

3L-01**OPTOSENZORY NA BÁZI PORÉZNÍHO KŘEMÍKU****IVAN JELÍNEK^a, JURAJ DIAN^b a JINDŘICH JINDŘICH^c**

^a Univerzita Karlova Praha, PŘF, Katedra analytické chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, ^b Univerzita Karlova v Praze, MFF, Katedra chemické fyziky a optiky, Ke Karlovu 3, 121 16 Praha 2, ^c Univerzita Karlova Praha, PŘF, Katedra organické a makromolekulární chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
 ijelinek@natur.cuni.cz.

Křemík patří mezi strategické prvky, v elementární formě je využíván jako základní materiál současné elektroniky. Technika přípravy polykrystalického a především monokrystalického křemíku patří mezi nejpropracovanější technologické postupy anorganické chemie. Významným průlomem v zájmu o novou nanokrystalickou formu křemíku, tzv. porézní křemík, byl objev intenzivní viditelné fotoluminiscence za pokojové teploty při excitaci UV zářením¹. Od roku 1990 bylo o porézním křemíku publikováno přes 7000 původních článků zabývajících se jeho přípravou a vlastnostmi, se zvláštním zaměřením na možné využití v optoelektronice. Realizace elektroluminiscenčního zdroje světla na křemíkovém čipu představuje průlom v možnostech integrace mikroelektroniky a optoelektroniky na bázi jednoho materiálu. Vysoká sorpční kapacita povrchu porézního křemíku a závislost elektrických a optických vlastností na chemickém složení okolí je základním předpokladem jeho využití v oblasti chemických senzorů². Byly popsány senzory detegující chemické látky v plynné a kapalně fázi na základě změny elektrické vodivosti porézního křemíku, absorpce záření a reverzibilního zhášení fotoluminiscence. V příspěvku je prezentován ucelený přehled o možnostech analytického využití porézního křemíku při konstrukci optosenzorů, zvláštní pozornost je věnována technikám funkcionalizace nanostrukturního povrchu, zvyšujících jeho chemickou stabilitu a selektivitu odezvy. Z těchto hledisek se jako velmi perspektivní jeví substituce vazeb Si-H vazbami Si-C a navázání funkčních skupin s deriváty cyklo-dextrinů.

Autoři děkují za finanční podporu projektu grantovým agenturám GA ČR (203/06/0786) a ministerstvu školství (MSM 0021 620 835 a MSM 0021 620 857).

LITERATURA

1. Canham L. T.: Appl. Phys. Lett. 57, 1046 (1990).
2. Lauerhaas J. M., Credo G. M., Heinrich J. L., Sailor M. J.: J. Am. Chem. Soc. 114, 1911 (1992).

3L-02**MOŽNOSTI A OMEZENÍ NOVÝCH ELEKTRODOVÝCH MATERIÁLŮ VE VOLTAMETRII A AMPEROMETRII****JIRÍ BAREK, KAROLINA PECKOVÁ, JAN FISCHER, VLASTIMIL VYSKOČIL a ALEŠ DAŇHEL**

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2
 barek@natur.cuni.cz

Rostoucí požadavky na moderní voltametrické a amperometrické metody iniciovaly rozsáhlý výzkum nových elektrodoových materiálů charakterizovaných širokým potenciálovým oknem, nízkým šumem, mechanickou robustností a odolností vůči pasivaci¹. V tomto příspěvku budou diskutovány možnosti a omezení různých typů tuhých a pastových stříbrných amalgamových elektrod, uhlíkových pastových elektrod, uhlíkových filmových elektrod a borem dopovaných diamantových filmových elektrod. Bude diskutováno jejich využití ke vsádkovému voltametrickému stanovení stopových množství biologicky aktivních organických sloučenin významných z hlediska ochrany lidského zdraví a životního prostředí. Pozornost bude věnována i jejich využití při elektrochemické detekci těchto látek ve spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií či průtokovou injekční analýzou. Bude diskutována možnost elektrochemické předúpravy těchto materiálů a možnostem jejího využití k eliminaci problémů souvisejících s pasivací používaných elektrod. Budou ukázány konkrétní případy zvýšení citlivosti a selektivity těchto metod jejich kombinací s předběžnou separací kapalinovou extrakcí či extrakcí tuhou fází.

Tento výzkum byl finančně podporován MŠMT ČR (projekty LC 06035 a MSM 0021620857), Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt 6107/2007/B-Ch/PrF) a Grantovou agenturou České republiky (grant 203/07/P261).

LITERATURA

1. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B., Zima J.: Electroanalysis 19, 2003 (2007).

3L-03**POKROKY VE VYUŽITÍ UHLÍKOVÝCH PAST V ORGANICKÉ ANALÝZE****JIRÍ ZIMA**

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2
 zima@natur.cuni.cz

Uhlíkové pastové elektrody (CPE) tvořené směsí uhlíkového prášku a vhodného pojiva byly uvedeny do chemické praxe přesně před 50 roky¹ a od té doby prošly mnoha etapami svého vývoje. A i v dnešní době stále poutají pozornost mnoha výzkumníků a jsou využívány ke stanovení jak orga-

nických, tak anorganických analytů. Je to především jejich snadná laboratorní příprava a modifikovatelnost různými chemickými či biologickými látkami, která je centrem pozornosti^{2,3}. Modifikace složení CPE mají za cíl buď zvýšit selektivitu stanovení studovaných látek a nebo zvýšit citlivost metody v důsledku specifických interakcí analytu a modifikátoru.

Elektrochemické metody využívající uhlíkové pastové elektrody ke stanovení organických sloučenin jsou obvykle velmi citlivé a v některých případech jsou autory uváděny i výrazně nižší než nanomolární limity detekce. Nižší selektivita elektrochemických metod využívajících uhlíkových past lze obejít jejich kombinací s HPLC. Detektory na bázi mikrokuliček skelného uhlíku jsou stále i v prostředí s vysokým obsahem organického modifikátoru a jsou tedy kompatibilní s běžně používanými mobilními fázemi v RP HPLC a mohou tak představovat levnou a přitom dostatečně citlivou alternativu ke spektrofotometrickým UV detektorům. V poslední době se objevují i práce využívající modifikace pasty iontovými kapalinami⁴. Specifické vlastnosti iontových kapalin mohou do oblasti CPE vnést nové impulsy, např. možnost akumulace i polárních sloučenin a tedy výrazné snížení jejich mezí detekce.

V příspěvku bude věnována pozornost poslednímu vývoji v oblasti organické analýzy využívající uhlíkových past, a to jak na příkladech z vlastního pracoviště, tak z jiných předních laboratoří.

Tato práce vznikla za podpory projektů MŠMT ČR MSM0021620857 a LC06035.

LITERATURA

1. Adams R. N.: Anal. Chem. 30, 1576 (1958).
2. Švancara I., Vytřas K., Zima, J. Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 31, 311 (2001).
3. Kalcher K., Švancara I., Metelka R., Vytřas K., Walcaris A.: Heterogeneous Carbon Electrochemical Sensors, in: Encyclopedia of Sensors, Vol. 4 (Grimes C. A., Dickkey E. C., Pishko M. V., ed.), str. 283–429. ASP, Stevenson Ranch (CA, USA), 2006.
4. Kachooangi R. T., Wildgoose G. G., Compton R.: Electroanalysis 19, 1483 (2007).

3L-04

RTUŤOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODY NA KOVOVÝCH PODLOŽKÁCH PRO ELEKTROCHEMICKÁ MĚŘENÍ

BOGDAN YOSYPCHUK

*Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.,
Dolejškova 3, 182 23 Praha 8
josypchuk@jh-inst.cas.cz*

Rtuťové filmové elektrody se připravují na různých vodivých podložkách. Opravdový, ideálně rovný film lze získat na kovové podložce, která se smáčí rtutí (např. na uhlíkových materiálech se tvoří soubor mikrokapiček rtuti). Jako podložka pro filmové elektrody se nejčastěji používají Ag, Au, Pt, Ir, Cu aj. kovy. Pevné amalgámy různých kovů^{1–3} se velmi dobře smáčí rtutí, a proto taky jsou vhodným materiálem pro přípravu filmových elektrod. Jedním z cílů tohoto výzkumu bylo

vypracování jednoduchého, spolehlivého a k životnímu prostředí šetrného postupu přípravy stabilních a přesně definovaných rtuťových filmů.

