belgicko-českém projektu "Characterization and Sources of Carbonaceous Atmospheric Aerosols".

*b) nejvýznamnější vědecké výsledky dosažené v rámci mezinárodní spolupráce*

Ve spolupráci s CNR v Itálii bylo připraveno a charakterizováno nové rozhraní pro hmotnostní spektrometrii.

Ve spolupráci s Chemickým ústavem Technologické university v Eindhoven (Holandsko) byly studovány vlastnosti nedokonale pufovaných systémů pro zónovou elektroforézu.

Ve spolupráci s Ústavem klinické farmakologie University v Bernu byla vypracována metoda elektroforetického stanovení ethylglukuronidu, markeru konzumace alkoholu.

Výsledky spolupráce s Department of Nutrition, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA v rámci výše uvedeného projektu "Optimized Hydride Generation Systems for Arsenic Speciation Analysis" jsou zahrnuty v bodu 1b.

Výsledkem spolupráce s Universitou v Gentu (Belgie) byla konstrukce a ověření funkce anulárního denuderu s náplní aktivního uhlí a molekulového síta při identifikaci "artefaktů", které zkreslují kvantifikaci aerosolů v atmosféře.

*c) akce s mezinárodní účastí, které pracoviště organizovalo*

12<sup>th</sup> International Symposium on Field-Flow Fractionation v Brně ve dnech 28. - 30. srpna.

Symposia se zúčastnilo celkem 70 odborníků, z nichž 60 bylo ze zahraničí.

2nd International Workshop CECE 2005 v Brně ve dnech 14. listopadu. Akce se zúčastnilo 40 odborníků, 11 účastníků bylo ze zahraničí.

*d) výčet jmen nejvýznamnějších zahraničních vědců, kteří navštívili pracoviště AV ČR*

Prof. Dr. Wolfgang Thormann, University of Bern, Švýcarsko; Prof. Reinaldo C. Campos, Pontifical Catholic University, Rio de Janeiro, Brazílie; Dr. Miroslav Stýblo, University of North Carolina at Chapel Hill, USA; Prof. Dmitri A. Katskov, Tshwane University of Technology, Pretoria, JAR; Prof. Thomas Laurell, Univ of Lund, Švédsko; Dr. J.-L. Viovy, Curie Institute, Paris, Francie; Prof. A. Guttman, University of Insbruck, Rakousko; Dr. Salvatore Fanali, CNR, Rome, Itálie; Prof. E. Kenndler, University of Vienna, Rakousko; Dr. Z. Aturki, CNR, Rome, Itálie; Prof. Y. Liushui, Nanchang University, Čína.

## Anotace významného výsledku

Gebauer, P., Malá, Z., Boček, P.: **Objev nového typu migrujícího zónového rozhraní**

Na teoretickém základě jsme předpověděli zcela nový typ elektroforetického rozhraní, které zahrnuje navzájem protichůdné vlastnosti: samozaostřující efekt rozhraní a elektromigrační disperzi. Jeho existenci jsme experimentálně potvrdili a shledali, že jeho častá přítomnost např. v systémech užitých pro klinické a biochemické analýzy přináší zhoršení správnosti a přesnosti analýz. Dosud byly příčiny takových problémů nejasné a jejich odstranění vyžadovalo pracné experimenty. Výsledky naší práce umožňují teoreticky předvídat existenci hybridních rozhraní a provádět výpočty složení vhodných systémů, které jsou pod exaktní kontrolou a zajišťují analýzy reálných (např. klinických a biochemických) vzorků za optimálních podmínek. Přínos našich výsledků pro analytickou praxi je zásadní.

### **Discovery of a new type of moving zone boundary**

Based on a theoretical study we predicted a new type of electrophoretic boundary that involves mutually opposite properties: the self-sharpening effect and electromigration dispersion. We verified its existence experimentally and found that its frequent presence in systems used, e.g., in clinical and biochemical analyses brings about a decrease in accuracy and precision of the analyses. The reasons of such problems were unclear so far and their elimination required laborious experiments. Our results allow to theoretically predict the existence of hybrid boundaries and to calculate the composition of suitable systems that are under exact control and provide optimum conditions for analyses of real (e.g. clinical and biochemical) samples. The contribution of our results to the analytical practice is essential.

