

## Výroční zpráva Ústavu analytické chemie AV ČR za rok 1998

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

a) Vědecká činnost UIACH AV ČR spadala 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**

Studium produktů reakce nízkomolekulárních nenasyčených aldehydů s modelovými peptidy pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI (matrix-assisted laser desorption-ionization) potvrdilo, že dochází k tvorbě dvou druhů produktů (Schiffova báze a produkt Michaelovy adice). Hmotnostní spektrometrie MALDI byla také použita k analýze produktů enzymatické degradace škrobových zrn ječmene; zrna byla separována frakcionací tokem v gravitačním poli (GFFF) (**B**). Výsledky separace fragmentů nukleových kyselin ukazují, že v komerčních zařízeních s kapilárami o délce nad 20 cm se dosud plně nevyužívá potenciálu kapilární elektroforézy (**B**).

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

Teoretický model vlastností elektroforetických zón v binárních elektrolytových systémech byl doplněn o možnost snadno a rychle předpovědět tvar píků i jejich možné "schizofrenní" elektromigrační disperze (**B**). Byl ověřen návrh modelu izotachoforetické fokuzace (ITF) v kombinovaném gradientu pH a vodivosti a návrh využití k regulaci selektivity v ITF micelární pseudofázi (**B**). Byla studována časová stabilita zón v kontinuální preparativní elektroforéze a jejich elektrodynamické zakřivení (**B**). Byla potvrzena správnost výsledků analýz biologických vzorků s proměnlivou maticí při využití izotachoforézy (ITP) jako on-line předseparačního kroku před kapilární zónovou elektroforézou (CZE) (**B**). Byly zahájeny práce na vývoji makroporézních gelů pro kapilární elektrochromatografii (**C**).

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

Studium operačních charakteristik atomizátorů pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS) se soustředilo na podélně vyhřívaný grafitový atomizátor s napařeným iridiem a s permanentním modifikátorem Pd/Ir, a na charakter proudění a způsob odumírání volných atomů v křemenových atomizátorech. Výsledky jsou kompatibilní s radikálovou teorií atomizace hydridů (**B**). Pokračovaly práce v oblasti charakterizace speciálních materiálů pro moderní technologie (**C**). Využití radioaktivní indikace ke stanovení biologického poločasu halogenů v orgánech a tkáních laboratorního potkana ukázalo, že brom se ve štítné žláze chová podobně jako jod, zatímco v ostatních orgánech spíše jako chlor (**B**). Byla ověřena metoda stanovení ultrastopových koncentrací Cd, Cr, Ni a Pb v prašných aerosolech komunálního prostředí pomocí AAS po mineralizaci vzorků směsí kyselin (**C**).

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

Byl nalezen nový způsob kvantitativního zachytu analytů po superkritické fluidní extrakci, který využívá vlastností expandující superkritické směsi (**B**). Byl dokončen vývoj prototypu přístroje pro analytickou kapalinovou extrakci za vysokých teplot a tlaků (**C**). Byla vypracována termodynamická analýza vlivu teploty, tlaku a složení mobilní fáze na selektivitu v superkritické fluidní chromatografii (**B**).

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

Pokračoval vývoj a testování metod průtokové analýzy ve spojení s chemiluminiscenční detekcí pro stanovení malých molekul a iontů v plynných a kapalných médiích (C).

c) Ústav zatím nepocit'uje nutnost měnit "svou" část věcné náplně Vědní koncepce AV ČR.

d) V ústavu byly uspořádány dvě instruktážní přednášky na téma "Životní prostředí" pro učitele chemie na základních školách okresu Brno-venkov. Ve spolupráci s firmou BioTech a.s. proběhla na ústavu kapilárně elektroforetická část dnů BioTechnika 98 (27.5.1998), na které pracovníci ústavu také přednášeli. Pracovníci ústavu se také přednáškami podíleli na "Letní škole hmotnostní spektrometrie", pořádané Katedrou teoretické a fyzikální chemie P'F MU v Brně ve dnech 22.-24.6.1998.

e) V důsledku úspěchu ústavu v soutěži o konkursní investiční prostředky v minulých letech a v důsledku získání zahraničních grantů se postupně daří zavádět pokročilé techniky hmotnostní spektrometrie (zatím MALDI-TOF). Do budoucna je třeba rozšířit instrumentální vybavení ústavu o tandem LC-MS. Hromadné atestace vědeckých pracovníků nebyly v ústavu v roce 1998 plánovány a neproběhly.