Byl navržen elektrolyt a rozpustná anoda ze stříbrného pastového amalgámu⁴, které zajišťují dobrou reprodukovatelnost získávání filmů. Malé množství elektrolytu, který se může používat mnohokrát, a pastový amalgám, který nelze rozlít, podstatně snižují riziko znečištění životního prostředí. Rtuťový film na podložce ze stříbrného pevného amalgámu má zrcadlově lesklý povrch po dobu pracovního dne není-li jeho tloušťka menší než 2 μm. Proudová odezva ASV-píků Tl (I) vztážená na jednotku plochy elektrody je na filmových elektrodách nejvyšší. Šířka píku, která určuje rozlišení metody, je na filmových elektrodách nejmenší. Rozsah pracovních potenciálů na rtuťovým filmem pokryté stříbrné pevné amalgamové elektrodě v různých elektrolytech je srovnatelný se rtuťovými elektrodami. Ideálně rovný, přesně definovaný, stabilní v čase a lehce obnovitelný povrch pracovní elektrody byl využit pro vytvoření mono a více vrstevných filmů biologicky aktivních látek, přičemž zvolením vhodného složení amalgámu bylo možno ovlivňovat oblast pracovních potenciálů, rychlost a stupeň fixace zmíněných látek na elektrodě.

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky (grant č. 203/07/1195) a Grantovou agenturou Akademie věd České republiky (grant č. IAA400400806).

LITERATURA

1. Yosypchuk B., Novotný L.: Critic. Rev. Anal. Chem. 32, 141 (2002).
2. Yosypchuk B., Heyrovský M., Paleček E., Novotný L.: Electroanalysis 14, 1488 (2002).
3. Yosypchuk B., Šestáková I., Novotný L.: Talanta 59, 1253 (2003).
4. Yosypchuk B., Šestáková I.: Electroanalysis 20, 426 (2008).

3L-05

TWO-COLUMN, TWO-DIMENSIONAL AND COMPREHENSIVE TWO-DIMENSIONAL GAS CHROMATOGRAPHY

JÁN KRUPČÍK and JANKA MYDLOVÁ-MEMERSHEIMEROVÁ

*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, STU, Bratislava, Slovakia
jan.krupcik@stuba.sk*

Two columns of different polarities are often coupled in series to improve the gas chromatographic (GC) separation of complex mixtures. A schematic of two columns coupled in series placed in one oven is depicted in the scheme 1.

The following possibilities of two columns coupled in series exist in dependence on the interface nature^{1–4}:

1. Dual column chromatography
2. Two-dimensional chromatography
3. Comprehensive two-dimensional chromatography

A novel method for comprehensive two-dimensional capillary gas chromatography shall be demonstrated in this



Scheme 1. **Two columns coupled in series** (p_i and p_o is an inlet and outlet carrier gas pressure, respectively)

presentation. The method is based on the principle of two-dimensional thin layer chromatography, where all sample constituents are separated in the first as well as in the second dimension with no-modulation.

Retention time locking principle is used for both columns in this method which is superior to any so far used comprehensive GCxGC as it allows using retention times for qualitative analysis. Quantitative analysis of complex samples using this method is much simpler than in any already published comprehensive GCxGC as no modulation is used. Performance of this non-modulated GCxGC shall be illustrated separating 209 PCB congeners and compared with flow and thermal modulated comprehensive GCxGC.

REFERENCES

1. Gorecki T., Harynuk J., Panic O.: J. Sep. Sci. 27, 359 (2004).
2. Marriott P. J., Morrison P. D., Shellie R. A., Dunn M. S., Sari E., Ryan D.: LC-GC Europe 16, 23 (2003).
3. Seeley J. V., Kramp F., Hicks C.J.: Anal. Chem. 72, 4346 (2000).
4. Mohler R. E., Prazen. B. J., Synovec R. E.: Anal. Chim. Acta 555, 68 (2006).

3L-06

TĚŽ NEZNAMENÁ TO_TĚŽ, TO NENÍ TO_TĚŽ!

Věnováno profesoru Vilímu Šimánkovi za to, že je.

EVA TESAŘOVÁ^a, ZUZANA BOSÁKOVÁ^b, KVĚTA KALÍKOVÁ^a, JANA LOKAJOVÁ^a, MARIE VADINSKÁ^b, LUCIE LOUKOTKOVÁ^b, JOANNA ZNALEZIONA^c, MAGDA MEGOVÁ^c, VÍTĚZSLAV MAIER^c, JAN PETR^c, RADIM KNOB^c, LUKÁŠ MULLER^c a JURAJ ŠEVČÍK^c

^a Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, ^b Katedra analytické chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, ^c Katedra analytické chemie, PŘF UP v Olomouci, Třída Svobody 8, 771 46 Olomouc
tesarove@natur.cuni.cz, sevcik@prfnw.upol.cz

Co je „to“ a co je „totéž“? Jsou předmět a jeho zrcadlový obraz totožné? Odpovědi na tyto zdánlivě filozofické otázky si klademe i v chemii. Důvodem je skutečnost, že „vyhledávání“ stereoselektivních interakcí patří k základním

komunikačním vlastnostem chemických látek v přírodě. Enantiomery, zrcadlové obrazy sebe sama, se totiž (nebo tudíž) mohou (a nemusejí) zásadně lišit ve svých vlastnostech, pokud se vyskytují v chirálním prostředí, kterým příroda jednoznačně je. Pak je zde jasná odpověď: „To“ neznamená (není) v přírodě „totéž“.

Pro zkoumání odlišných vlastností, chování a často i rozdílného metabolismu enantiomerů, máme k dispozici řadu více či méně propracovaných separačních postupů, využívajících různé analytické techniky. Kapalinově chromatografické a kapilárně elektroforetické metody mají dnes výsostné postavení při řešení problematiky separace enantiomerů. Široká variabilita uspořádání enantioselektivních separačních systémů – volba různých chirálních stacionárních fází nebo chirálních aditiv do mobilních fází – umožňuje rozdělit kapalinovou chromatografií mnoho strukturně odlišných enantiomerů. Elektromigrační kapilární metody disponují celou řadou principiálně i technicky se lišících uspořádání. Jejich vhodnou kombinací lze docílit nejen úspěšné enantioselektivní separace, ale i významné on-line prekoncentrace analytu o několik řádů.

V přednášce bude ukázána a diskutována řada zajímavých HPLC a CE separačních systémů resp. aplikací, které byly vyvinuty a použity autory k chirálnímu dělení analytů z oblastí léčiv, návykových látek, pesticidů a složek potravin.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, projekt Kontakt ME 895 a výzkumných záměrů č. MSM0021620857 a MSM6198959216.

LITERATURA

1. Tesařová E.: *Analýza chirálních sloučenin*. PACI, VŠCHT Praha 2007.

3L-07

ANALÝZA MIKROORGANISMŮ A BUNĚK KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZOU

JAN PETR^a, OLGA RYPAROVÁ^a, VÁCLAV RANC^a, PETRA HINNEROVÁ^a, JOANNA ZNALEZIONA^a, MARTA KOWALSKA^b, RADIM KNOB^a, VÍTĚZSLAV MAIER^a, IVO FRÉBORT^b, KAREL LEMR^a a JURAJ ŠEVČÍK^a

^a Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Třída Svobody 8, 771 46 Olomouc, ^b Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
petrjan1@gmail.com

Kapilární elektroforéza (CE) je dnes známá separační technika, kterou lze analyzovat malé ionty, ale i fragmenty nukleových kyselin. Přesto CE umožňuje separovat a blíže studovat částice, jejichž velikost se blíží rozměrům separační kapiláry, tj. buňky, mikroorganismy, viry. Právě tato oblast je spolu s miniaturizací a možností analýzy jedné buňky ve velkém zájmu předních světových výzkumných pracovišť.

Tento příspěvek si dovoluje shrnout současný stav vědeckého poznání v této oblasti, včetně možných problémů, na

keré při analýze buněk můžeme narazit. Bude diskutována problematika adsorpce a její řešení jak použitím dynamické, tak kovalentní modifikace kapiláry, problémy identifikace a její možné řešení pomocí PCR techniky nebo off-line spojení s DESI-MS a možnosti využití prekoncentračních technik pro analýzu buněk.

Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (Výzkumný záměr číslo MSM6198959216 a Program Kontakt ME 895) za finanční podporu práce.