(1) Gebauer, P., Boček, P.: *A new type of migration zone boundary in electrophoresis. 1. General description of boundary behavior based on EMD velocity profiles. - Electrophoresis 26: 453-462 (2005).*

(2) Gebauer, P., Malá, Z., Boček, P.: *A new type of migrating zone boundary in electrophoresis. 2. Transient sample zone shapes. Electrophoresis, in press.*

(3) Gebauer, P., Malá, Z., Boček, P.: *A new type of migrating zone boundary in electrophoresis. 3. The hybrid boundary and stacking criteria. Electrophoresis, in press.*

Planeta, J., Karásek, P., Roth, M.: **Superkritická fluidní chromatografie s iontovými kapalinami pro „zelenou“ chemii a technologii**

Soudobý důraz na trvale udržitelný rozvoj a procesy šetrné k životnímu prostředí vede k rostoucímu využívání nekonvenčních alternativních rozpouštědel, jako jsou superkritické tekutiny a iontové kapaliny. Aplikace iontových kapalin, tj. organických solí s body tání blízkými se pokojové teplotě, v posledních letech exponenciálně narůstají. Významným rysem iontových kapalin je téměř nulový tlak par, a tedy nulový příspěvek ke znečištění atmosféry (na rozdíl od běžně užívaných organických rozpouštědel). Důležitá třída aplikací využívá kombinace iontových kapalin a superkritického oxidu uhličitého. K racionálnímu návrhu těchto aplikací je potřeba znát distribuční konstanty zájmových látek mezi iontovou kapalinou a superkritickým CO<sub>2</sub>. Pro měření těchto údajů jsme vyvinuli techniku superkritické fluidní chromatografie s iontovými kapalinami v roli stacionárních fází, a tuto techniku jsme využili v „badatelských“ i aplikačních studiích.

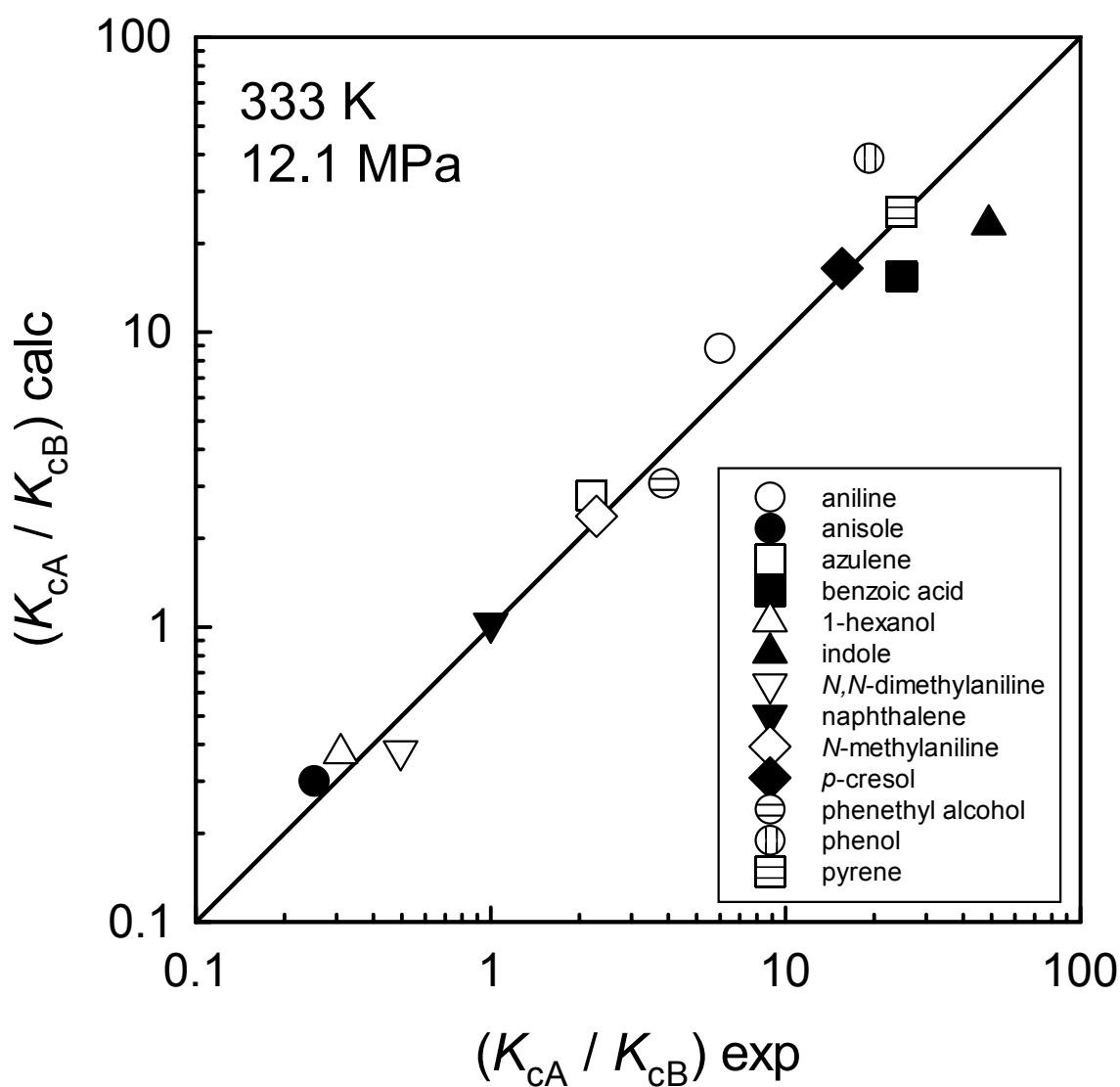
**Supercritical fluid chromatography with ionic liquids for “green” chemistry and technology**

