

1L-01**MIKROČIPOVÁ ELEKTROFORÉZA V ANALÝZE BIO- A ENVIROVZORIEK**

MARIÁN MASÁR, LADISLAV DANČ, PETER TROŠKA, KATARÍNA UHLÁROVÁ, MILAN LUC, MICHAL HORČÍČIAK, PAVOL KRUK a RÓBERT BODOR

*Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská Dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika
masar@fns.uniba.sk*

Príspevok je zameraný na metodologické a aplikačné aspekty mikročipovej elektroforézy (MCE), ktorá má v súčasnosti dominantné postavenie v tzv. „lab-on-a-chip“ analytických systémoch. Tieto miniaturizované analytické systémy integrujú úpravu vzorky, separáciu a detekciu analytov, príp. ďalšiu manipuláciu so vzorkou, čo je veľmi výhodné z hľadiska zvýšenia automatizovateľnosti analytického postupu, zníženia celkového času analýzy a zníženia finančných nárokov, ako aj zníženia produkcie (toxického) odpadu pri vlastnej analýze. Na druhej strane, reálne analytické využitie MCE v praxi je stále limitované z hľadiska dostupnosti vhodných miniaturizovaných prostriedkov na úpravu vzoriek a nových technológií pre miniaturizáciu detekčných systémov.

Cieľom tohto príspevku je ukázať aplikačné možnosti MCE na čipoch rôzneho dizajnu s preferovanou on-line integrovanou vodivostnou detekciou v analýze komplexných biologických a environmentálnych vzoriek. V tomto ohľade budú diskutované rôzne spôsoby integrácie úpravy vzoriek pred finálnou MCE separáciou a detekciou s cieľom zjednodušenia matrice a odstránenia potenciálnych interferujúcich látok priamo na elektroforetickom čipe, resp. off-line využitie miniaturizovaných spôsobov úpravy vzoriek.

V tejto súvislosti budú ukázané analytické možnosti využitia techniky spájania kolón („column-coupling“, CC), známej z konvenčnej kapilárnej elektroforézy, na elektroforetických čipoch a on-line spájanie rôznych elektroforetických metód na CC čipoch, napr. zónovej elektroforézy s izotachoforézou. CC technológia implementovaná na CE čip umožňuje stanovenie aj extrémne nízkych koncentrácií analytov vo veľmi komplexných biologických a environmentálnych matrikách, napr. stanovenie dusičnanov a dusitanov ako biomarkerov rôznych neurologických ochorení v mozgovomiechovom moku, príp. stanovenie niektorých organických kyselín zodpovedných za rôzne dedičné ochorenia v moči. V environmentálne orientovanej aplikačnej oblasti budú ukázané možnosti využitia CC čipov s vhodnými úpravnými technikami napr. pri stanovení rôznych iónogénnych látok s karcinogénnymi a mutagénymi vlastnosťami v pitných vodách.

Táto práca vznikla za podpory grantových agentur MŠ SR (VEGA 1/1149/12), APVV (VVCE 0070/07) a EFRR OPVaV (RecProt, ITMS: 26240220034).

1L-02**DESET POHLEDŮ DO BUDOUČNOSTI ELEKTROANALYTICKÉ CHEMIE**

JIŘÍ BAREK

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2
barek@natur.cuni.cz*

V období fascinujících možností a bouřlivého rozvoje moderních separačních a spektrometrických metod jsou možnosti moderních elektroanalytických metod poněkud podceňovány. Jejich hlavní výhodou jsou pochopitelně nízké pořizovací a provozní náklady, které je předurčují pro velkoplošné monitorování. Poněkud podceňovány jsou jejich analytické parametry (citlivost, mez detekce, selektivita), které jsou v řadě případů postačující i pro náročné environmentální biologické či medicínské aplikace. Navíc nově vyvinuté mechanicky robustní amalgamové, borem dopované diamantové filmové elektrody, uhlíkové filmové elektrody jsou doplňovány i řadou komerčně dostupných sítotiskových elektrod na jedno použití. V praxi může být výhodná i snadná přenosnost používané instrumentace a možnost jednoduché a rychlé předběžné separace a prekoncentrace např. pomocí extrakce tuhou fází. Výrazného zkrácení doby stanovení lze dosáhnout pomocí elektrochemické detekce ve spojení s průtokovou injekční analýzou a kombinace citlivé a poměrně selektivní elektrochemické detekce s obrovskými separačními možnostmi vysokoúčinné kapalinové chromatografie či elektromigračních metod může rovněž pomoci při řešení řady praktických analytických problémů.

V tomto příspěvku bude demonstrováno deset oblastí, které autor považuje za klíčové pro další rozvoj elektroanalytické chemie a za nejnadějnější pro praktické aplikace moderních elektroanalytických metod.

1. Velkoplošné monitorování ekotoxických a genotoxických polutantů.
2. Monitorování biomarkerů expozice či onemocnění
3. Monitorování metabolitů léčiv
4. Sledování kvality farmaceutických přípravků
5. Využití předběžné separace a prekoncentrace ke zvýšení citlivosti a selektivity voltametrických či amperometrických stanovení
6. Vývoj nových typů elektrochemických biosenzorů
7. Vývoj nových typů chemicky či biologicky modifikovaných elektrod
8. Hledání nových elektrodových materiálů a konstrukčních uspořádání
9. Supramolekulární elektrochemie
10. Elektrochemická detekce v průtokových systémech

Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekt MSM0021620857), Grantovou agenturou České republiky (projekt P206/12/G151), Technologickou agenturou České republiky (projekt TA01020565) a Univerzitou Karlovou v Praze (projekt UNCE 2012/44).

1L-03**HMOTNOSTNĚ-SPEKTROMETRICKÉ ZOBRAZOVÁNÍ – TECHNIKY A APLIKACE****DAVID SÝKORA* a VLADIMÍR KRÁL**

Ústav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
David.Sykora@vscht.cz

Trvalá snaha lépe pochopit složité procesy probíhající na molekulární úrovni ve zdravých i poškozených tkáních je spojena s hledáním a využitím řady nových nástrojů a technik, které toto zkoumání umožní. Z tohoto hlediska patří hmotnostní spektrometrie (MS) k osvědčeným a velmi často využívaným metodám výzkumu v oblasti biochemie a medicíny. Jednou z poměrně nových technik MS je tzv. hmotnostně-spektrometrické zobrazování (MSI)¹. Pomocí MSI lze získávat MS obrazy řezů různých tkání a zjišťovat prostorovou distribuci látek v těchto tkáních. MSI může sloužit jako doplněk a podpora histologii. Navíc příprava vzorku pro MSI je často jednodušší než při analýze homogenátu tkání pomocí kapalinové chromatografie v kombinaci s MS.

Existuje několik ionizačních technik pro přímou MSI, některé jsou významnější, jiné se používají spíše výjimečně. Mezi ty frekventované metody patří techniky označované jako: (a) Secondary Ion MS (SIMS), (b) Desorption Electrospray Ionization (DESI), a (c) Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI).

Publikované MSI studie zahrnují širokou paletu sledovaných látek v mnoha různých tkáních. Vedle proteomických aplikací MSI se tato technika velmi rychle rozvíjí především v oblasti klinického výzkumu při sledování distribuce nových potenciálních léčiv a jejich metabolitů.