3L-08

DEVELOPMENT OF COMPUTER APPLICATION FOR IDENTIFICATION AND COMPARISON OF CAR PAINT SAMPLES ANALYSED BY PYROLYSIS - GAS CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY (PY-GC/MS)

JAKUB M. MILCZAREK^{a,b}, JANINA ZIĘBA-PALUS^b, and MARCIN PIECHOWICZ^b

^a Jagiellonian University, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry R. Ingardena 3, 30-060 Kraków, Poland, ^b Institute of Forensic Research, Westerplatte 9, 30-033 Kraków, Poland
jakub@milczarek.eu

Car paint as physical evidence is the type of sample that is probably most commonly examined in forensic laboratories. Chips of paint coat or paint smears are very often transferred to the clothing of a hit-and-run accident victim.

Typical new automotive refinishment consists of at least four layers: the primer, the primer surfacer, the basecoat and the clear-coat. Each layer of the coating is a mixture of different components: a polymer binder, inorganic and organic pigments, fillers and other substances. Identification of the polymer binder requires application of pyrolysis-GC/MS method. Using this method small paint samples are decomposed by heating to gaseous products later separated.

Py-GC/MS was applied in comparative analysis of polymer binder of over 100 automobile paint samples. It was found that binders of identical type and similar infrared spectra can be, in most cases, effectively differentiated, sometimes based only on the presence of peaks of very low intensity originating from minor paint components. The qualitative procedure of pyrograms comparison was developed¹.

For faster identification and automated differentiation of car paint samples a special computer application is being developed. Borland C++ Builder version 6.0 is used as the software development environment.

The most important functions of the application are:

- visualisation of chromatograms in total ion current (TIC) mode and in selected m/z value;
- assignment of identified peaks to known components;
- automated comparison of chromatograms based on retention time of major and selected minor peaks;
- database search based on car manufacturer, year of production, type of binder or minor components.

In presentation first modules and basic features will be presented and briefly described.

The research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education, Poland, within the project No. O N204 003034.

REFERENCE

1. Zięba-Palus J., Zadora G., Milczarek J. M., Kościelniak P.: J. Chromatogr., A 1179, 41 (2008).

3L-09

DIFÚZNÍ ZNEČIŠTĚNÍ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ ENDOKRINNÍMI DISRUPTORY

ZUZANA BOSÁKOVÁ, EVA TESAŘOVÁ a VĚRA PACÁKOVÁ

PřF UK, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
bosakova@natur.cuni.cz

Česká republika, jako průmyslový stát s rozvinutou infrastruktúrou produkuje velké množství polutantů. Vedle tradičních znečištění se objevují stále nové látky, o kterých je nyní známo, že i v minimálním množství jsou potenciálně škodlivé pro živé organismy a jejich reprodukci. Difúzní znečištění se chápe jako znečištění velké plochy (povrchu) nebo velkého objemu (vody) velmi nízkými koncentracemi různých polutantů z nejrůznějších zdrojů, které při dlouhodobém působení mají negativní vliv na zdraví lidí a další složky životního prostředí. Podílí se na něm velké množství sloučenin, které jsou mimo jiné dálekově transportovány vzduchem nebo vypouštěny ve vyčištěných odpadních vodách a rozptylovány v životním prostředí v důsledku různých antropogenních činností. Vedle již delší dobu sledovaných perzistentních organických polutantů (polycyklické aromatické uhlovodíky, organochlorové sloučeniny, herbicidy, fungicidy a pesticidy, polychlorované bifenylly aj.) se pozornost zaměřuje i na některá léčiva (včetně antibiotik) a na látky s endokrinní aktivitou (tzv. endokrinní disruptory). Výrazný negativní efekt prokazují estrogenní látky. Jejich zbytková koncentrace ve vypouštěných vyčištěných komunálních odpadních vodách má vliv na vodní živočichy v řekách, na feminizaci říčních ryb a deformaci u žab. Tyto látky se dostávají do organismu savců (včetně člověka) a mohou interferovat s činností endogenních hormonů. Tento negativní účinek má pravděpodobný dopad i na reprodukci lidské populace (časnější puberta, pokles počtu spermií u mužů a mírné defekty u novorozenců). Bylo prokázáno, že estrogenní steroidy (a nejen ony) mají negativní vliv na reprodukci a vývoj v koncentracích řádově ppt". Vývoj vhodných metod pro jejich detekci, kvantifikaci a dlouhodobé monitorování je prvním krokem k jejich lokalizaci a následné eliminaci ze životního prostředí.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR, projekt Centrum 1M06011 a výzkumného záměru MSM0021620857.

3L-10**BIODEGRADACE VYBRANÝCH ORGANO-POLUTANTŮ DŘEVOKAZNÝMI HOUBAMI****PAVEL ZACHAR^a a ČENĚK NOVOTNÝ^b**

^a Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Mikrobiologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4
 Pavel.Zachar@vscht.cz

Hlavními znečišťovateli povrchových vod jsou tradičně průmyslové podniky, ale novodobě též podniky „průmyslového zemědělství“. Při současném stavu ochrany životního prostředí je nemyslitelné, aby průmyslový podnik vypouštěl odpadní vody bez dostatečného přečištění, ale v zemědělství je situace odlišná. Pesticidy se dostávají do půdy a splachem pak do vodních toků, které jsou často zdrojem pro přípravu pitné vody. Čištění kontaminované vody v řekách není možné a je třeba soustředit se na čištění v procesu přípravy vod pitných. Dalšími důležitými oblastmi je čištění průsakových vod ze starých skládek a dekontaminace znečištěných půd.

Způsob dekontaminace se liší, je-li dekontaminována voda (odpadní nebo pitná) nebo zemina, ale v podstatě vždy může probíhat dvojím způsobem. Buď je kontaminant převeden (zakoncentrován) do jiného materiálu nebo se provádí úplná nebo částečná likvidace kontaminantu, tedy jeho degradace. Mezi metody využívající zakoncentrování kontaminantu do jiného média patří v případě zemin např. fytoremediace, v případě čištění vod (zejména pitných) např. sorpce na granulovaném aktivním uhlí nebo koagulace – vyvložkování. Tyto metody však vyžadují další zpracování kontaminovaného materiálu. Naproti tomu v případě degračních metod je příslušný kontaminant (organopolutant) přímo likvidován. Mezi perspektivní metody degradace patří zejména tzv. pokročilé oxidační procesy, jejichž podstatou je oxidace i velmi stabilních molekul pomocí vysoce reaktivních částic (radikálů) buď přidávaných nebo přímo v daném prostředí (vodě) vznikajících, např. katalýzou homogenní (H_2O_2 a UV záření) nebo heterogenní (polovodičový katalyzátor TiO_2 a UV záření) či enzymatickým působením organismů. S tím úzce souvisí celá rozsáhlá skupina biodegradačních metod aplikovatelných jak na dekontaminaci půd a kalů, tak na čištění odpadních i povrchových a pitných vod. Vedle biodegradace působením mikroorganismů, která v řadě případů je již poměrně dobře zpracována, se pozornost věnuje také působení dřevokazných hub, tj. hub schopných rozkládat dřevní hmotu (lignin), tzv. hub bílé hniloby.

Pozornost v tomto projektu byla věnována biodegradaci průmyslových barviv pro čištění odpadních vod z textilních továren a biodegradaci herbicidů (zejména triazinového typu) intenzivně aplikovaných v zemědělství. Protože při degradaci řady těchto látek může docházet k tvorbě meziproduktů, které mohou být toxičtější než původní kontaminant, je úkolem analytického chemika nejen sledovat úbytek degradované látky, ale také identifikovat vznikající meziprodukty.

Tato práce vznikla za podpory grantu AV ČR IAA6020411.