### 2. Spolupráce pracoviště s vysokými školami

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

a) V roce 1998 probíhala vědecká spolupráce ústavu s českými vysokými školami, totiž s Masarykovou universitou v Brně, Mendelovou zemědělskou a lesnickou universitou v Brně, Universitou Palackého v Olomouci, Universitou Pardubice, VUT v Brně, Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, Karlovou universitou a s Vysokou školou pozemního vojska ve Vyškově v rámci 11 společných grantových projektů (GA ČR, GA AV, MŠMT ČR, MO ČR), které podstatně přispěly k výsledkům shrnutým v části 1.b) této zprávy. Další významné výsledky se týkají elektroforetické separace fragmentů DNA: Studium migrace fragmentů o délce několika set tisíc párů bází (spolupráce s Katedrou fyzikální chemie P'F UK v Praze) poskytlo výsledky sloužící k vypracování univerzální teorie migrace fragmentů DNA v pulzním elektrickém poli. Nalezení optimálních podmínek pro rychlé separace fragmentů amplifikovaných z genu Endothelinu 1 (spolupráce s Ústavem patologické fyziologie LF MU v Brně) má význam pro poznávání vasokonstrikčních vlastností genu.

b) Ústav provozuje společně s Českou zemědělskou universitou 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 roce 1998 se laboratoř zabývala stanovením velmi nízkých koncentrací arzenu v tělních tekutinách a podmínkami správnosti stanovení stopových prvků v prašných aerosolech. Centrum analytické chemie molekulárních struktur, které působí v rámci spolupráce s Universitou Palackého v Olomouci na projektu MŠMT VS 96021, se zabývalo elektroforetickým studiem asociace v roztocích, zvláště interakcemi biologicky aktivních a farmakologicky významných alkaloidů s cysteinem a s lidským a hovězím albuminem.

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 Universitě Pardubice a na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. V souvislosti s přijetím vysokoškolského zákona se ústav snaží o začlenění svých pracovníků jako školitelů do obnovovaných oborových rad doktorských studijních programů, což se zatím podařilo s PřF MU v Brně v programech "Analytická chemie" (6 pracovníků) a "Fyzikální chemie" (1 pracovník). Kromě toho se v laboratořích ústavu a pod odborným vedením pracovníků ústavu školilo 7 diplomantů, 2 studenti v ústavu působili jako pomocné vědecké síly a 2 v ústavu absolvovali třítydenní odbornou praxi. 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.

### 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* a grantem GA AV ČR IAA 7011813 *Vliv nadbytku bromu, jodového deficitu nebo jejich kombinace na metabolismus thyroïdních hormonů ve tkáních* (nositelem je FGÚ AV ČR). Výsledky jsou zahrnuty v části 1.b) této zprávy. Spolupráce s firmou IMOS Brno, a.s. při výzkumu kontaminace okolí silnic a dálnic organickými polutanty (polycyklické aromatické uhlovodíky, PCB) je kryta grantem MDS ČR PD401120603 *Výzkum vlivu provozu na pozemky dálnic a silnic z hlediska životního prostředí*.

b) V roce 1998 neformálně pokračovala spolupráce s Oddělením humánní genetiky Dětské nemocnice v Brně na výzkumu diagnostiky dědičných chorob, která byla do r. 1997 kryta grantem GA ČR 203/95/0497. V jejím rámci byl zahájen výzkum metodiky detekce polymorfismu dinukleotidových repetací souvisejících s dětskou hemofilií. Neformální pokračování měla i spolupráce s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství v Brně v oblasti detekce biomarkerů hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF, zahájená v roce 1997.

c) Ve spolupráci s firmami SEKO-K s.r.o., Brno a Applied Separations, Inc., Allentown, Pennsylvania, USA byl dokončen prototyp zařízení pro kapalinovou extrakci za vysokých teplot a tlaků (ASE). Toto zařízení bylo vystaveno na prestižním světovém veletrhu analytické instrumentace PITTCON '98 (1.-6. 3. 1998, New Orleans, USA). Ve spolupráci s Barnettovým ústavem Northeastern University v Bostonu byla podána přihláška patentu na multikapilárový systém pro mikropreparativní elektroforézu DNA (U.S. Provisional Patent Application No. 60/062787) pro diferenciální displej genomové DNA rozsáhlých souborů vzorků.

d) V roce 1998 ústav neposkytl státním orgánům žádná písemně zpracovaná odborná stanoviska nebo posudky.