Příspěvek poskytne stručný popis vybraných hojně používaných metod MSI a představí některé zajímavé aplikace především v oblasti klinického výzkumu.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR P206/12/0453.

LITERATURA

1. Pol J., Strohalm M., Havlicek V., Volny M.: *Histochem. Cell Biol.* 134, 423 (2010).

1L-04**TEPLOTNĚ ZÁVISLÁ MĚŘENÍ POVRCHEM ZESÍLENÝCH VIBRAČNÍCH SPEKTER: JAK ZVOLIT TEPLOTU NANOSTRUKTURNÍHO SUBSTRÁTU PRO ANALYTICKÉ APLIKACE?****PAVEL MATĚJKA, ALŽBĚTA KOKAISLOVÁ, MILENA KALHOUSOVÁ, ZUZANA CIESLAROVÁ, MARCELA DENDISOVÁ a MARTIN ČLUPEK**

Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice
Pavel.Matejka@vscht.cz

Povrchem zesílené vibračně spektroskopické (SEVS) techniky jsou založeny na jevech povrchem zesíleného Rama-

nova rozptylu (SERS) a povrchem zesílené infračervené absorpce (SEIRA). Zesílení signálu Ramanova rozptylu je možné i více než 10^{10} krát, zesílení infračervené absorpce je obvykle v rozmezí 10^2 – 10^3 . Metody tak umožňují detegovat a identifikovat velmi malá množství anorganických a především organických látek¹. Detekce, identifikace, a ještě více kvantifikace analytů je komplikována variabilitou SEVS spekter, která je způsobena řadou experimentálních vlivů, jako je například typ použitého SEVS-aktivního kovu (Ag, Au, Cu), nanostrukturní morfologie jeho povrchu, způsob adsorpce resp. depozice analytů (včetně orientace molekul vůči povrchu), či rozsah adsorpce/desorpce analytů. Běžně se SERS i SEIRA spektra měří za laboratorní teploty. Nicméně, je zřejmé, že řada zdrojů variability dat může být teplotně závislá. Studium vlivu teploty SEVS-aktivního systému při záznamu spekter byla dosud věnována jen omezená pozornost a výsledky jsou leckdy sporné (jako v případě Rhodaminu 6G^{2,3}), a proto jsme se rozhodli věnovat se systematicky této problematice.

Nejprve jsme navrhli a zkonstruovali držáky umožňující nastavovat a stabilizovat teplotu SEVS-aktivního systému během záznamu vibračních spekter. Následně jsme proměřili na různých SEVS-aktivních kovech série spekter biologicky významných látek, které jsme dříve studovali při laboratorní teplotě^{4,5}. Chemometricky vyhodnocená data ukazují, že vliv teploty na měřená spektra je systematicky patrný pro různé SERS-aktivní substráty a všechny zkoumané analyty. Z analytického pohledu je podstatné, že variabilita opakovaně měřených spekter je zmenšená při teplotách snížených vůči laboratorním podmínkám.

Tato práce vznikla za podpory grantu Grantové agentury ČR (číslo projektu P206/11/0951).

LITERATURA

1. Aroca R.: *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*, J. Wiley, Chichester 2006.
2. Yang K. H., Liu Y. C., Hsu T. C.: *J. Electroanal. Chem.* 632, 184 (2009).
3. Lang X. Y., Guan P. F., Zhang L., Fujita T., Chen M. W.: *J. Phys. Chem., C* 113, 10956 (2009).
4. Kokaislova A., Matejka P.: *Anal. Bioanal. Chem.*, v tisku.
5. Cieslarová Z., Matějka P.: *Chem. Listy* 106, 224 (2012).

1L-05**SERRS SPEKTROSKOPIE PRO DETEKCI VELMI NÍZKÝCH KONCENTRACÍ CHROMOFORŮ****MARKÉTA KOKOŠKOVÁ^a, MAREK PROCHÁZKA^b a BLANKA VLČKOVÁ^a**

^a Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Albertov 6, 128 43 Praha 2; ^b Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Ke Karlovu 3, 121 16 Praha 2
marketakokoskova@seznam.cz

Povrchem zesílený Ramanův rozptyl (surface-enhanced Raman scattering, SERS) je založen na současné interakci

excitujícího laserového záření s nanostrukturami (např. nanočásticemi) silně vodivých kovů (nejčastěji Ag a Au) a molekulami lokalizovanými v blízkosti jejich povrchů. Elektromagnetický mechanismus SERS má původ v zesílení jak dopadajícího, tak molekulami neelasticky rozptýleného záření prostřednictvím rezonančního Mieova rozptylu záření Ag či Au nanočásticemi. V případě, že vlnová délka excitujícího záření splňuje současně s rezonanční podmínkou pro Mieův rozptyl daného souboru nanočástic také podmínku molekulární rezonance určité chromoforové molekuly, je pozorován povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl (surface-enhanced resonance Raman scattering, SERRS). Současný vývoj SERS a SERRS spektroskopie je motivován řadou faktorů. Nejvýznamnějšími z nich jsou rozsáhlé spaktroanalytické aplikace, možnost detekce signálu z jedné či několika málo molekul (single molecule SERS) a možnosti sledování průběhu chemických reakcí na površích či dalších povrchem zesílených optických procesů, např. fotochemických.

V našem výzkumu jsme se zaměřili na studium vlivu rozdílného způsobu adsorpce strukturně analogických chromoforů na povrchy Ag nanočástic na působení mechanismu molekulární rezonance v procesu SERRS. Za tímto účelem byly stanoveny meze SERRS spektrální detekce dvou chromoforů, konkrétně dikationtu bis(2,2'-bipyridyl)-(4,4'-dikarboxy-2,2'-bipyridyl)ruthenatého $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dcbpy})]^{2+}$ a dikationtu tris(2,2'-bipyridyl)ruthenatého $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. V případě přímo vázaného (chemisorbovaného) $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dcbpy})$ byla mez spektrální detekce stanovena jako $1 \cdot 10^{-9}$ M, zatímco v případě elektrostaticky vázaného $\text{Ru}(\text{bpy})_3$ jako $1 \cdot 10^{-12}$ M, ačkoli rozdíl v zesílení jejich rezonančního Ramanova rozptylu je dán pouze faktorem 2. Hlavní podíl na zvýšení meze detekce $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dcbpy})$ oproti $\text{Ru}(\text{bpy})_3$ má větší tzv. tlumení molekulární rezonance (přibližně 500násobné), které je způsobeno jeho přímou adsorpcí na povrch Ag nanočástic a znamená, že v tomto případě dochází k podstatnému snížení doby života excitovaného stavu molekuly. Z těchto výsledků proto vyplývá, že pro detekci chromoforů v obdobných systémech je výhodnější, jsou-li k povrchu Ag nanočástic navázány prostřednictvím molekulárního nebo iontového spaceru. Takovýto způsob navázání zaručuje jak zachování nativní struktury chromoforu, tak možnost detekce při nižších koncentracích než v případě přímé adsorpce.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR P208/10/0941.

