

**3L-01****POKROKY V ENVIRONMENTÁLNÍ  
ELEKTROANALÝZE ORGANICKÝCH POLUTANTŮ****JIŘÍ BAREK, ALEŠ DAŇHEL, IVAN JIRÁNEK,  
OXANA YOSYPCHUK, JAN FISCHER, VLASTIMIL  
VYSKOČIL a KAROLINA PECKOVÁ***Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha  
Barek@natur.cuni.cz*

Cílem příspěvku bude seznámit posluchače s možnostmi a omezeními moderních voltametrických a amperometrických metod při stanovení stopových množství biologicky aktivních organických látek (chemických karcinogenů, pesticidů, barviv, protinádorových léčiv, rozpojovačů hormonů atp.) v různých environmentálních matricích.

Kromě rtuťových elektrod, které dodnes zůstávají ideálními senzory pro monitorování elektrochemicky redukovatelných organických látek<sup>1</sup>, bude věnována pozornost i využití tuhých či pastových amalgámových elektrod<sup>2</sup> vhodných rovněž pro stanovení látek elektrochemicky redukovatelných, borem dopovaných diamantových filmových elektrod<sup>3</sup> použitelných jak pro katodické, tak pro anodické děje, uhlíkových pastových elektrod na bázi mikrokuliček ze skleného uhlíku<sup>4</sup> rovněž vhodných pro stanovení látek oxidovatelných i redukovatelných, elektrod kompozitních<sup>5</sup> a různých typů sítotiskových elektrod na jedno použití.

Diskutováno bude využití výše uvedených typů elektrod ve vsádkové i v průtokové analýze, kombinace elektroanalytických metod s předběžnou separací a prekoncentrací a otázky miniaturizace příslušných zařízení a automatizace používaných postupů. Zmíněno bude i použití výše uvedených netradičních elektrodových materiálů ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii či v průtokové injekční analýze s elektrochemickou detekcí v tenkovrstvých elektrochemických detektorech či v detektorech typu wall-jet, tabulárních detektorech či detektorech mikrocylindrických.

*Tato práce byla finančně podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt LC 06035, MSM 0021620857 a RP 14/63) a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt SVV 261204).*

**LITERATURA**

1. Vyskočil V., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 173 (2009).
2. Yosypchuk B., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 189 (2009).
3. Pecková K., Musilová J., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 148 (2009).
4. Zima J., Švancara I., Barek J., Vytřas K.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 204 (2009).
5. Navrátil T., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 131 (2009).

**3L-02****VOLTAMETRIC AND AMPEROMETRIC  
DETERMINATION OF SELECTED  
AMINONITROPHENOLS****HANA DEJMKOVÁ, JIŘÍ ZIMA, and JIŘÍ BAREK***Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Charles University in Prague, Albertov 6, 128 43 Prague 2  
hdejmkova@natur.cuni.cz*

Aminonitrophenols are aromatic hydrocarbon derivatives, used in the industry of dyes. Their occurrence is monitored due to their carcinogenic and mutagenic properties<sup>1</sup>. They are also formed by metabolization of related compounds. The presence of both oxidizable and reducible functional groups makes them amenable for voltammetric and amperometric detection.

Several methods for the determination of five aminonitrophenol isomers were developed, including those based on cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and HPLC with amperometric detection. This selection covers techniques suitable both for rapid and straightforward measurements in simple matrices and for more demanding analyses in complex samples. Carbon paste electrode (CPE)<sup>2</sup> and boron-doped diamond electrode (BDDE)<sup>3</sup> were used as working electrodes in the methods. The conditions of the measurement, particularly mobile phase and electrolyte composition, detection potentials and electrode treatment, were optimized. The advantages and disadvantages of the methods are discussed from the point of view of sensitivity, selectivity and repeatability. BDDE shows favourable results regarding reached limits of detection, while CPE is preferable for its adaptability. Practical applicability of the methods was tested on model samples of hair dyes and urine.

*This work was financially supported by the Czech Ministry of Education, Youth and Sports (projects No. MSM 0021620857, RP14/63 and LC06035) and GA UK (project No. SVV 261204).*

**REFERENCES**

1. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 57, p. 167. Lyon, 1993.
2. Zima J., Švancara I., Barek J., Vytřas K.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 204 (2009).
3. Pecková K., Musilová J., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 148 (2009).