#### 4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

a) Ústav se v roce 1998 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.

*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.

*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) K nejvýznamnějším vědeckým výsledkům, dosaženým v rámci mezinárodní spolupráce, patří část výsledků v oblasti mechanismu funkce atomizátorů v AAS (spol. s Istituto di Chimica Analitica Strumentale del C. N. R., Pisa, Itálie), v oblasti studia reakce nízkomolekulárních nenasycených aldehydů s modelovými peptidy (spol. s Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington, Indiana, USA) a v oblasti kontinuální preparativní elektroforézy (Dr. Weber GmbH, Kirchheim, Německo). Tyto výsledky jsou zahrnuty v části 1.b) této zprávy.

c) Ústav se podílel na uspořádání akce 3<sup>rd</sup> *European Furnace Symposium* (Praha, 14.-18. 6. 1998), věnované elektrotermické atomizaci v atomové spektroskopii.

#### 5. Předpokládané hlavní okruhy vědecké činnosti pracoviště v roce 1999

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

Vývoj metod rychlé diagnostiky DNA pomocí CZE bude zaměřen na detekci polymorfismu fyziologicky významných repeticí ve vybraných genech. Budou analyzovány interakce některých cytostatik s oligonukleotidy. Kapilární pulzní elektroforéza bude využita k separaci fragmentů DNA o délkách do 1 miliónu párů bází pro restriční analýzu genomu významných bakteriofágů rodu *Staphylococcus aureus*. Produkty Michaelovy adice nenasycených aldehydů na peptidy a bílkoviny budou studovány analýzou produktů hmotnostní spektrometrií MALDI po chemické derivatizaci volných aldehydických skupin. Budou pokračovat separace škrobových zrn ječmene pomocí GFFF, a využití MALDI k charakterizaci oligosacharidů vzniklých degradací škrobových zrn. Bude studován vliv gradientů průtoku a hustoty mobilní fáze na výsledné silové pole v GFFF.

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

Bude dokončena několikaletá teoretická studie vlastností zónově elektroforetických systémů; v roce 1999 bude soustředěna na studium kyselých a bazických systémů. Bude pokračovat vývoj metodiky analýz stopových komponent ve složitých maticích vzorků biologického původu a práce na vývoji metod stanovení rovnovážných konstant v roztocích z elektroforetických migračních dat. Budou dále vyvíjeny barevné tenzidy pro detekci proteinů

v CZE, markery izoelektrického bodu pro ITF a bude rozvíjena teorie fokuzčních variant elektroforézy.

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

Účinnost kolekce analytů v AAS bude u vybraných materiálů hodnocena pomocí radioizotopů. Bude zkonstruován křemenový hydridový atomizátor s vícenásobným přívodem kyslíku nebo s mikroplamínky. Bude pokračovat studium interakcí jodu a bromu v orgánech laboratorního potkana metodou radioaktivní indikace. Problematika ultrastopových koncentrací analytů se soustředí na stanovení jednotlivých forem arzenu v krvi, vybraných stopových prvků v prašných aerosolech a na charakterizaci speciálních materiálů pro moderní technologie.

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

Superkritická fluidní extrakce a kapalinová extrakce za vysokých tlaků a teplot budou dále rozvíjeny v oblasti instrumentace, metodologie i aplikací na reálné vzorky. Bude pokračovat vývoj instrumentace pro mikronáplňovou superkritickou fluidní chromatografii. Termodynamická analýza vlivu pracovních podmínek na chromatografickou retenci bude využita k určení parciálních molárních veličin vybraných aromatických uhlovodíků v superkritickém oxidu uhličitém.

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

Budou dále vyvíjeny nekonvenční obohacovací techniky pro stanovení polutantů ovzduší a bude studován mechanismus mikrobiální biotransformace nitrofenolů.

V Brně dne 21. ledna 1999

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