1L-06

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V PROUDOVÉ TRUBICI S VYBRANÝMI IONTY (SIFT-MS)

KRISTÝNA SOVOVÁ^{a,b}, PATRIK ŠPANĚL^b, KSENIYA DRYAHINA^b a VIOLETTA SHESTIVSKÁ^b

^a Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Albertov 2030, 128 43 Praha, ^b Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i, Dolejškova 2155/3, 182 23 Praha
sovoval@natur.cuni.cz

Selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS neboli hmotnostní spektrometrie v proudové trubici

s vybranými ionty je metoda, která byla vyvinuta zejména pro analýzu lidského dechu¹. Hlavní charakteristikou SIFT-MS je možnost rychlého měření absolutních koncentrací stopových plynů látek bez nutnosti kalibrace. Kombinace techniky rychlé proudové trubice², chemické ionizace a hmotnostní spektrometrie umožňuje přesnou kvantitativní analýzu mnoha stopových plynů obsažených nejen v dechu, ale i okolním vzduchu v reálném čase v jednotkách ppbv (parts per billion, 10^{-9}).

SIFT-MS byla použita v řadě rozdílných oblastí vědeckého výzkumu, což poukazuje na široký rozsah možností této analytické techniky^{3,4}. V oblasti analýzy dechu patří k největším úspěchům příspěvek k diagnostice cystické fibrózy. Metoda SIFT-MS byla použita k detekci volatilních látek emitovaných bakteriemi *Pseudomonas aeruginosa* (PA) a HCN byl identifikován jako biomarker⁵. Jiným příkladem mezioborového výzkumu pomocí SIFT-MS bylo studium tekavých látek, které rostliny uvolňují do svého⁶. Pomocí SIFT-MS přístroje byly studovány i různé spalné produkty při řízeném spalování za dvou různých teplot (500 a 800 °C)⁷.

SIFT-MS je interdisciplinární metoda, která byla aplikována nejen v medicíně a analýze lidského dechu, ale i v dalších oblastech vědeckého výzkumu jakými jsou biologie, potravinářství⁸ či monitorování životního prostředí.

Tato práce vznikla za podpory grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (projekt GAUK 32010).

LITERATURA

- Španěl P. a Smith D.: Eng. Comput. 34, 409 (1996).
- Adams, N. G., Smith D.: Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 21, 349 (1976).
- Smith D., Španěl P.: Mass Spectrom. Rev. 24, 661 (2005).
- Španěl P., Smith D.: Mass Spectrom. Rev. 30, 236 (2011).
- Carroll W., Lenney W., Wang T. S., Španěl P., Alcock A., Smith D.: Pediatric Pulmonology 39, 452 (2005).
- Sovová K., Dryahina K., Španěl P.: Int. J. Mass Spectrom. 300, 31 (2011).
- Sovová K., Ferus M., Matulková I., Španěl P., Dryahina K., Civiš S.: Mol. Phys. 106, 1205 (2008).
- Olivares A., Dryahina K., Navarro J. L., Smith D., Španěl P., Flores M.: J. Agric. Food Chem. 59, 1931 (2011).

1L-07

APLIKACE NANOČÁSTIC ZLATA V KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZE

PAVEL ŘEZANKA, DAVID SÝKORA a VLADIMÍR KRÁL*

Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice
vladimir.kral@vscht.cz

Nanočástice našly pro svoje jedinečné vlastnosti¹ uplatnění i v separačních technikách, zejména v kapilární elektro-

foréze (CE), kapilární elektrochromatografii (CEC), micelární elektrokinetické chromatografii a elektroforéze na čipu při analýze všech typů látek, ať už nízkomolekulárních nebo vysokomolekulárních, anorganických nebo organických. Nanočástice jsou využívány pro pokrytí kapilár u CEC a jako přídavek do základního elektrolytu u CE. Pokroky využití nanočástic jsou shrnuty v řadě přehledných článků^{2,3}, ve kterých nejčastěji převažuje použití nanočástic zlata^{2,3}.

Kapilární elektrochromatografie představuje jednu z možností úpravy vlastností povrchů, v tomto případě kapilár. Tato metoda nabízí alternativu k tzv. pseudostacionárním fázím, kdy jsou modifikované nanočástice přidávány do mobilní fáze. Výhodou imobilizace nanočástic na povrch kapilár je jejich menší spotřeba díky možnosti opakovaného použití kapilár a možnost analýz i při podmínkách, ve kterých by nanočástice v mobilní fázi agregovaly, a proto by nešlo analýzu provést. Nevýhodou je menší množství nanočástic přítomných při analýze a tudíž horší separační vlastnosti kapilár.

Modifikace kapilár v separačních technikách je teprve v počátcích a v současnosti je na toto téma publikováno jen několik desítek prací, které jsou shrnuty v přehledném článku⁴. Získané poznatky však naznačují zlepšení separačních vlastností (selektivita a separační účinnost) kapilár po imobilizaci nanočástic^{5,6}. Vzhledem ke zvládnuté přípravě modifikovaných nanočástic je snadné připravit systémy s jedinečnými vlastnostmi. Ačkoli získané výsledky ukazují, že se nejedná o průlomovou metodu, i přesto je v této oblasti prostor pro další výzkum.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR P206/12/0453.

LITERATURA

1. Daniel M.-C., Astruc D.: *Chem. Rev.* 104, 293 (2004).
2. Nilsson C., Birnbaum S., Nilsson S.: *J. Chromatogr., A* 1168, 212 (2007).
3. Liu F.-K.: *J. Chromatogr., A* 1216, 9034 (2009).
4. Sýkora D., Kašička V., Mikšík I., Řezanka P., Záruba K., Matějka P., Král V.: *J. Sep. Sci.* 33, 372 (2010).
5. Řezanka P., Navrátilová K., Žvátora P., Sýkora D., Matějka P., Mikšík I., Kašička V., Král V.: *J. Nanopart. Res.* 13, 5947 (2011).
6. Řezanka P., Ehala S., Koktan J., Sýkora D., Žvátora P., Vosmanská M., Král V., Mikšík I., Čeřovský V., Kašička V.: *J. Sep. Sci.* 35, 73 (2012).

1L-08

RTUŤOVÉ ELEKTRODY – STÁLE VYNIKAJÍCÍ NÁSTROJE VÝZKUMU A ANALÝZY BIOPOLYMERŮ

Abstrakt přednášky věnované 90. výročí objevu polarografie

MIROSLAV FOJTA

Biofyzikální ústav AVČR, v.v.i., Královopolská 135, 612 65 Brno
fojta@ibp.cz

Počátky elektrochemie biopolymerů, především proteinů a nukleových kyselin, byly neodmyslitelně spjaty s polarografickými měřeními na kapající rtuťové elektrodě,

později pak s aplikací stacionární (visící) rtuťové kapkové elektrody. V posledních desetiletích jsme svědky rychlého rozvoje elektrochemie biopolymerů a obecně elektrochemických biosenzorů v souvislosti s pokroky v biologických vědách a s nimi spojeným hledáním nových bioanalytických nástrojů, které by umožňovaly vysoce citlivou a selektivní detekci nukleotidových sekvencí, mutací, poškození genetického materiálu, analýzu specifických bílkovin a dalších biomolekul. Rtuťové elektrody jsou však v této oblasti využívány poměrně zřídka, a to jednak v souvislosti s jejich toxicitou (byť obvykle přečeňovanou a často v principu nepochope-nou), jednak s omezenou kompatibilitou rtuťových elektrod s konceptem jednoduchých čidel na jedno použití. Nevýhody rtuťových elektrod mohou být částečně kompenzovány aplikací elektrod amalgámových.