### 3L-03 VYUŽITÍ KATALYTICKÉHO VYLUČOVÁNÍ VODÍKU NA RTUŤOVÝCH A AMALGÁMOVÝCH ELEKTRODÁCH PŘI ANALÝZE BIOPOLYMERŮ

MIROSLAV FOJTA

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

Rtuťové a některé amalgamové elektrody jsou vynikajícími nástroji studia elektrochemické redukce řady látek díky vysokému vodíkovému přepětí (potenciálu potřebného k elektroredukci protonů na elementární vodík), umožňujícímu sledovat elektroodové procesy v oblasti velmi negativních potenciálů. Některé látky mohou snižovat vodíkové přepětí modifikací povrchu elektrody nebo působit jako katalyzátory redukce protonů. Katalytické proudy související s těmito procesy mohou být v řadě případů využívány analyticky. Díky vysokým elektronovým výtěžkům lze měřením katalytických proudových signálů dosáhnout vysokých citlivostí stanovení příslušných analytů (jedna molekula stanovené látky nebo produktu její elektrochemické přeměny může katalyzovat redukci velkého množství protonů, které jsou za vhodných podmínek v základním elektrolytu přítomny v nadbytku).

Využití katalytického vylučování vodíku na rtuťových a amalgamových elektrodách se ukázalo jako výhodné při analýze biopolymerů, a to jak nemodifikovaných (kdy působí jako katalyzátor redukce protonů funkční skupina samotného biopolymeru, což je případ většiny peptidů a bílkovin poskytujících tzv. pik  $H^1$ , příp. peptidů a proteinů obsahujících cystein, které v přítomnosti iontů kobaltu poskytují tzv. Brdického reakci<sup>2</sup>), tak chemicky modifikovaných. Ve druhém případě je elektrokatalyticky aktivní skupina uměle vnesena do molekuly biopolymeru. Typickými případy těchto modifikací jsou komplexy přechodných kovů kovalentně navázané na nukleové kyseliny. Tyto komplexy mohou sloužit jako elektroaktivní značky (komplexy oxidu osmičelého tvořící kovalentní adukty s pyrimidinovými zbytky v nukleových kyselinách<sup>3</sup>), nebo jako léčiva, jejichž farmakologická aktivita je spojena s chemickou modifikací DNA (cisplatina a analogické komplexy platiny<sup>4</sup>). S využitím katalytických procesů doprovázejících elektrochemickou redukci kovů v těchto komplexech (aduktech s DNA) je možno stanovit velmi malá množství modifikovaných (značených) nukleových kyselin nebo sledovat nízké stupně modifikace DNA.

*Tato práce vznikla za podpory grantů GA AVČR IAA-400040901 a MŠMT ČR LC06035.*

#### LITERATURA

1. Paleček E., Ostatná V.: *Electroanalysis* 19, 2383 (2007).
2. Fojta M., Fojtova M., Havran L., Pivonková H., Dorcak V., Sestakova I.: *Anal. Chim. Acta* 558, 171 (2006).
3. Paleček E., Trefulka M., Fojta M.: *Electrochem. Commun.* 11, 359 (2009).
4. Horakova P., Tesnohlikova L., Havran L., Vidlakova P., Pivonková H., Fojta M.: *Anal. Chem. doi 10.1021/ac902987x*, (2010).

### 3L-04 LIPIDOMICKÁ ANALÝZA S VYUŽITÍM HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

MICHAL HOLČAPEK, MIROSLAV LÍSA,  
EVA ČÁNOVÁ a KATEŘINA NETUŠILOVÁ

Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická,  
Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice  
michal.holcapek@upce.cz

Lipidomická analýza se zabývá komplexní charakterizací maximálního počtu tříd lipidů ve vzorcích tělních tekutin (např. plazma, sérum), živočišných a rostlinných tkání s cílem identifikovat rozdíly mezi základním stavem (zdravý organismus) a změněným stavem (různé typy nemocí, vliv léčby, suplementace, genetické modifikace, apod.) s potenciálním využitím pro terapeutické a diagnostické účely. Základní technikou v lipidomické analýze je hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem obvykle ve spojení (ultra)s vysokou účinnou kapalinovou chromatografií, (U)HPLC, nebo jinými separačními technikami v kapalně fázi. Různé separační módy (systémy s reverzními nebo normálními fází, argentační chromatografie, chromatografie hydrofilních interakcí, apod.) v jedno- nebo dvoudimenzionálním uspořádání lze využít pro separaci různých tříd polárních nebo nepolárních lipidů. Vzhledem k velkému objemu získaných výsledků je pro jejich vyhodnocení výhodné použít statistické zpracování, jako např. analýzu hlavních komponent (PCA). Možnosti jednotlivých technik budou ukázány na praktických příkladech.