3L-11**MAGNETICKÉ MIKROČÁSTICE VE SPOJENÍ S ELEKTROCHEMICKOU ANALÝZOU JAKO MNOHOSTRANNĚ VYUŽITELNÉ NÁSTROJE PRO ANALÝZU BIOMOLEKULÁRNÍCH INTERAKCÍ**

MIROSLAV FOJTA, PETRA HORÁKOVÁ, KATEŘINA CAHOVÁ, MILOSLAVA FOJTOVÁ, STANISLAV HASOŇ, LUDĚK HAVRAN, PAVEL KOSTEČKA, KATEŘINA NĚMCOVÁ, HANA PIVOŇKOVÁ a MARIE BRÁZDOVÁ

Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i., Královopolská 135, 612 65 Brno

fojta@ibp.cz

Paramagnetické částice nesoucí na svém povrchu různé biorekogniční prvky (např. oligonukleotidy, streptavidin, protilátky aj.) se osvědčily jako vynikající, mnohostranně využitelné nástroje pro izolaci a analýzu specifických biologických molekul (DNA, RNA nebo proteinů) i celých buněk. Magnetoseparační technologie v kombinaci s elektrochemickou analýzou byly v poslední době úspěšně aplikovány v nových mikroanalytických metodách zaměřených na detekci hybridizace DNA, interakcí DNA s proteiny, v imunoanalýze apod¹. Tyto tzv. „dvoupovrchové“ elektrochemické techniky využívají různé detekční principy, založené buď na vlastní elektrochemické aktivitě nukleových kyselin a proteinů, nebo na elektrochemicky aktivních značkách zavedených do těchto biomolekul. V případě detekce hybridizace DNA se osvědčila metoda založená na kyselé hydrolýze DNA separované pomocí magnetických částic a stanovení uvolněných purinových bazí pomocí rozpouštěcí voltametrie v přítomnosti iontů mědi^{2,3}. Jiné přístupy využívají značení hybridizačních sond pomocí kovových komplexů^{4,5}, nanočástic⁶, organických elektroaktivních skupin⁷ nebo enzymů⁸, které katalyzují přeměnu neaktivních substrátů na elektroaktivní produkty (indikátory). Pro vysoce citlivé stanovení proteinů se ukázalo (vedle detekce oxidačních signálů tyrozinu a tryptofanu na uhlíkových elektrodách⁹) jako mimořádně vhodné měření katalytického píku H na rtuťových elektrodách¹⁰. V řadě prací bylo ukázáno, že dvoupovrchové elektrochemické metody jsou využitelné v analýze přirozených (genomových) nukleotidových sekvencí amplifikovaných pomocí PCR, pro detekci mutací (sekvenčních polymorfismů), monitorování exprese genů a sledování vazby proteinů na specifická místa v DNA.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT LC06035 a GA ČR 203/07/1195 a AV ČR 1QS500040581.

LITERATURA

1. Palecek E., Fojta M.: *Talanta* 74, 276 (2007).
2. Hason S., Pivonkova H., Vetterl V., Fojta M.: *Anal. Chem.* 80, 2391 (2008).
3. Jelen F., Yosypchuk B., Kourilova A., Novotny L., Palecek E.: *Anal. Chem.* 74, 4788 (2002).
4. Fojta M., Kostecka P., Trefulka M., Havran L., Palecek E.: *Anal. Chem.* 79, 1022 (2007).
5. Horakova-Brazdilova P., Fojtova M., Vytras K., Fojta M.: *Sensors* 8, 193 (2008).
6. Wang J., Liu G., Merkoci A.: *J. Am. Chem. Soc.* 125,

- 3214 (2003).
- Cahova H., Havran L., Brazdilova P., Pivonkova H., Pohl R., Fojta M., Hocek M.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 2059 (2008).
 - Fojta M., Havran L., Vojtišková M., Palecek E.: *J. Am. Chem. Soc.* 126, 6532 (2004).
 - Masarik M., Cahova K., Kizek R., Palecek E., Fojta M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 259 (2007).
 - Palecek E., Masarik M., R. K., Kuhlmeier D., Hassmann J., Schüle J.: *Anal. Chem.* 76, 5930 (2004).

3L-12**VÝVOJ DNA SENZORA PRE PRIETOKOVÝ SYSTÉM**

DARINA ŠIMKOVÁ*, STANISLAVA HLÚBIKOVÁ, JÚLIA GALANDOVÁ, ERNEST BEINROHR a JÁN LABUDA

*Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, SR
simkovad@gmail.com*

Problemátike štúdia deoxyribonukleovej kyseliny (DNA) sa venuje v súčasnosti veľa pozornosti a jej výskum sa stáva záležitosťou spolupráce odborníkov z viacerých oblastí hlavne medicíny, biológie, biochémie a biofyziky. Pre štúdium DNA sa v súčasnosti využívajú okrem iných moderné elektrochemické techniky. Boli navrhnuté pracovné elektródy modifikované jednovláknovou alebo dvojitou DNA. Tieto tzv. biosenzory na báze DNA sú vysoko špecifické v prípade detekcie hybridizácie DNA, ale málo špecifické voči interakciám DNA s látkami malej molekulovej hmotnosti. Umožňujú však rýchle, jednoduché a lacné *in vitro* vyšetrenie a stanovenie látky interagujúcej s DNA. Biosensor všeobecne predstavuje účinný nástroj pre chemické, biologické, medicínske a environmentálne oblasti analýzy pre jeho vlastnosti ako malá veľkosť, reálny čas analýzy, jednoduchá príprava a použitie.

V našej práci sme sa zaoberali vývojom DNA biosenzora pre analýzu v prietokovom systéme. Optimalizovali sme podmienky pre detekciu DNA pomocou cyklickej voltamperometrie s komplexom $K_3[Fe(CN)_6]$ ako redoxným indikátorom. Testovali sa tri druhy elektród: súbor uhlíkových mikroelektród (tubulárna elektroda), makroporézne uhlíkové elektródy (sklovitý uhlík) a screen-printed uhlíkové elektródy DropSens 110. Ako základné elektrolyty sa použili octanový tlmivý roztok pH 5.0 s prídavkom chloridu sodného a fosforečnanový tlmivý roztok pH 7.0. Sledovala sa odozva elektród na použitý indikátor, stabilita DNA vrstvy na elektróde a možnosti sledovania štruktúrneho poškodenia DNA.

Práca sa riešila za finančnej podpory projektu Aplikovaného výskumu MŠ SR AV/4/0103/06.

3L-13**ANIMAL GLUES AS BINDERS IN XIX AND XX CENTURY OIL PAINTINGS - MALDI-TOF ANALYSIS**

MONIKA A. KOPERSKA

*University of Sciences and Technologies, Lille 1, Lille, France and Jagiellonian University, Faculty of Chemistry, Kraków, Poland
mkoperska@gmail.com*

Since few years scientists' attention has been drawn to the field of art. They become aware that no efficient conservation of cultural heritage is possible without a thorough scientific analysis of the piece before. In search for a good method many techniques have been tested. Although some non-destructive have been found. Mass Spectrometry is still called for due to its informative aspects.

Knowing the exact composition of an oil painting is a hard task. Many different layers like size, prime, gesso, paint or varnish are all present in a sample, each of which is a mixture of different organic or mineral compounds. These vary depending on the period in which the piece was made. As it would be difficult to analyse all of them at once, different procedures of extraction had been implemented¹.

Animal glues, chemically speaking, are proteins, but for artists they are important compounds of their paintings, as they are used to bind gesso or paints together. Few types of animal glues have been tested, first by extracting them from prepared earlier model paintings and then by MALDI-TOF analysis.

All the results will be shown during the presentation.

REFERENCES

- Tokarski C.: *Developpements methodologiques en analyse proteomique: application a des echantillons biologique natif ou transformes* thesis USTL, Lille.
- Kuckova S., Hynek R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 201 (2007).
- Andreotti A., Bonaduce I.: *Anal. Chem.* 78, 4490 (2006).

3L-14**DISTRIBÚCIA STRONCIA V TKANIVÁCH A KOSTIACH POTKANOV PO APLIKÁCII RANELÁTU STRONCIA**

MONIKA ARANYOSIOVÁ^{a,b}, MÁRIA STANČÍKOVÁ^c a DUŠAN VELIČ^{a,b}

*^a Medzinárodné laserové centrum, Ilkovičova 3, 841 04 Bratislava, Slovenská republika, ^b Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovenská republika, ^c Národný ústav reumatologických chorôb, I. Krasku 4, 921 01 Piešťany, Slovenská republika
aranyosiova@ilc.sk*

Distribúcia a akumulácia stroncia v tkanivách a kostiach potkanov testovaných na ranelát stroncia ($C_{12}H_6N_2SO_8Sr_2$) sa stanovovali hmotnostnou spektrometriou sekundárnych iónov. Ranelát stroncia je hlavnou zložkou nového lieku, ktorý pod-

poruje obnovu kostí a efektívne sa používa v liečbe osteoporózy. Cieľom práce je štúdium novej akumulácie stroncia nielen v kostiach, kde má pozitívny kvalitatívny aj kvantitatívny účinok, ale aj v tkanivách pečene, mozgu a srdca.