Současný vývoj ve specifických oblastech výzkumu biopolymerů však význam, a do značné míry i nenahraditelnost rtuťových (případně amalgámových) elektrod spíše zvyšuje, než popírá¹. Jedná se zejména o ty oblasti, kde se projevují jejich unikátní vlastnosti, tj. zejména dokonalá obnovitelnost, atomárně hladký povrch a vysoké vodíkové přepětí. Tyto vlastnosti umožňují využívat vysoce specifickou adsorpci nukleových kyselin, proteinů a dalších biomolekul, která je silně ovlivněna jejich strukturou. Na rtuťových elektrodách je možno využívat katalytického vylučování vodíku, které je charakteristické jednak pro (neznačené) peptidy a bílkoviny, jednak pro biopolymery modifikované některými komplexy přechodných kovů, například osmia či platiny. Na základě těchto jevů byly navrženy vysoce citlivé metody detekce poškození DNA, její chemické modifikace, stanovení peptidů bohatých na cystein, agregace a denaturace bílkovin, interakcí DNA s proteiny a dalších jevů významných z hlediska biologických funkcí biopolymerů a využití v oblasti molekulární diagnostiky a biomedicínského výzkumu.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR P206/12/G151.

LITERATURA

1. Fojta M., Havran L., Horáková P., Pivoňková H., v: *Sensing in Electroanalysis* (K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytřas; ed.), sv. 6, s. 55, University Press Centre, Pardubice.

1L-09

VÝPOČETNÍ NÁSTROJE PeakMaster A SIMUL PRO KAPILÁRNÍ ZÓNOVOU ELEKTROFORÉZU

PAVEL DUBSKÝ, MARTINA RIESOVÁ, MARTIN BENEŠ, JANA SVOBODOVÁ a BOHUSLAV GAŠ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha
pavel.dubsky@natur.cuni.

Separace kapilární (zónovou) elektroforézou (CZE) je komplexní nelineární proces popsáný soustavou parciálních diferenciálních rovnic látkového toku a soustavou algebraických rovnic chemických rovnováh. Vývoj a optimalizace analytických metod CZE na základě zjednodušených představ

o pohybu iontů analytu v homogenním elektrickém poli tak často nevede ke kýženým výsledkům, ale je nutné použít pokročilých výpočetních metod. V naší laboratoři Elektrochemických a chromatografických separačních metod (ECHMET¹) se dlouhodobě zabýváme vývojem predikčních nástrojů pro CZE.

Program PeakMaster našel své uplatnění při optimalizaci vlastností základního elektrolytu (pH, iontová síla, vodivost) spolu s predikcí polohy a tvaru píků analytů (zejména vlivu elektromigrační disperze na analytické rozlišení). Predikce se rovněž týká výskytu tzv. systémových píků², tj. píků pozorovaných zejména na záznamu z vodivostní nebo nepřímé UV detekce, které vznikají v systému samovolně, bez přímé souvislosti s libovolným analytem. Ve své dřívější verzi umožňoval PeakMaster pouze predikci polohy těchto píků, zatímco nová verze poskytuje rovněž jejich očekávaný tvar. Za zmínku stojí také např. nedávná předpověď asymetrické disperze píku analytu vlivem jeho interakce se selektorem, kterou jsme rovněž ověřili experimentálně. Ještě pozoruhodnější je odhalení existence tzv. oscilujících elektrolytů, jež byla také experimentálně potvrzena³.

Program SIMUL simuluje elektroforetický proces numerickým řešením příslušných rovnic. Poskytuje tak přesné koncentrační profily jednotlivých složek systému, včetně jejich záznamu v časové doméně detektoru. SIMUL umožňuje podrobné studium sledovaných dějů, včetně složitějších jevů jako je generace Joulova tepla, koncentrační polarizace na iontově selektivních membránách či určení rychlostní konstanty reakce u analytů podléhajících během separace rychlé interkonverzi (např. enantioseparační systémy).

Predikční nástroje PeakMaster i SIMUL byly validovány na řadě reálných elektroforetických systémů a software je distribuován jako freeware¹.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu MSM0021620857 (MŠMT ČR) a projektů Grantové agentury České republiky, granty číslo 203/08/1428 a 206/12/P630.

LITERATURA

1. <http://echmet.natur.cuni.cz>
2. Gaš B., Hruška V., Dittmann M., Bek F., Witt K.: J. Sep. Sci. 30, 1435 (2007).
3. Hruška V., Jaroš M., Gaš B.: Electrophoresis 27, 513 (2006).

1L-10

KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA VE SPOJENÍ S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ V TOXIKOLOGICKÉ ANALÝZE

PAVLÍNA GINTEROVÁ^a, JOANNA ZNALEZIONA^a, JAN PETR^b, JAN CHRASTINA^c, MARTIN ŠVIDRNOCH^a, JURAJ ŠEVČÍK^a, PETER ONDRA^d, IVO VÁLKA^d a VÍTĚZSLAV MAIER^b

^a Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. Listopadu 12, 771 46 Olomouc, ^b Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. Listopadu 12, 771 46 Olo-

mouc, ^c Ústav společenských a humanitních věd, Fakulta zdravotnických věd UP v Olomouci, Tr. Svobody 8, 771 11 Olomouc, ^d Ústav soudního lékařství a medicínského práva, Fakultní nemocnice Olomouc, Hněvotínská 3, 775 09 Olomouc vitezslav.maier@upol.cz

Kapilární elektroforéza ve spojení s hmotnostní spektrometrií (CE-MS) je i přes své široké možnosti opomíjenou instrumentální metodou, která umožňuje rychlou analýzu a identifikaci toxikologicky významných sloučenin a jejich metabolitů v biologickém materiálu. Vysoké rozlišení, rychlost analýz, nízká spotřeba vzorků a reagentů předurčuje CE jako atraktivní techniku v toxikologických a forenzních laboratořích. Možnost spojení CE s tandemovou hmotnostní spektrometrií navíc umožní bezpečnou identifikaci a kvantifikaci velmi nízkých koncentrací cílových analytů. CE-MS technika tak může být minimálně plnohodnotnou alternativou k dnes běžně užívaným technikám kapalinové chromatografie a plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-MS a GC-MS).

V rámci přednášky budou prezentovány vybrané zajímavé případy využití CE-MS techniky v analýze toxikologicky významných sloučenin, diskutovány budou také úskalí spojené s optimalizací CE-MS metod pro toxikologickou analýzu a přípravou biologických vzorků (moč, krev). Prezentovány budou i případy analýzy toxikologicky významných látek, kdy je analýza LC-MS či GC-MS technikou obtížná.

Tato práce vznikla za podpory grantu Ministerstva zdravotnictví České republiky IGA MZ ČR NT/13593.