*Tato práce byla podporována grantovým projektem MSM0021627502 (MŠMT) a projekty č. 203/09/0139 a 203/09/P249 (GAČR).*

### 3L-05 PRESERVING DYES IN ART MATERIALS. IS ANOXIA THE SOLUTION?

MONIKA KOPERSKA\* and JOANNA ŁOJEWSKA

Jagiellonian University, ul. Ingardena 3, Kraków  
mkoperska@gmail.com

Anoxia by definition is an atmosphere without oxygen. From the middle of 19th century scientists research the idea of placing objects of cultural heritage into anoxia cabinets in order to stop their deterioration and preserve museum objects for future generations. However it is the last years that are characterized by the increased attention to the subject.

To investigate the effect of anoxia on natural colorants five natural and historically important dyes: indigo, saffron, dragon's blood, carminic acid and madder dyes were submitted to accelerated ageing by exposure to intensive light in the visible range in both oxygen free and normal conditions. Decomposition of the samples was investigated by several analytical techniques (ATR/FT-IR, Raman, Reflectance UV-Vis, XRF).

Based on the comparison of the spectra obtained with ATR-FTIR, FT-Raman and UV/VIS of the dyes aged in the

differentiating conditions the estimators of the degradation progress have been proposed. These allowed classifying the dyes according to their degradation susceptibility under anoxia and oxidative conditions. According to the classification made, the dyes of high symmetry are less prone to degradation and are resistant to anoxia atmosphere. The degradation effects for anthraquinone based dyes are higher in oxygen free conditions and with extreme ageing decomposed to phthalic anhydride and dimethyl phthalate.

These results do not contradict the conviction that objects benefit from being placed in oxygen free cassettes but highlight the fact that surrounding of the dye molecule (binding media, textile or paper fibers or other dye molecules) has a profound effect on the color stability of an object.

Research contributes to the ANOXIA project run together with the National Museum in Cracow, Poland.

#### REFERENCES

1. Marengo E., Liparota M. C., Robotti E., Bobba M.: *Vib. Spectrosc.* 225, 40 (2008).
2. Cheusson A., Obendorf S.: *Text. Res. J.* 949, 74 (2004).
3. Hoon Bong P.: *Bull. Korean Chem.* 81, 21 (2000).
4. Seixas de Melo J. S., Melo M. J.: *Photochem. Photobiol. Sci.* 2008, 1353.
5. Marengo E., Liparota M. C., Robotti E., Bobba M., Genaro M. C.: *Talanta* 1158, 66 (2005).
6. Mills John S.: *White Raymond - The Organic Chemistry of Museum Objects*. Butterworth Heinemann, 2003.

#### 3L-06

##### MODERN HPLC TECHNOLOGIES FOR BIOMEDICAL ANALYSIS

**LENKA KRČMOVÁ<sup>a,b,\*</sup>, DAGMAR SOLICHOVÁ<sup>b</sup>, LUBOR URBÁNEK<sup>a,b</sup>, MARKÉTA KAŠPAROVÁ<sup>a,b</sup>, LUBOŠ SOBOTKA<sup>b</sup>, and PETR SOLICH<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové*, <sup>b</sup> *Department of Metabolic Care and Gerontology, Teaching Hospital, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové*  
lenkakrcmova@seznam.cz

In recent time there are high requirements on biomedical analyses (time of analyses, amount of samples, quantity of samples, automatization, limits of detection etc.).

The new HPLC methods for determination of urine neopterin and serum liposoluble vitamins using modern technologies (HPLC autosampler with microtitration plates – Rack Changer, monolithic technologies, micro solid phase extraction, fluorescence detector etc.) with accent on short time of analyses, utilization of small amount of sample, with possibility of automatization, high sensitivity and ruggedness were developed in our Research laboratory and are presented.

In order to monitor cancer patients, concentrations of different biologically active compounds are monitored in blood and urine samples by the means of HPLC. Neopterin, a marker of immune system activation, represents another compound useful in cancer patients monitoring. On-line analysis of neopterin requires a sensitive and efficient analyti-

cal system for its determination in urine. Modern HPLC technologies, such as new types of stationary phases or modern instrumentation introduce alternative approaches for the chromatographic analysis of this compound.