Skúmané potkany boli rozdelené do troch skupín v závislosti od spôsobu podávania lieku, pričom jedna skupina bola kontrolná. V ďalších dvoch skupinách sa liek podával po dobu 5 týždňov v dennej dávke 400 mg kg^{-1} , pričom v jednej skupine nasledovala fáza bez podávania lieku ďalších 5 týždňov. Vzorky kostí a tkanív sa vo forme tenkých rezov na kremíkovej podložke analyzovali na prístroji TOF-SIMS IV (ION-TOF, Muenster, Germany). Ako primárne ióny sa použili Bi_n^+ s energiou 25 keV. Hmotnostné spektrá sa merali na ploche $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ v statickom limite $5 \cdot 10^{12}$ iónov cm^{-2} . Dvojrozmerné distribúcie Sr sa merali s laterálnym rozlíšením 300 nm v pozitívnej polarite. Identifikovali sa aj molekulové ióny typické pre biologické systémy ako fosfolipidy, cholesterol a mastné kyseliny. Porovnaním distribúcie stroncia v kostiach a tkanivách v troch rôznych skupinách sa získajú informácie o akumulácii a zadržaní stroncia aj po 5 týždňovej fáze vysadenia lieku počas novej liečby stronciom ranelátom.

Z metód, ktoré sa používajú na určenie chemického zloženia biologických vzoriek, má hmotnostná spektrometria sekundárnych iónov jednoznačné výhody. Chemická charakterizácia biologických vzoriek v pôvodnej forme bez chemickej úpravy môže byť užitočná v medicínskom výskume.

Táto práca vznikla vďaka podpore grantov VEGA 1/3577/06, APVT-20-0298-0 a APVV-0491-07.

LITERATÚRA

1. Marie P. J.: Curr. Opin. Rheumatol. 18, 11 (2006).
2. Ammann P.: Bone 38, 15 (2006).

3L-15

ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY (EPR) AS POTENT TOOL OF IDENTIFICATION AND DESIGNATION MELANINES IN BIOLOGICAL SAMPLES

ALEKSANDER SALWIŃSKI

Jagiellonian University, Faculty of Chemistry, Ingardena Street 3, 30-060 Krakow, Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Department of Biophysics, Gronostajowa Street 7, Krakow, Poland
salwinski@gmail.com

Melanins belong to the most widespread classes of pigments, both in case of world of plants and animals. As far as mammals are concerned, melanin is responsible for color of skin, hair and iris and poses protection against UV radiation. From the chemical point of view, melanins are polymers of diverse composition and may be divided into three characteristic classes: eumelanin, feomelanin and neuromelanin. One of the unique features of melanins is fact, that these polymers exhibit stable free-radical properties. Because of presence of free-radicals, electron paramagnetic resonance spectroscopy

(EPR) can be applied to conduct (relative) quantitative designation of melanins' concentration within confines of examined set of biological samples. Moreover, EPR spectroscopy allows conducting unequivocal identification of melanin's class on the basis of differences in hyperfine structure of EPR spectra¹.

Melanins are synthesized from tyrosine by specialized cells called melanocytes, which are incapable of division. Therefore, after fulfilling their function, melanocytes undergo apoptosis, programmed cell death. Constant number of specialized melanocytes is maintained by stem cells of melanocytes that reside in hair follicles. Rate of synthesis of melanin is thus directly correlated with hair cycle's phase. Mentioned cycle may be interfered by numerous external factors (e.g. by some groups of drugs, especially antineoplastic, for instance cyclophosphamide)^{2,3}. Scientific projects connected with determination of the influence of various factors on hair cycle's phase may contribute to development of new drugs inhibiting unpleasant side effects of chemotherapy. EPR spectroscopy is perfect tool to quantitative and qualitative monitoring of hair cycle.

REFERENCES

1. Sarna T., Swartz H. M., in: *The Pigmentary System. Physiology and Pathophysiology*. Oxford University Press, New York 1998.
2. Plonka P. M., Handjiski B., Michalczyk D., Popik M., Paus R.: Br. J. Dermatol. 155, 39 (2006).
3. Nishimura E. K., Jordan S. A., Oshima H., Yoshida H., Osawa M., Moriyama M., Jackson I. J., Barradin Y., Miyachi Y., Nishikawa S. I.: Nature 416, 854 (2002).

3L-16

ANALÝZA POTRAVIN ATÓMOVOU ABSORPČNOU SPEKTROMETRIOU S PRIAMYM DÁVKOVANÍM TUHÝCH VZORIEK

DANIEL BAJČAN^a, MÁRIA ŽEMBERYOVÁ^b a INGRID HAGAROVÁ^c

^a Katedra chémie, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, ^b Katedra analytickej chémie, PriF UK v Bratislave, ^c Geologický Ústav, PriF UK v Bratislave, Mlynská dolina 1, 842 15 Bratislava, SR
bajcan@gmail.com

Jedným z trendov, ktorým sa analytická chémia ubera už niekoľko desaťročí, je analýza stopových a ultrastopových koncentrácií prvkov v širokom spektre rôznych látok. Ďalším trendom je analýza tuhých vzoriek bez potreby ich mineralizácie, ktorá analýzu značne predlžuje, komplikuje a zároveň ju predražuje. Obidva tieto smery sa spojili pri metóde, ktorou je atómová absorpčná spektrometria s priamym dávkovaním tuhých vzoriek (v anglickej literatúre označovaná ako Solid sampling AAS).

Medzi jej hlavné výhody patrí: skrátenie času úpravy vzoriek; nízke riziko straty analytu, príp. kontaminácie vzoriek, ku ktorým môže dôjsť počas mineralizácie; výrazné zvýšenie citlivosti a možnosti mikroanalýzy^{1,2}.

V predloženej práci sa zaoberáme stanovením kremíka

touto metodou v potravinách. Metóda Solid sampling AAS sa ukázala ako výhodná, rýchla a výkonná metóda na priame stanovenie kremíka v potravinách alebo biologických vzorkách. Porovnaním s klasickou „roztokovou“ metódou ET AAS zahŕňajúcou mineralizáciu vzorky sú hlavné výhody tejto metódy minimálna kontaminácia vzoriek vplyvom prostredia alebo použitia laboratórnych pomôcok či chemikálií, značné skrátenie času analýzy a veľmi nízky detekčný limit stanovenia na ultrastopovej úrovni 18 ng g^{-1} , ktorý zatiaľ nebol dosiahnutý inou metódou. Možnosť použitia kvapalných štandardov značne zjednodušuje stanovenie kremíka v tuhých vzorkách, pričom pri samotnom stanovení stačí použiť metódu kalibračnej krivky. Stanovenie kremíka v potravinách metódou AAS s priamym dávkovaním tuhých vzoriek vyžaduje použitie zmesného modifikátora $10 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2 + 10 \mu\text{g Pd}$, ktorý sa nanáša na spopolnenú vzorku po prerušení kroku pyrolýzy pri teplote 600°C . Analýzou kriviek rozkladu a atomizácie sme zistili, že optimálna teplota pyrolýzy je 1400°C a teplota atomizácie 2600°C pri použití spomenutého zmesného modifikátora. Správnosť výsledkov, dosiahnutých použitou metódou, bola overená analýzou dvoch certifikovaných referenčných materiálov.

LITERATÚRA

1. Bendicho C., de Loos-Vollebregt M. T. C.: J. Anal. At. Spectrom. 6, 353 (1991).
2. Jackson K. W.: *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*. John Wiley, Chichester 1999.