1L-11

CHARAKTERIZACE NANO OBJEKTŮ POMOCÍ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY

JAN PETR^a, PAVLÍNA GINTEROVÁ^a, KATEŘINA POLÁKOVÁ^b, JOANNA ZNALEZIONA^a, PAVLÍNA SVOBODOVÁ^a, ZDENKA MARKOVÁ^b, VÍTĚZSLAV MAIER^a, RADEK ZBOŘIL^b a JURAJ ŠEVČÍK^a

^a Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů – Katedra analytické chemie, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc, ^b Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů – Katedra fyzikální chemie, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc secjpetr@gmail.com

Kapilární elektroforéza (CE) je výjimečná analytická technika umožňující analýzu jak malých anorganických nebo organických iontů, tak větších molekul a útvarů typu buněk, virů, mikroorganismů nebo nanočástic¹. Její možnosti jsou obzvláště zajímavé pro analýzu/charakterizaci nanoobjektů, kde je cenné popsat jejich chování v prostředí podobném prostředí buněk. CE totiž reflektuje chování nanoobjektů především z pohledu jejich zeta potenciálu (resp. hustotě povrchového náboje), velikosti, tvaru, ale i schopnosti interagovat s dalšími látkami, vytvářet stabilní disperze nebo naopak agregovat².

V našem případě byla kapilární elektroforéza využita

pro charakterizaci dvou typů nanoobjektů: uhlíkových kvantových teček³ a magnetických nanočástic⁴. Bylo studováno jejich chování v prostředí různých elektrolytů (vliv iontů elektrolytu, pH, iontové síly, aditiv), vliv teploty a interakce těchto nanoobjektů s proteiny. Porovnání výsledků s dalšími fyzikálně-chemickými metodami charakterizace nanoobjektů pak jednoznačně ukázalo, že kapilární elektroforézu lze efektivně využít pro charakterizaci nanoobjektů, a navíc že poskytuje další neocenitelné informace o těchto nanoobjektech.

Tato práce vznikla za podpory projektů MŠMT (projekt OP VaVpI – ERDF CZ.1.05/2.1.00/03.0058 a projekt OP VK – ESF CZ.1.07/2.3.00/20.0018) a projektu UP PíF_2012_020.

LITERATURA

1. Petr J., Maier V.: Trends Anal. Chem. 31, 9 (2012).
2. Radko S. P., Chrambach A.: Electrophoresis 23, 1957 (2002).
3. Bourlinos A. B., Zbořil R., Petr J., Bakandritsos A., Krysmann M., Giannelis E. P.: Chem. Mater. 24, 6 (2012).
4. Petr J., Teste B., Descroix S., Siaugue J.-M., Gareil P., Varenne A.: Electrophoresis 31, 2754 (2010).

1L-12

KOMBINACE HPLC A NMR DETEKCE

JAN SÝKORA

Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i., Rozvojová 135, 165 02 Praha 6
sykora@icpf.cas.cz

Již je tomu deset, kdy byla v České republice uvedena do provozu první a dosud jediná kombinace HPLC-NMR. Tato metoda byla vyvinuta na konci 70. let minulého století v Německu a od té doby se rozšířila do laboratoří po celém světě. Můžeme ji nalézt v R&D laboratořích farmaceutických firem, ale i státních výzkumných institucích. Nejčastěji využití zde LC-NMR nachází při analýzách přírodních látek, při kontrole výroby léčiv nebo analýzách jejich metabolitů v tělních tekutinách¹.

V centrální LC-NMR laboratoři, zřízené na Ústavu chemických procesů, převážně naplňujeme požadavky našich výzkumných skupin. Jedná se o analýzy reakčních směsí, kde tato metoda pomáhá stanovit zastoupení požadovaných produktů, výrazně tak urychluje hledání optimálních reakčních podmínek. Metoda se například osvědčila při analýzách cyklických reakcí, kdy běžně vznikají směsi různých isomerů, které se jinými metodami dají jen těžko rozlišit². NMR se plně uplatňuje jako kvantitativní metoda detekce při analýzách rostlinných extraktů³ nebo látek s nízkou UV absorpcí^{4,5}, případně látek obtížně separovatelných. LC-NMR dokáže rozlišit i několik látek (opět často isomerů) v případné koeluci.

LC-NMR je odbornou veřejností vnímána jako poslední naděje při identifikaci neznámé látky v komplikované směsi. I proto se na nás během naší desetileté praxe obrátila řada domácích výzkumných pracovišť a vysokých škol. Některé z výsledků vzniklých díky takové spolupráci budou rovněž prezentovány.

Tato práce je v současné době podporována grantem TAČR TA01010646.

LITERATURA

1. Albert K. (ed) On-line: LC-NMR and Related Techniques. J. Wiley, Chichester 2002.
2. Storch J., Sýkora J., Čermák J., Karban J., Císařová I., Růžička A.: J. Org. Chem. 74, 3090 (2009).
3. Sýkora J., Bernášek P., Zarevúcká M., Kurfürst M., Sovová H., Schraml J.: J. Chromatogr. A 1139, 152 (2007).
4. Blechta V., Sýkora J., Hetflejš J., Šabata S., Schraml J.: Magn. Reson. Chem. 44, 7 (2006).
5. Blechta V., Kurfürst M., Sýkora J., Schraml J.: J. Chromatogr. A 1145, 175 (2007).

1L-13

NOVÝ TYP MIKROEXTRAKČNÍ TECHNIKY KAPALINY KAPALINOU S VUŽITÍM PŘÍPRAVKU VE TVARU ZVONU

RADOMÍR ČABALA a MIROSLAVA BURSOVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
cabala@natur.cuni.cz

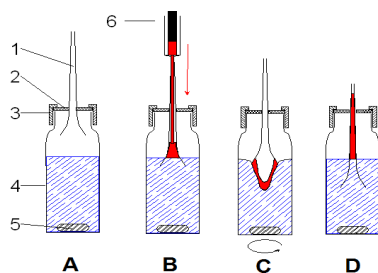
Princip nové mikroextrakční techniky nazvané „Bell-Shaped Extraction Device Assisted Liquid-Liquid MicroExtraction“ (BSED-LLME)¹ je založen na extrakci vodného vzorku (objem řádově ml) velmi malým objemem (desítky až stovky μ l) extrakčního rozpouštědla nemísitelného s vodou a o hustotě menší než má voda. Klíčovou roli zde hraje připravek zvonovitého tvaru, jehož úkolem je: (a) udržet po celou dobu extrakce rozpouštědlo ve svém vnitřku na hladině intenzivně míchaného roztoku a (b) umožnit snadné dávkování a odběr rozpouštědla před a po extrakci. Během extrakce je rozpouštědlo díky intenzivnímu míchání rozprostřeno v přípravku do velké plochy na hladině víru vzorku, což přispívá k urychlení extrakce. Specifický tvar BSED dále přispívá k reprodukovatelnému a téměř bezextraktovému odběru rozpouštědla po ukončení extrakce. Schematicky je princip a postup mikroextrakce zobrazen na obr. 1 (dávkování rozpouštědla mikrostříkačkou – B, extrakce – C, odběr rozpouštědla k analýze – D).

Metoda BSED-LLME byla testována při stanovení skupiny analytů o různé polaritě z vodných vzorků. Extrakční rozpouštědlo bylo po extrakci analyzováno metodou GC-MS.

Technika BSED-LLME byla optimalizována metodou odezvové plochy (RSM), která pomocí statistických postupů (screening, modelování a optimalizace) poskytuje nejvhodnější nastavení experimentálních podmínek celé mikroextrakce.

Postupu mikroextrakce a vlastnímu přípravku udělil Úřad průmyslového vlastnictví dne 7. 12. 2011 patent č. 302841.

Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (č. GAUK 21210) a projektu SVV 2012-265201.