Current emphasis on sustainable development and on environmentally benign processes results in growing use of unconventional, alternative solvents including supercritical fluids and ionic liquids. The ionic liquids, i.e., the organic salts with melting points near room temperature, have recently enjoyed an exponential growth in applications. The principal virtue of ionic liquids is their lack of vapor pressure and, consequently, no contribution to atmospheric pollution (as opposed to conventional organic solvents). In an important class of applications, ionic liquids are combined with supercritical carbon dioxide. A rational design of such applications requires the knowledge of partition coefficients of relevant substances between the ionic liquid and supercritical CO<sub>2</sub>. To measure such data, we have developed a technique of supercritical fluid chromatography with ionic liquid stationary phases, and we have used it in fundamental as well as application-related studies.

(1) Planeta, J., Roth, M.: *Partition coefficients of low-volatility solutes in the ionic liquid 1-n-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate–supercritical CO<sub>2</sub> system from chromatographic retention measurements.* - *J. Phys. Chem. B* 108: 11244-11249 (2004).

(2) Planeta, J., Roth, M.: *Solute partitioning between the ionic liquid 1-n-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate and supercritical CO<sub>2</sub> from capillary-column chromatography.* - *J. Phys. Chem. B* 109: 15165-15171 (2005).

(3) Planeta, J., Karásek, P., Roth, M.: *Distribution of sulfur-containing aromatics between [hmim][Tf<sub>2</sub>N] and supercritical CO<sub>2</sub>: a case study for deep desulphurization of oil refinery*



Interpretace limitních distribučních konstant několika organických látek mezi iontovou kapalinou [bmim][BF<sub>4</sub>] a superkritickým CO<sub>2</sub> pomocí lineárních vztahů solvatační energie – srovnání experimentálních a vypočtených hodnot

Limiting partition coefficients of several organic solutes between the [bmim][BF<sub>4</sub>] ionic liquid and supercritical CO<sub>2</sub>: comparison of the experimental values with calculations via linear solvation energy relationships





Před přípravou kolon pro superkritickou fluidní chromatografii s iontovými kapalinami je nutno leptáním zdrsňit vnitřní povrch používaných kapilár z taveného křemene

Prior to preparation of capillary columns for SFC with ionic liquid, it is necessary to roughen the inner surface of the fused silica tubing by etching with  $\text{NH}_4.\text{HF}_2$

## Jan Kratzer, J., Dědina, J.: **Prekoncentrace antimonu a bismutu pro jejich ultrastopové stanovení**

Instrumentální analytická chemie stojí v posledních letech před novou výzvou: stanovovat ultrastopové koncentrace analytů. K dosažení odpovídající citlivosti je obvykle potřeba vybavit laboratoř velmi drahou instrumentací. Pro stanovení prvků, které lze převést na těkavé hydridy, jako jsou antimon a bismut, se používá atomová absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS). Nezbytná atomizace hydridů je nejčastěji prováděna v jednoduchém křemenném atomizátoru. Klasické použití HG-AAS ovšem na požadavky ultrastopové analýzy nestačí.