Přednášky v soutěži o cenu Shimadzu

3L-17

IMPLEMENTATION OF THE *IN VITRO* METHOD FOR SKIN PENETRATION OF CHEMICALS FROM EVERYDAY LIFE

MARTINA BOREKOVÁ*, LENKA ORSÁGOVÁ, and JARMILA HOJEROVÁ

Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic
martina.borekova@stuba.sk

It is confirming that some of potentially harmful chemicals come in organism through the skin or mucous membrane. Because of potential risks to human health, evaluation of their skin penetration value is important for safety assessment. OECD recommended 428 methods, which is in the EU necessary to establish until 2009. It includes *in vivo* and *in vitro* tests, but preference should be given to *in vitro* testing methods as *in vivo* raise ethical concern. The aim of study was an implementation of this new technique *in vitro* skin penetration, because nowadays is neither verified in Slovakia. As a model of chemicals were testing four food and cosmetic colors: Patent Blue (E131, CI 42051), Brilliant Blue (E133, CI 42090), Tartrazine (E102, CI 19140) and Azorubine

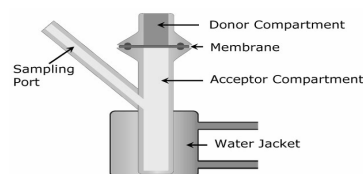


Fig. 1. Franz cell with pig skin membrane

(E122, CI 14720). All of these colors are used e.o. for whose products which are in relatively long term contact with mucous membrane (lollipops, sweets, chewing gums...) or skin (skin care, hair care and color cosmetics). Penetration of colors was measured through standardised *ex vivo* 0.4 mm thick „Split thickness“ pig skin in 15 parallel static Franz diffusion cells (Fig. 1) at 32°C . Excised pig skin is suitable for the *in vitro* estimation of the chemicals' penetration by human skin because of its physiological similarities and availability. The quantity each of color in dependency on varying the time and applied amount was detected by Spectrophotometer UV-1601 Shimadzu, Japan. Absorbance data $A(\lambda)$ were transformed to concentration. The penetration of 1 % colors (as 1 hour infinite dose in water) after 24 hours varied from 177.2 (Brilliant Blue) to $8.1 \mu\text{g cm}^{-2}$ (Azorubine). In the worst case scenario to $18\,000 \text{ cm}^2$ (skin area of adult) $3.19\text{--}0.14 \text{ g}$ of the color will be absorbed to organism. Depending upon the toxic profile color, some of these may be of concern. Studies, similar to those presented here, should be extended to skin penetration of many chemicals from everyday life products, so as household chemistry, textile, toys, cosmetics and some of the foods.

The research was realized with a support of the grant agency of Slovak Republic under the project VEGA: 1/0438/08, 1/0746/08 and APVV-51-017905.

3L-18

UTILIZATION OF SILVER SOLID AMALGAM ELECTRODE FOR AMPEROMETRIC DETERMINATION OF PLANT GROWTH REGULATOR BY HPLC-ED

ALES DANHEL^a, KWOK KEUNG SHIU^b, BOGDAN YOSYPCHUK^c, VLASTIMIL VYSKOCIL^a, KAROLINA PECKOVA^a, and JIRI BAREK^{a*}

^a Charles University in Prague, Faculty of Science, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Albertov 6, 128 43 Praha 2, Czech Republic, ^b Department of Chemistry, Faculty of Science, Hong Kong Baptist University, Waterloo Road, Kowloon, ^c J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of AS CR, v.v.i., Dolejskova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic
ales.danhel@seznam.cz

Voltammetric behaviour of many nitrophenols at the hanging mercury drop electrode, at the silver solid amalgam electrode (AgSAE), as well as the use of AgSAE in wall-jet configuration in flow systems (FIA, HPLC) were already

described^{1–3}. In this work, the working AgSAE was designed, constructed and employed for a Thin-Layer LC-EC flow cell applied as detector for HPLC. This HPLC-ED system was used for determination of 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 2,4-nitrophenol, 2-methoxy-5-nitrophenol (or more precisely their sodium salts) contained in mixture in the world-wide plant growth regulators (for example Atonic, Chaperone, *N*-fenol MIX). The optimal conditions of the separation by RP-HPLC at a column Nova-Pack C18 (150 × 3.9 mm) and of the detection by LC-EC flow cell based on AgSAE working electrode were found (mobile phase: 0.05M phosphate buffer pH 6.0 in mixture with methanol 7:3 (v/v), flow rate 1.3 mL min⁻¹ and working electrode potential -1.0 V vs. Ag/AgCl). Under these conditions, the above given nitrophenols can be separated in 10 min and determined in concentration range 5–2500 µmol L⁻¹ (evaluation of the peaks area). Wide negative potential range, simple preparation and easy electrochemical pretreatment are main advantages of AgSAE. Relatively low limits of detection of reducible organic compounds as well as its low price are to be mentioned as well.

Financial support from MSM CR (LC 06035 and MSM 0021620857), GACR (203/07/1195 and 203/07/P261) and GAUK (6107/2007/B-Ch/PrF) is gratefully acknowledged. A.D. thanks the Croucher Foundation and the Faculty of Science, HKBU, for financial support of the postgraduate exchange program.

REFERENCES

1. Barek J., Ebertova H., Mejstrik V., Zima J.: Collect. Czech. Chem. Commun. 59, 1761 (1994).
2. Fischer J., Vanourkova L., Danhel A., Vyskocil V., Cizek K., Barek J., Peckova K., Yosypchuk B., Navratil T.: Int. J. Electrochem. Sci. 2, 226 (2007).
3. Barek J., Fischer J., Navratil T., Peckova K., Yosypchuk B., Zima J.: Electroanalysis 19, 2003 (2007).

3L-19

METABOLICKÉ PŘEMĚNY SILYBINU

PETRA JANČOVÁ, EVA ANZENBACHEROVÁ, ZDENĚK DVOŘÁK, PAVEL KOSINA a VILÍM ŠIMÁNEK

*Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
jancovapetra@seznam.cz*

Silymarin je směs nejméně 7 flavonolignanů a flavonoidu taxifolinu získaná z extraktu semen ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* [L.] Gaertn, Asteraceae). Silymarin má chemopreventivní účinky a je aktivní složkou řady fytopřípravků a doplňků stravy¹. Farmakologicky nejvíce studovaným flavonoliganem silymarinu je silybin (v silymarinu do 60 %), který je směsí dvou stereoisomerů, A a B v poměru 1:1. V předkládané práci byly sledovány metabolické přeměny silybinu v podmínkách *in vitro* a *in vivo*.

Publikovali jsme, že silybin je *O*-demethylován enzymem I fáze metabolismu cizorodých látek, cytochromem P450 2C8 (CYP2C8) v přítomnosti mikrosomální frakce lid-

ského jaterního homogenátu i za účasti rekombinantního CYP2C8 (cit.²). Tento metabolit však nebyl nalezen po inkubaci silybinu s primární kulturou lidských hepatocytů ani v moči dobrovolníka.

V této studii bylo nalezeno, že nejvýznamnější metabolity při biotransformaci silybinu jsou glukuronidy. HPLC analýzou s UV detekcí bylo prokázáno, že UDP-glukuronosyltransferasy (UGT) přítomné v mikrosomální frakci lidského jaterního homogenátu metabolizovaly silybin za vzniku 7-*O*-β-D-glukuronidů a 20-*O*-β-D-glukuronidů. Stejně glukuronidy byly identifikovány také po inkubaci silybinu s primární kulturou lidských hepatocytů a za účasti rekombinantní UDP-glukuronosyltransferasy 1A1 (UGT1A1). Další experiment ukázal, že UGT přednostně reagují s jedním ze dvou diastereoisomerů silybinu.

Na rozdíl od lidské plazmy³, kde byl nalezen především 20-*O*-β-D-glukuronid, jsme ve vzorcích lidské moči identifikovali 7-*O*-β-D-glukuronid silybinu. Největší množství 7-*O*-β-D-glukuronidů bylo v moči nalezeno již do 4 hodin po požití 2 tablet doplňku stravy Silymarin forte (2 × 190 mg silymarinu).

Znalost metabolických přeměn silybinu významně přispívá k jeho použití jako chemoprotektiva snižujícího riziko vzniku některých nádorových onemocnění.

Tato práce vznikla za podpory Vnitřního grantu Univerzity Palackého 91110181 a grantu MŠM 6198959216.

LITERATURA

1. Gažák R., Walterová D., Křen V.: Curr. Medicinal Chem. 14, 315 (2007).
2. Jančová P., Anzenbacherová E., Papoušková B., Lemr K., Lužná P., Veinlichová A., Anzenbacher P., Šimánek V.: DMD 35, 2035 (2007).
3. Křen V., Ulrichová J., Kosina P., Stevenson D., Sedmera P., Příkrylová V., Halada P., Šimánek V.: DMD 28, 1513 (2000).