Obr. 1. BSED-LLME; 1 – BSED, 2 – septum, 3 – plastové víčko, 4 – skleněná vialka vodným vzorkem, 5 – magnetické míchadlo, 6 – mikrodávkačka s rozpouštědlem

LITERATURA

1. Čabala R., Bursová M.: J.Chromatogr., A 1230, 24 (2012).

1L-14

USE OF MACROCYCLIC CHIRAL SELECTORS FOR HPLC ENANTIOSEPARATION OF POTENTIAL DRUGS

KATARÍNA HROBOŇOVÁ* and JOZEF LEHOTAY

*Institute of Analytical Chemistry, Faculty Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic
katarina.hrobonova@stuba.sk*

HPLC has been the dominant method for the analysis of chiral molecules. Enantiomeric selectivity usually is achieved through the appropriate choices of a chiral stationary phases (CSP) and mobile phase conditions. Cyclofructans are a small group of macrocyclic oligosaccharides, which consist of six or more β -linked D-fructofuranose units and represent a new class of chiral selectors for HPLC.

In the present work, three type of CSP – macrocyclic antibiotic, cyclodextrin and cyclofructan and mixture of methanol/acetonitrile/acetic acid/triethylamine as mobile phase were used for the HPLC separation of enantiomers of potential β -blockers of the aryloxyaminopropanol type. The study was oriented on the testing of influence of mobile phase composition, influence of analyte solvent nature, and influence of column temperature on retention and enantioseparation of target analytes.

It was observed that there is not significant difference in the separation of the enantiomers on the vancomycin and teicoplanin CSP. Comparing the separation of enantiomers on teicoplanin-based columns the retention factors were increased in the order: native teicoplanin < teicoplanin aglycone < methylated teicoplanin aglycone. The highest values of resolution were obtained on the column containing carbohydrate moieties. On the β - and γ -cyclodextrin CSP poor separation of enantiomers of analytes were obtained. The nature of analyte solvent significantly influenced the retention and shape of elution peaks. The most considerable effect was

observed in the case of alcohols (methanol, ethanol, propanol) as analyte solvent. Also the separation of different forms of studied racemic compounds on CSPs was achieved. The effect was observed on cyclofructan and macrocyclic antibiotic CSP. This probably indicated the formation of solvation complexes between the solvent molecule and analyte which follows to change of retention properties of formatted complexes. The thermodynamic study for derivatives of aryloxyaminopropanol indicated that the resolution values of complexes not significantly decreased in the temperature interval from 0 °C to 50 °C.

Work was financially supported by Grant Agency of Slovak Republic (grant VEGA no. 1/0164/11).

1L-15

OPTIMALIZACE V ANALYTICKÉ CHEMII

MIROSLAVA BURSOVÁ a RADOMÍR ČABALA

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
bursova.mirka@seznam.cz*

Cílem práce je ukázka nových možností optimalizace experimentálních podmínek za použití multifaktorových statistických postupů.

Termín optimalizace se v analytické chemii používá ve smyslu nalezení podmínek měření, ve kterých bude použita metoda podávat co nejlepší možné výsledky. Nejčastěji užívaným způsobem je tzv. OFAT (one-factor-at-a-time, v průběhu optimalizace je měněn pouze jeden faktor např. teplota a ostatní zůstávají konstantní)¹. OFAT metoda neukazuje vzájemné vztahy mezi jednotlivými faktory a není schopna odhadnout, které z nich mají na výsledek největší vliv. Proto se OFAT ukázala pro větší počet faktorů jako neefektivní a drahý způsob optimalizace, jelikož dochází k nadměrné spotřebě materiálu a času.

Na základě těchto nedostatků se v posledních letech začaly používat statistické postupy souhrnné nazývané DOE (design of experiment) či RSM (response surface methodology)¹. Tyto metody jsou založeny na plánu experimentu složeného z kombinací hodnot zkoumaných faktorů. Výsledkem je nalezení významných faktorů, jejich možné vzájemné interakce a zjištění optimálního nastavení. Tohoto cíle je dosaženo s co nejmenším počtem nutných pokusů. Na začátku celého postupu RSM je třeba stanovit cíl měření – zvolit vhodné faktory (např. čas, objem, tlak, pH) a zkoumanou odpověď (např. plocha píku). Faktory a jejich hodnoty jsou voleny na základě zkušeností pracovníka či informací z literatury. Multifaktorové statistické postupy lze rozdělit na tři základní kroky²:

1. Screening. Screening je založen na výběru faktorů a zjištění jejich vlivu na zkoumanou odpověď.
2. Modelování. Zjištěné významné faktory jsou použity k vytvoření matematického modelu, který popisuje závislost zkoumané odpovědi na experimentálních faktorech.
3. Optimalizace. Získaný matematický model je použit k nalezení faktorů, ve kterých lze dosáhnout optimálních podmínek měření.

Použití DOE či RSM v optimalizaci se v posledních letech stává téměř nezbytným požadavkem. Oproti OFAT je možné zjistit velké množství informací z malého, ale účelného počtu měření.

Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (č. GAUK 21210) a SVV 2012-265201.

LITERATURA

1. Bezerra M. A., Santelli R. E., Oliveira E. P., Villar L. S., Escalera L. A.: *Talanta* 76, 965 (2008).
2. Costa N. R., Pereira Z. L.: *J. Chemom.* 24, 333 (2010).

1L-16

ELEKTROANALÝZA MEMBRÁNOVÝCH PROTEINŮ A STUDIUM JEJICH INTERAKCÍ S ORGANICKÝMI LIGANDY

JAN VACEK^{a,*}, MARTINA ZATLOUKALOVÁ^a, MARTIN KUBALA^b

^a Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, ^b Katedra biofyziky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, tř. 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc
jan.vacek@upol.cz

Proteiny asociované s membránami mají roli v buněčné signalizaci, transportu a také představují významné strukturální komponenty membrán. Studium membránových proteinů a jejich interakcí s nízkomolekulárními ligandy přináší, na rozdíl od ve vodě rozpustných proteinů, celou řadu metodických komplikací spojených s jejich analýzou. Díky omezené rozpustnosti membránových proteinů ve vodném médiu je nutné k jejich izolaci a solubilizaci využívat tenzidy (detergenty).

Současné znalosti struktury a funkcí ve vodě rozpustných proteinů významně převyšují naše poznatky v biochemii a strukturní biologii membránových proteinů. Kupříkladu doposud nebyly dostatečně popsány redoxní vlastnosti a adsorpce membránových bílkovin. K analýze těchto parametrů lze využít elektrochemické metody.

V příspěvku jsou shrnuty a diskutovány výsledky elektrochemických analýz membránových proteinů se zřetelem na možnosti studia jejich interakcí s nízkomolekulárními ligandy. Jako model pro studium membránových proteinů byla použita Na^+/K^+ ATPasa. K solubilizaci Na^+/K^+ ATPasy byl použit neionický detergent C_{12}E_8 v jehož přítomnosti je možné sledovat redukční (především elektrokatalytické) procesy, oxidaci Tyr a Trp lokalizovaných v transmembránovém segmentu Na^+/K^+ ATPasy, strukturní změny a v omezené míře adsorpci Na^+/K^+ ATPasy na povrchy a interakce Na^+/K^+ ATPasy s nízkomolekulárními ligandy, např. vazba inhibitoru ouabainu.