My jsme vyvinuli extrémně jednoduchý a laciný způsob prekoncentrace antimonu a bismutu přímo v křemenném atomizátoru. Ve srovnání s klasickým použitím HG-AAS náš postup neklade vyšší požadavky na přípravu vzorků ani nezvyšuje náklady na vybavení a analýzu a přitom zlepšuje citlivost o 1-2 řády. Jinými slovy, tato naše metoda umožňuje stanovovat ultrastopové koncentrace antimonu a bismutu i v těch laboratořích, které nejsou vybavené velmi drahou špičkovou instrumentací.

### **Preconcentration of antimony and bismuth for ultratrace determination**

Nowadays, instrumental analytical chemistry faces a new challenge: to determine ultratrace analyte concentrations. Very expensive instrumentation is usually required to reach the corresponding sensitivity. Volatile hydrides forming elements, such as antimony and bismuth, are often determined by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) employing simple quartz atomizers to atomize hydrides. However, the classical HG-AAS is not sensitive enough for ultratrace determinations.

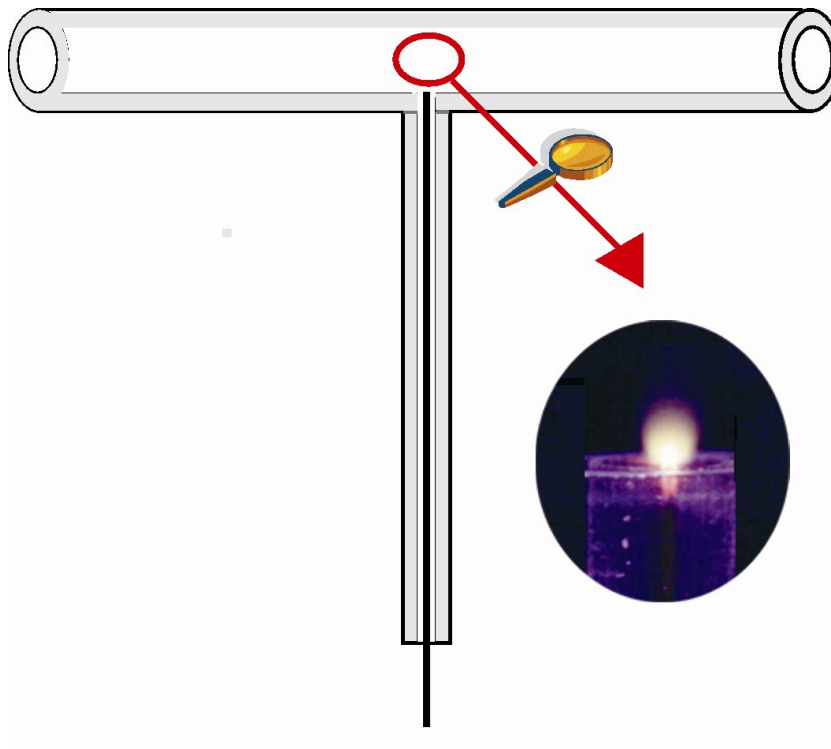
We have developed an extremely simple approach to antimony and bismuth preconcentration where preconcentration step is done directly in the quartz atomizer. Comparing to the classical HG-AAS, our procedure does not require a more complicated sample preparation, it also does not require higher operational or investment costs but it improves sensitivity by 1-2 orders of magnitude. In summary, our procedure makes possible ultratrace antimony and bismuth determinations also for laboratories not equipped with the very expensive instrumentation.

(1) Kratzer, J., Dědina, J.: *In situ trapping of stibine in externally heated quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry.* - *Spectrochim. Acta Part B* 60: 859-864 (2005).

(2) Kratzer, J., Dědina, J.: *In situ trapping of bismuthine in externally heated quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry.* - *J. Anal. Atom. Spectrom.*, in press

(3) Dědina, J., Kratzer, J.: *Způsob prekoncentrace antimonu pro jeho stanovení metodami atomové spektrometrie.* Úřad průmyslového vlastnictví, PV 2004 – 854, 2.8. 2004

(4) Dědina, J., Kratzer, J.: Způsob prekoncentrace bismutu pro jeho stanovení metodou atomové absorpční spektrometrie. Úřad průmyslového vlastnictví, PV 2005 – 761, 8.12. 2005



Křemenný atomizátor

The quartz atomizer