3L-20

HPLC/MS CHARACTERIZATION OF TRIACYLGLYCEROL SAMPLES IMPORTANT IN HUMAN HEALTH AND NUTRITION RESEARCH

MIROSLAV LÍSA

*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice, Czech Republic
miroslav.lisa@upce.cz*

Triacylglycerols in complex natural mixtures important in nutrition and human health have been analyzed in this work. Properly optimized non-aqueous reversed-phase (NARP) HPLC method together with atmospheric pressure chemical ionization (APCI-MS) mass spectrometry detection enables the separation and identification of the highest number of triacylglycerols reported so far. The retention and fragmentation behavior of triacylglycerols in both common and unusual plant oils have been described. The identification of triacylglycerols double bond positional isomers based on

retention shifts and different fragmentation behavior have been suggested. Based on the comparison of three widely used detection techniques for analysis of triacylglycerols (APCI-MS, evaporative-light scattering detector and UV at 205 nm), the APCI-MS detection has been selected for the quantitative analysis of triacylglycerols in natural mixtures. Precise quantitation of triacylglycerols using NARP-HPLC/APCI-MS is based on the response factors calculated from calibration curves of single-acyl triacylglycerol standards. Developed quantitative approach is applied for the analysis of a wide range of plant oils important in nutrition and many branches of industry. Based on precise concentrations of triacylglycerols, the average composition of fatty acids in individual plant oils and sums of fatty acids with different saturation degree are calculated to describe the nutritional value of analyzed plant oils. HPLC/MS quantitative results have been compared with charge aerosol detection. The response uniformity of triacylglycerols in common plant oils, good reproducibility and excellent sensitivity of charge aerosol detector with gradient compensation method has been demonstrated.

This work was supported by the grant project No. MSM0021627502 sponsored by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and projects No. 203/06/0219 and 203/08/1536 sponsored by the Czech Science Foundation.

3L-21

CYKLODEXTRINOVÉ A CELULOSOVÉ CHIRÁLNÍ STACIONÁRNÍ FÁZE PRO ENANTIOSEPARACI SUBSTITUOVANÝCH BINAFTYLŮ

LUCIE LOUKOTKOVÁ, ZUZANA BOSÁKOVÁ a EVA TESAŘOVÁ

*PřF UK, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
loukotko@natur.cuni.cz*

Asymetrická syntéza s použitím vhodných katalyzátorů umožňuje přípravu čistých enantiomerů. Jako katalyzátory se dobře uplatňují mimořádné vlastnosti substituovaných binaftylů – jsou rigidní, chirální a mají vhodné prostorové uspořádání. Vysokou účinnou kapalinová chromatografie (HPLC) s chirálními stacionárními fázemi (CSPs) umožňuje rychle a efektivní stanovení optické čistoty syntetizovaných látek.

V této práci bylo studováno enantioseparační chování deseti vybraných binaftylových derivátů – osm 2,2'-disubstituovaných 1,1'-binaftylů a dvou 8,3'-disubst. 1,2'-binaftylů – na CSPs na bázi nativního- (β -CD) a hydroxypropyl- β -cyklodextrinu (HP- β -CD) a tris(3,5-dimethylfenylylkarbamátu) celulosy. Sledován byl vliv složení mobilní fáze (MF) na enantioseparační chování analytů.

Studie byly prováděny jak v normálním, tak v reverzním separačním módu. V normálním módu s MF tvořenou *n*-hexanem/propan-2-olem v různých objemových poměrech se na celulosové CSP rozdělily čtyři z deseti analytů. CD-kolony se neosvědčily.

Reverzní mód byl v případě CD CSPs tvořen MF methanol/voda nebo 0,5% triethylaminooctanový pufr, pH 3,0 nebo 6,0. Tři z deseti látek se podařilo rozdělit na obou CD kolo-

nách, avšak lepší chromatografické parametry poskytla HP- β -CD CSP. V případě tris(3,5-dimethylfenylylkarbamátu) celulosy byly MF složeny z acetonitrilu/vody nebo 20 mM fosfátového pufru, pH 3,0 nebo 6,0. 1,2'-binaftylly vykazovaly vysoké hodnoty *R* ve všech studovaných systémech. Pro enantioselektivní rozlišení některých 1,1'-binaftylů bylo výhodnější prostředí bez pufru, zatímco deriváty schopné tvorby H-vazeb vyžadovaly prostředí o nízké hodnotě pH. Strukturně symetrické analyty nebyly v žádném testovaném separačním systému rozlišeny.

Z výsledků jednoznačně vyplývá, že pro enantioseparaci binaftylů je v obou separačních módech výhodnější použití polysacharidové CSP. Vysoké hodnoty rozlišení 1,2'-binaftylů umožňující i aplikaci semi-preparativního módu zřejmě souvisí s jejich stericky vhodným fitem do chirální dutiny helikální struktury celulosy. Toto sterické uspořádání je zjevně výhodné i pro jejich inkluzi do kavity CD, o čemž svědčí jejich úspěšná enantioseparace na obou CD kolonách.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR, projekt Kontakt ME 89,5 a výzkumného záměru MSM0021620857.

3L-22

RAPID AND FACILE DETERMINATION OF ENANTIOMERIC COMPOSITION OF CHIRAL TETRAHYDROISOQUINOLINES BASED ON DERIVATIZATION WITH MENTHYL CHLOROFORMATE AND GC RESOLUTION OF CORRESPONDING CARBAMATES

VÁCLAV MATOUŠEK^a, PETR KAČER^a, MAREK KUZMA^b, and LIBOR ČERVENÝ^a

^a *Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6,*

^b *Laboratory of Molecular Structure Characterization, Institute of Microbiology Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4
vaclav.matousek@vscht.cz*

The quest for highly efficient routes to enantiopure chemicals for use in the pharmaceutical, fine chemical and agro-chemical sectors have been greatly accelerated in the last decade due to legislative and environmental pressures. One reason for this situation is the fact that the two enantiomers of a chiral active compound can interact in different ways with living organisms. The significance of chiral amines especially in the above mentioned branches of chemical industry demands not only the development of an efficient route to optically pure compounds but also a reliable, facile, rapid and cost-effective analytical technique for determination of their enantiomeric purity.

During our research on asymmetric transfer hydrogenation of prochiral substituted 3,4-dihydroisoquinolines with Noyori catalyst [Ru(Ts-DPEN)(*p*-cymene)Cl], we were searching for a quick and precise method for determination of enantiomeric excess of product tetrahydroisoquinolines other than HPLC-UV and chiral GC because of high labor-cost expenses and limited thermal stability of chiral GC-columns. We wish to report our successful attempt in determining the

enantiomeric excess of chiral tetrahydroisoquinolines.

The method is based on pre-column derivatization of chiral tetrahydroisoquinolines by reaction with (+)-menthylchloroformate. Nucleophilic secondary amine moiety in tetrahydroisoquinoline skeleton displaces chlorine in menthylchloroformate in the sense of nucleophilic acyl substitution to yield the corresponding diastereomeric carbamates. These diastereomers can be perfectly resolved on ordinary achiral non-polar poly(dimethylsiloxane) GC-column. No preferential derivatization of one enantiomer or the other occurs as was proven by derivatization of racemate. Varying the amount of derivatization reagent did not result in any change of observed peak ratio between the two formed diastereomers indicating good usability of this method.

3L-23

AMPEROMETRICKÉ STANOVENÍ ACIFLUORFENU, NITROFENU A OXYFLUORFENU S POUŽITÍM STŘÍBRNÝCH TUHÝCH AMALGAMOVÝCH ELEKTROD

VÍT NOVOTNÝ a JIŘÍ BAREK

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2
novotny1@natur.cuni.cz

Acifluorfen, nitrofen a oxyfluorfen patří do skupiny herbicidů odvozených od difenyletheru. Jedná se o látky silně toxické pro studenokrevné vodní živočichy¹ a zároveň genotoxické. Jako látky obsahující nitroskupinu jsou také elektrochemicky aktivní, což bylo využito k jejich voltametrickému stanovení na stříbrných tuhých amalgamových elektrodách². V reálných vzorcích jsou zpravidla doprovázeny celou řadou interferujících látek. Proto je zapotřebí zvolit vhodný separační krok, v tomto případě HPLC. V práci budou prezentovány 4 různé typy elektrochemických detektorů na bázi netoxických tuhých amalgamů² a bude prokázána jejich použitelnost k amperometrické detekci mikromolárních koncentrací studovaných látek po jejich separaci pomocí RP-HPLC. Budou porovnány výhody a nevýhody různých konstrukčních uspořádání a provedeno porovnání elektrochemické detekce s běžnější detekcí spektrofotometrickou.

Tento výzkum byl finančně podporován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt 332/2005/B-CH/PřF a projekt 6107/2007/B-CH/PřF) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR (projekt LC06035 a MSM 021620857).