Výsledky elektrochemických analýz Na^+/K^+ ATPasy byly srovnávány s analýzami izolované C45 cytoplazmatické části proteinu, která je rozpustná ve vodném prostředí¹. Uvedené výsledky představují progresivní a doposud omezeně prozkoumaný přístup v analýze membránových proteinů.

Předpokládáme, že navržené metodické postupy bude možné využít k analýze dalších membránových proteinů a studovat tak jejich interakci s detergenty a dalšími organickými ligandy (především léčiv) popřípadě takto i studovat interakce protein-protein.

Tato práce vznikla za podpory grantů MZ ČR (NT11071) a finanční podpory LF UP (LF_2012_010).

LITERATURA

1. Huličiak M., Vacek J., Šebela M., Orolinova E., Znaleziona J., Havlikova M., Kubala M.: *Biochem. Pharmacol.* 83, 1507 (2012).

1L-17

DETEKCE VYBRANÝCH SKUPIN ANTIBIOTIK VE VODÁCH NA ÚZEMÍ ČESKÉ REPUBLIKY ZA POUŽITÍ METODY SPE A UHPLC-ToFMS

TEREZA TYLOVÁ^{a,b,*}, MIROSLAV FLIEGER^a a JANA OLŠOVSKÁ^c

^a Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, ^b Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Albertov 8, 128 40 Praha 2, ^c Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Lípová 15, 120 44 Praha 2
tylova.tereza@seznam.cz

Vysoká spotřeba antibiotik je spojena s rozvojem bakteriální rezistence^{1–4}, přičemž situace v ČR patří v případě některých mikroorganismů k nejzávažnějším v Evropě⁵. Ačkoliv je dnes v ČR věnována rezistenci a předcházení jejího vzniku velká pozornost, stále je, na rozdíl od okolních států, nedostatek informací o výskytu antibiotik v životním prostředí. Proto byla vyvinuta analytická metoda vhodná ke stanovení nejčastěji předepisovaných antibiotik v ČR ve vodách, která poskytuje pilotní informaci o stavu znečištění vod reziduálními antibiotiky. Metoda sestává z extrakce tuhou fází (SPE) a metody ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí za využití analyzátoru doby letu (UHPLC-ToFMS). Jako analyty byla vybrána antibiotika používaná jak v humánní, tak ve veterinární medicíně. Analyzováno bylo 19 látek patřících do 5-ti antibiotických skupin (tetracykliny, makrolidy, sulfonamidy, flurochinolony a linkosamidy). Správnost metody při kvantifikaci byla zajištěna použitím vnitřních standardů a metodou tzv. „matrix-matched“ kalibrace. Dosažené výtěžnosti extrakce byly pro většinu analytů vyšší než 80 % a limity kvantifikace metody se pohybovaly v rozmezí 3,8–19,0 ng l⁻¹. Vyvinutá metoda byla následně použita pro stanovení antibiotik ve vodách v ČR, a to v přítocích a odtocích čistíren odpadních vod z 6-ti různých lokalit. Přítomnost antibiotik byla zjištěna ve všech analyzovaných vzorcích. Výsledky potvrdily závažnost aktuálního stavu znečištění vod v ČR reziduálními antibiotiky a nutnost se touto problematikou dále zabývat.

Tato práce vznikla za podpory grantů MSM0021620857, IM06011 a SVV 2012-256201 MŠMT ČR a RVO: 61388971.

LITERATURA

1. Dinh Q. T., Alliot F., Moreau-Guigon E., Eurin J., Chevreuil M., Labadie P.: *Talanta* 85, 1238 (2001).
2. Halling-Sorensen B.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 451 (2001).
3. Schlusener M. P., Bester K.: *Environ. Pollut.* 143, 565 (2006).
4. Thorsten C., Schneider R. J., Färber H. A., Skutlarek D., Meyer M. T., Goldbach H. E.: *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 31, 36 (2003).
5. <http://www.sukl.cz/hodnoceni-vyvoje-distribuce-vybrane-skupiny-lecivych-3> (2012).

1L-18

STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI CYKLOFRUKTANU PRO HYDROFILNÍ INTERAKČNÍ CHROMATOGRAPHII

KVĚTA KALÍKOVÁ^a, PETR KOZLÍK^b, VERONIKA ŠÍMOVÁ^a a EVA TESAŘOVÁ^a

^a Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, ^b Katedra analytické chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
kveta.kalikova@centrum.cz

Stacionární fáze na bázi cyklofruktanu (CF 6) (nativní a sulfatovaný cyklofruktan) byly nedávno představeny jako vhodné sorbenty pro hydrofilní interakční kapalinovou chromatografii (HILIC) pro separaci aminokyselin, nukleosidů, vitaminů rozpustných ve vodě apod.^{1,2} Mechanismus separace v tomto typu chromatografie není přesně znám. Předpokládá se rozdělování analytu mezi vrstvu vodné fáze, která je částečně imobilizovaná na povrch stacionární fáze, a mobilní fázi, a dále, adsorpce na povrch stacionární fáze^{3,4}. Při adsorpci analytu na stacionární fázi se uplatňují různé typy interakcí v závislosti na typu sorbentu – interakce dipól-dipól, vodíková vazba, elektrostatické interakce atd.

Tři stacionární fáze, tj. silikagelová, nativní CF 6 (Fruic-N) a isopropylvá CF 6 (Larih CF6-P), byly použity pro separaci směsí penta- a nonapeptidů za podmínek HILIC. Mobilní fáze byly složeny z acetonitrilu a acetátového pufru o různé koncentraci a pH.

Pro charakterizaci separačních systémů a objasnění interakčních mechanismů byly použity různé testy. Waltersův test byl použit pro zjištění a porovnání silanolové aktivity a „hydrofobicity“ testovaných stacionárních fází. Následně byly tyto stacionární fáze porovnány z hlediska separačních a interakčních možností v HILIC. Model lineárních vztahů volných energií (LFER) byl použit pro kvalitativní i kvantitativní popis a porovnání interakcí, které významně přispívají k retenci a separaci analytů v testovaných chromatografických systémech.

Tato práce vznikla za podpory grantů KONTAKT AM 2010 LH11018, GAUK 356411 a MŠMT ČR 0021620857.

LITERATURA

1. Haixiao Q., Loukotková L., Sun P., Tesařová E., Bosáková Z., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 1218, 270

(2011).

2. Padivitage N. L. T., Armstrong D. W.: *J. Sep. Sci.* 34, 1636 (2011).
3. Chirita R. I., West C., Zubrzycki S., Finaru A. L., Elfakir C.: *J. Chromatogr., A* 1218, 5939 (2011).
4. Alpert A. J.: *J. Chromatogr.* 499, 177 (1990).

1L-19

VLIV KOMPLEXACE NA VLASTNOSTI ZÁKLADNÍHO ELEKTROLYTU V KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZE

MARTINA RIESOVÁ, JANA SVOBODOVÁ, PAVEL DUBSKÝ a BOHUSLAV GAŠ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, Hlavova 8, 128 43 Praha
martina.riesova@natur.cuni.

Kapilární elektroforéza nabízí mnoho užitečných modifikací využívajících přítomnosti komplexotvorných látek (ligandů) v základním elektrolytu (BGE). Ty tvoří pseudostacionární fázi nabízející analytům interakce, které mohou vést k enantioseparaci, zvýšení separační účinnosti či změně migračního pořadí analytů. Sledováním pohyblivosti analytu v závislosti na koncentraci ligandu v BGE lze také charakterizovat sílu interakce a určit konstantu stability vznikajícího komplexu analyt-ligand.