Retinol and  $\alpha$ -tocopherol are endogenous antioxidants involved in the pathogenesis of different disorders, including cancer. The evaluation of blood levels of these micronutrients contributes to the clarification of their potential role in cancer prevention. Furthermore, after administration of high doses of vitamin A, serum concentrations of retinol and retinyl esters allow the assessment of intestinal mucosal damage that represents a frequent side effect of anticancer therapy. The novel method for the determination of retinol, retinyl esters and  $\alpha$ -tocopherol in human serum by the means of high performance liquid chromatography using monolithic C18 column was developed.

The application of monolithic columns into the clinical practice can reduce the amount of time and resources usually dispensed during the analysis of significant number samples using the common silica HPLC columns.

The results of clinical studies using introduced methods will be included to the presentation.

*This work was supported by Research Project MZO-00179906, MSM 0021620820 and MSM 002160822.*

#### 3L-07

##### MODERNÉ METÓDY NMR V ANALYTICKEJ CHÉMII

#### TIBOR LIPTAJ

*Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Radlinského 9, 812 07 Bratislava*  
tiber.liptaj@stuba.sk

NMR prešla v posledných desaťročiach búrlivým rozvojom. Tento rozvoj bol inicializovaný technickým pokrokom v oblasti výpočtovej techniky, konštrukcie supravodivých magnetov a digitálnej rádiotechniky. Využili sa špecifické vlastnosti NMR, ktoré umožňujú vykonávať komplikované NMR spektroskopické experimenty, pri ktorých sa vhodným spôsobom manipuluje so vzorkou, tak aby sa získali žiadané spektrálne informácie. Dôsledkom veľkého rozvoja NMR bolo významné rozšírenie jej aplikácií. NMR sa v súčasnosti využíva prakticky v celej oblasti prírodných vied – od geológie, fyziky, chémie, biológiu až po medicínu. NMR sa stala jedným z najuniverzálnejších a najefektívnejších prostriedkom výskumu v oblasti prírodných vied.

Cieľom prednášky je oboznámiť poslucháčov so súčasným stavom rozvoja NMR ako ja naznačiť najnovšie aplikácie a trendy jej rozvoja v oblasti analytickej chémie.

Vyššia citlivosť a lepšie rozlíšenie základných <sup>1</sup>H NMR spektier dosiahnuté vďaka pokroku v kvalite NMR sond a zvyšovaniu pracovnej frekvencie NMR spektrometrov, umožňujú ich výhodné využitie pri analýze zmesných vzoriek bez nutnosti ich separácie: analýza telových tekutín, štúdium metabolizmu, analýza potravín, .. NMR sa v kombinácii s chemometrickou analýzou sa stala jednou zo základných metód metaboloniky. Zlepšovanie citlivosti NMR a miniatu-

rizácia NMR sond umožňujú kombináciu NMR so separačnými metódami, hlavne kvapalinovou chromatografiou. Rozlíšenie zložiek zmesi aj bez separačných metód umožňujú špeciálne NMR metódy na základe rozdielov v ich pohyblivosti v roztoku (Diffusion Ordered Spectroscopy, DOSY). Identifikácia látok zostáva stále dominantnou úlohou NMR v analytickej chémii. Moderné NMR metódy, založené na prenose signálu medzi interagujúcimi spinmi umožňujú veľmi efektívne tejto úlohy.

### 3L-08

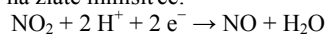
#### SOLID-STATE ELEKTROCHEMICKÝ SENSOR PRO NO<sub>2</sub> S ELEKTROLYTEM S IONTOVOU KAPALINOU

**MARTINA NÁDHERNÁ<sup>a,b,\*</sup>, FRANTIŠEK OPEKAR<sup>b</sup>  
a JAKUB REITER<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Ústav anorganické chemie AV ČR, v.v.i., 250 68 Řež,

<sup>b</sup> Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, 128 40 Praha 6  
nadherna@iic.cas.cz

Vzhľadom k intenzívnemu zájmu spoločnosti o ochranu životného prostredia sú vyvíjajú nové metódy sledovania znečistenia ovzdušia a vod. Koncentrace NO<sub>2</sub>, agresívneho a jedovatého plynu, je jedným z dôležitých sledovaných parametrov. Vyvinuli sme amperometrický senzor pro NO<sub>2</sub> s novým elektrolytom na bázi iontového kapaliny ukotvené v polymere. Zde se uplatní vlastnosti iontových kapalin, jako je téměř nulová tenze par, vysoká tepelná stabilita a především výborné elektrochemické vlastnosti. Principem detekce je měření proudu generovaného elektrochemickou redukcí NO<sub>2</sub> na zlaté minisítce:



Na základě našeho dosavadního výzkumu<sup>1</sup> jsme použili elektrolyt poly(ethylenglykol)methylether methakrylát – hexafluorofosforečnan 1-butyl-3-methylimidazolia. Elektrochemické měření ukázalo jeho dobrou iontovou vodivost ( $2,4 \cdot 10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$ ) a výbornou elektrochemickou stabilitu (přes 4,1 V na Au). Termogravimetrická analýza potvrdila předpoklad vysoké tepelné stability až do 250 °C.