LITERATURA

1. *The Pesticide Manual*. 11. vyd. British Crop Protection Council, Farnham 1997.
2. Novotný V.: *Bakalářská práce*, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha 2006.
3. Yosypchuk B.: *PhD Disertační práce*. FCHT, Univerzita Pardubice, Pardubice 2003.

3L-24

PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE JAKO NÁSTROJ KE STANOVENÍ TERMODYNAMICKÝCH VELIČIN PRO POPIS FÁZOVÝCH ROVNOVÁH

DANIEL ONDO

Ústav fyzikální chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
pingusun@hotmail.com

Informace o fázových rovnováhách jsou nedílnou součástí každodenní chemicko-inženýrské praxe a bezesporu patří mezi nejdůležitější termodynamická data vůbec. Z environmentální oblasti k tomu přistupuje ještě požadavek na údaje o chování zředěných vodných roztoků a distribuci organických látek mezi modelové „fáze“ životního prostředí. K termodynamickému popisu těchto směsí jsou používány různé veličiny (Henryho konstanta, limitní relativní tlakovost, rozdělovací koeficienty), ale základní veličinu představuje limitní aktivitní koeficient (LAK) minoritní složky¹.

Praxe ukázala, že plynová chromatografie je vhodnou analytickou technikou pro stanovení LAK, neboť LAK je vždy v přímém vztahu s jedním ze dvou hlavních chromatografických parametrů: retenčním časem nebo plochou píku sledované složky.

Plynový chromatograf jako experimentální nástroj byl využit při stanovení limitních aktivitních koeficientů organických látek v iontových kapalinách^{2,3} a ve vodě⁴. V těchto aplikacích je měřena retence sledované látky na chromatografické koloně, jejíž zakotvenou fází tvoří zkoumané rozpouštědlo.

Při stanovení limitních aktivitních koeficientů etherů ve vodě⁵ byla plynová chromatografie využita pro 4 různé experimentální techniky (relativní head-space analysis, saturační metoda, Rayleighova destilační metoda a metoda rovnovážného přístroje) jako analytický nástroj k určení složení rovnovážných fází, resp. pro kvantifikaci parciálního tlaku sledované složky nad jejím zředěným roztokem.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 604 613 7307.

LITERATURA

1. Dohnal V., v knize: *Measurement of the Thermodynamic Properties of Multiple Phases* (Weir R. D., de Loos Th. W., ed.), kap. 14. Elsevier, Amsterdam 2005.
2. Heintz A., Verevkin S. P., Ondo D.: *J. Chem. Eng. Data* 51, 434 (2006).
3. Heintz A., Verevkin S. P., Lehmann J. K., Vasiltsova T. V., Ondo D.: *J. Chem. Thermodynamics* 39, 268 (2007).
4. Dohnal V., Ondo D.: *J. Chromatogr., A* 1097, 157 (2005).
5. Ondo D., Dohnal V.: *Fluid Phase Equilib.* 262, 121 (2007).

3L-25

STANOVENÍ ZELEŇ FLUORESKUJÍCÍHO PROTEINU POMOCÍ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY S LASEREM INDUKOVANOU FLUORESCENČNÍ DETEKCÍ**MARKÉTA RYVOLOVÁ^a, ONŘEJ PEŠ^a, RADKA FOHLEROVÁ^b, JAN HEJÁTKO^b a JAN PREILER^a**^a Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, 637 11 Brno, ^b Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, 637 11 Brno
marketa.ryvolova@yahoo.com

Zeleně fluoreskující protein (GFP) je používán jako fluorescenční marker proteinové exprese. Základem použití je modifikace sledovaného proteinu pomocí GFP na úrovni DNA, což umožňuje pozorování daného proteinu v nativních podmínkách. Hlavní výhodou GFP je možnost jeho použití v živých organismech ať rostlinných nebo živočišných^{1,2}.

Mezi nejdůležitější spektrální vlastnosti GFP patří dvě excitační maxima (395 nm a 475 nm) a emisní maximum 510 nm. Běžně se pro fluorescenční analýzu GFP využívá fluorescenční mikroskopie s excitací 450–500 nm případně CE-LIF s využitím excitační vlnové délky 488 nm^{3,4}.

V této práci bylo pro analýzu GFP použito přístroje kapilární elektroforézy sestaveného na Ústavu chemie, PřF, MU, který jako excitační zdroj využívá laserovou diodu s vlnovou délkou 405 nm. Excitace touto vlnovou délkou předpokládá dosažení vyšších výtěžků fluorescence, což je přínosné především pro vzorky o velmi nízké koncentraci. Analyzovány byly vzorky proteinového extraktu získané z *Arabidopsis thaliana*, kde byla exprimována volná forma GFP. Tato metoda může být v budoucnu využita jako velmi citlivá detekční technika pro analýzu fúzních proteinů značených GFP. A to zejména v případech, kdy nelze použít běžně využívaných metod jako například gelové elektroforézy v polyakrilamidovém gelu (PAGE). Jednou z možných aplikací je sledování průběhu fosforylace histidinu v proteinech AHP, které se účastní cytokininové signální dráhy zajišťující například dělení buněk nebo tvorbu chloroplastů. Nestabilita fosfohistidinu a velmi nízký obsah těchto proteinů v buňce neumožňují aplikaci klasických detekčních technik.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR LC06035 a MSM0021622415.

LITERATURA

1. Zhang L., Yang J., Niu Q., Zhao X., Ye F., Liang L., Zhang K. Q.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 78, 983 (2008).
2. Asencio C., Rodri'guez-Aguilera J.C., Va'zquez R, Baylis H., Cabello J., Schnabel R., Gavila'n A., Navas P.: Gene Expression Patterns 6, 433 (2006).
3. Turner E. H., Lauterbach K., Pugsley H. R., Palmer V. R., Dovichi N. J. : Anal. Chem. 79, 778 (2007).
4. Zhang J. F., Ma L., Liu X., Lu Y. T.: J. Chromatogr., B 804, 413 (2004).

3L-26

PHOTOCATALYTIC REACTIONS IN A MICROWAVE FIELD USING AN ELECTRODELESS DISCHARGE LAMP**HANA ŽABOVÁ and VLADIMÍR CÍRKVA**Institute of Chemical Process Fundamentals AS CR, v.v.i., Rozvojová 135, 165 02 Prague 6
zabova@icpf.cas.cz

Microwaves are well known for their heating effects on polar substances and are widely used domestically and industrially. Recently, microwaves have been used to assist photochemical and photocatalytic reactions for degradation of organic pollutants¹. As a source of light an electrodeless discharge lamp (EDL) which generates ultraviolet radiation after placed into the microwave field is used². Titanium dioxide in anatase form is a well-known photocatalyst. The aim of the research is to prepare titanium dioxide thin films onto the surface of EDL using the sol-gel method based on hydrolysis of titanium alkoxides. The crystal phase of TiO₂ prepared was analyzed by X-ray diffraction and the observed structure phases revealed anatase as the predominant crystalline phase. From Atomic Force Microscope images, the film of TiO₂ was homogeneous with approximately uniform crystallite size. The absorption edge of TiO₂ was detected by UV-Vis spectrophotometer. Specific surface area was determined from adsorption and desorption isotherms of nitrogen at 77 K. The photocatalytic activity of samples prepared was evaluated by degradation of mono-chloroacetic acid using Hg-EDL. Spectral measurements of prepared lamps were carried out on the spectrometer with an optical fiber probe.

Time behaviour of the reaction was analyzed by a chloride ion-selective electrode. This study revealed that the reaction efficiency depends on the intensity of light and initial pH value of the solution. Moreover, the degradation of mono-chloroacetic acid was enhanced in an alkaline solution and in the presence of H₂O₂, and significantly enhanced by increasing the intensity of light. Furthermore, this study also discloses that reaction is not influenced by the number of TiO₂ thin films or by air bubbling.

Authors wish to thank to the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 104/06/0992) for funding this research. HŽ also thanks the Grant Agency of the Czech Republic for funding partly her PhD studentship (Doctoral Grant No. 203/08/H032).

REFERENCES

1. Klán P., Hájek M., Církva V.: J. Photochem. Photobiol., A 140, 185 (2001).
2. Klán P., Církva V., chapter in book: *Microwaves in Organic Synthesis, Microwaves in Photochemistry*, ch. 19, p. 861. John Wiley, New York 2006.