Pokud je ligand neutrální látkou, vlastnosti BGE (pH, iontová síla, vodivost) byly až dosud považovány za nezměnné a rozdíly v selektivitě, migračním pořadí, či stanovené hodnoty konstant stability jsou pak diskutovány jen na základě síly a povahy interakcí mezi analyty a ligandem. V naší práci ukazujeme, že tyto závěry můžeme považovat za pravdivé a nezkrácené pouze v případě, pokud s přidaným ligandem neinteraguje také složka pufru tvořícího BGE. V opačném případě vede dokonce i přídavek neutrálního ligandu ke změně pH, iontové síly i vodivosti BGE v důsledku vzniku komplexu mezi pufrující složkou BGE a ligandem. Velikost těchto změn lze jen těžko odhadnout – závisí především na síle interakce složka pufru – ligand. Jevem spolehlivě indikujícím komplexaci složky pufru s ligandem je vznik nového systémového píku¹.

Jedny z nejpobulárnějších ligandů jsou cykloextriny (CD). Jako modelový BGE byl vybrán pufr LiOH + kys. benzoová, u které je komplexace s CD prokázána. Na tomto pufru bylo demonstrováno, jak výrazné mohou být změny ve vlastnostech BGE při přidání různého množství neutrálního HP- β -CD. Byly stanoveny komplexační konstanty kys. benzoové s HP- β -CD a pomocí nové verze programu SIMUL², který zahrnuje popis komplexačních rovnováh, byly nasimulovány vlastnosti BGE a systémové píky po přidání ligandu. Dále byly testovány vlastnosti několika běžně používaných pufrů s přídavkem neutrálních CD (α -CD, β -CD, DM- β -CD a HP- β -CD). Ze sledování změn pH a změn počtu a mobility systémových píků bylo možné usoudit na interakce některých pufrů s neutrálními CD.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu MSM0021620857 (MŠMT ČR) a projektů Grantové agentu-

ry České republiky, granty číslo 203/08/1428 a 206/12/P630.

LITERATURA

1. Chen Y. R., Ju D. D., Her G. R.: *J. High Resol. Chromatogr.* 23, 409 (2000).
2. Hruška V., Beneš M., Svobodová J., Zusková I., Gaš B.: *Electrophoresis* 33, v tisku (2012).

1L-20

BORON-DOPED DIAMOND ELECTRODE AS A SENSITIVE VOLTAMMETRIC SENSOR FOR DRUGS DETERMINATION

LUBOMÍR ŠVORC^{a*}, JOZEF SOCHR^a, PETER TOMČÍK^b, MIROSLAV RIEVAJ^a, and DUŠAN BUSTIN^a

^a Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b Department of Chemistry, Faculty of Education, Catholic University in Ružomberok, Hrabovská cesta 1, 034 01 Ružomberok, Slovak Republic
lubomir.svorc@stuba.sk

A simple, sensitive and selective square-wave voltammetry method for simultaneous determination of paracetamol and penicillin V on a bare (unmodified) boron-doped diamond electrode has been developed. The good potential separation of about 0.35 V between the peak oxidation potentials of both drugs present in mixture solution was obtained. It was found by cyclic voltammetry that paracetamol offered quasireversible wave and penicillin V provided irreversible oxidation peak. The effect of supporting electrolyte, pH and scan rate on voltammetric response of both drugs was studied to select the optimum experimental conditions. The optimal conditions for quantitative simultaneous determination were obtained in acetate buffer solution at pH 5.0.

The oxidation peak of paracetamol and penicillin V showed a systematic increase in peak currents with increase of their concentration. The calibration curves for the simultaneous determination of paracetamol and penicillin V exhibited the good linear responses within the concentration range from 0.4 to 100 μ M for both drugs. The detection limit was established to 0.21 and 0.32 μ M for paracetamol and penicillin V, respectively. The method proved the good sensitivity, repeatability (RSD of 1.5 and 2.1%) and selectivity when influence of interferents commonly existing in human urine was negligible. The practical analytical utility of proposed method was demonstrated by simultaneous determination of paracetamol and penicillin V in human urine samples, with results similar to those obtained using a high-performance liquid chromatography method as independent method. The proposed method is simple, rapid and low-cost in comparison with other analytical methods usually used for drugs determination. BDD electrode can be strongly recommended as drug sensor in doping test in competitive games due to rapidity and accuracy¹.

This work was supported by the Grant Agency of the Slovak Republic (grant No. 1/0182/11 and 1/0008/12) and Program for support young researchers (No. 6406).

REFERENCE

1. Goyal R. N., Bishnoi S., Agrawal B.: *J. Electroanal. Chem.* 655, 97 (2011).

1L-21

SELECTIVITY OF IMPRINTED POLYMERS – AN INTERACTION STUDY

JOZEF LEHOTAY^{*}, MIROSLAVA LACHOVÁ, and NATALIA DENDERZ

*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
Jozef.lehotay@stuba.sk*

During the past decade molecularly imprinted polymers (MIPs) have emerged as attractive and highly accepted synthetic molecular recognition agents. Molecular imprinting (MI) is a technique used for the preparation of polymers with synthetic recognition sites having a predetermined selectivity for a specified analyte. The imprint is obtained by the polymerization of functional and crosslinking monomers in the presence of a template (target) molecule. The resultant imprints possess a steric (size and shape) and chemical (spatial arrangement of complementary functional groups) memory for the template molecule.

The MIPs can be produced in a covalent or non-covalent manner. In the case of covalent approach of molecular imprinting covalent bonds between the template and polymerizable monomers are formed. In order to remove the template from the polymer to liberate the binding sites, these covalent bonds have to be chemically cleaved. Non-covalent approaches are based on the formation of a prepolymerization complex between monomers and the template through noncovalent bonds such as ionic interactions or hydrogen bonding. This enables the removal of the template simply by solvent extraction. Because MIPs have outstanding advantages such as predetermined selectivity, simple and convenient preparation, robustness in organic solvents and acidic or basic reagents, and durability to high temperature, molecular imprinting has drawn extensive attention.

Analysts can use two approaches to obtain the required selectivity: non-selective and selective adsorption of MIPs for SPE. If the analyte can be trapped on the MIP by ionic or hydrophobic interactions, users can load an aqueous sample directly and retain it by using non-selective interactions. If the trapping is performed in water, the non-selectively bound components will be removed by washing with organic solvent, and the analyte of interest retained on the MIP will switch from non-selective to selective binding.

The interaction study can be studied in two ways: analytical study used usually the change of composition of mobile phase (percentage of organic solvent, pH, ionic strength), on the other hand thermodynamic study is based on the

changes of temperature of separation column and the dependence of reciprocal value of temperature on retention factor is evaluated. Some examples of the advantages, applications and developments in molecular imprinting will be given. The attention will be drawn to the study of selectivities of imprinted polymers prepared from methacrylic acid. Different molecules of analytes like some catechins, phenolic acids and derivatives of some carbamic acids as the templates were used. The selectivity of imprinted polymers were evaluated according their capacity to the template and other compounds with similar structure. Also the changes of enthalpy and entropy were calculated from the dependence of reciprocal value of temperature on retention factor.