Připravený elektrolyt byl úspěšně testován v miniaturizovaném senzoru s indikační elektrodou ze zlaté minisítky<sup>2</sup> (Goodfellow, UK). Experimenty byly prováděny při potenciálu, kdy byla odezva senzoru na analyt nejvyšší, tj. při –900 mV vs. Pt/air. Byla nalezena lineární koncentrační závislost signálu v rozsahu koncentrací NO<sub>2</sub> 0,3–1,1 ppm, byla zjištěna mez detekce 0,1 ppm a studován vliv rel. vlhkosti plynu na citlivost senzoru.

Pro zjištění vlivu velikosti třířázového rozhraní pracovní elektrody na signál byly sestaveny 4 senzory s různou velikostí minisítky. Zvýšení poměru  $p^2/S$  ( $p$  délka třířázového rozhraní (cm),  $S$  geometrická plocha elektrody exponovaná analytem (cm<sup>2</sup>)) z  $4,2 \cdot 10^5$  na  $5,9 \cdot 10^6$  vedlo ke zvýšení citlivosti senzoru více než o jeden řád.

Další výzkum zahrnuje studium vlivu interferentů (SO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>S) a přípravu elektrolytů s dalšími iontovými kapalinami.

*Tato práce vznikla za podpory Akademie věd ČR (AV0Z40320502), MŠMT ČR (MSM0021620857) a Grantové*

*agentury AV ČR (KJB200320901).*

#### LITERATURA

1. Nádherná M., Opekar F., Reiter J.: Chem. Listy 102, 704 (2008).
2. Langmaier J., Opekar F., Samec Z.: Sens. Actuators B 41, 1 (1997).
3. Nádherná M., Opekar F., Reiter J.: 216<sup>th</sup> ECS Meeting, Vídeň, Rakousko, 4.-9.10.2009. Abstrakt 3151.

### 3L-09

#### UHLÍKOVÁ PASTOVÁ ELEKTRODA MODIFIKOVANÁ UHLÍM

**ZUZANA NAVRÁTILOVÁ, BOLESLAV TARABA  
a ROMAN MARŠÁLEK**

Ostravská univerzita v Ostravě, Dvořákova 7, 708 00  
Ostrava 1

zuzana.navratilova@osu.cz

Modifikace uhlíkové pastové elektrody různými typy sorbentů (ionexy, jílové minerály apod.) patří již mezi klasické elektroanalytické využití těchto látek. Uhlí v přírodní i upravené formě (oxidované, aktivované) vykazuje rovněž nevýznamně sorpční, případně komplexační a iontovýmenné vlastnosti. Možnost využití uhlíkové pastové elektrody modifikované černým a hnědým uhlím ke studiu sorpce kovů byla ukázána nedávno<sup>1</sup>. V prostředí běžných vodných elektrolytů je možné s touto elektrodou měřit v poměrně širokém potenciálovém rozsahu, zbytkový proud je nižší než 100 nA, redoxní pár  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  vykázal kvazi-reverzibilní chování srovnatelné s nemodifikovanou elektrodou.

Bezprúdová (“open-circuit”) sorpce Cd, Pb a Cu s následnou diferenčně pulsní voltametrií prokázala vliv typu uhlí na jeho sorpční schopnosti. Pomocí repetitivní cyklické voltametrie lze rovněž studovat kinetiku sorpce kovů na uhlí.

Vzhľadom k možnému využití uhlí jako sorbentu pro odstraňování tenzidů z vod byl studován vliv hexadecyltrimethylamoniového (HDTM) kationtu na sorpci mědi<sup>2</sup>. Voltametrické studium sorpce na uhlí upravené sorpci HDTM potvrdilo inhibici sorpce mědi, ve srovnání s neupraveným uhlím klesla sorpce dvakrát.

Voltametrická měření na popsané elektrodě jsou vhodná ke studiu sorpčních vlastností uhlí, lze pomocí nich sledovat i vlivy ovlivňující sorpci (pH a složení sorpčního roztoku, teplota).

Studovaná elektroda je rovněž vhodná pro anodickou rozpouštěcí voltametrii Cd, Pb a Cu; poskytuje vyšší proudové odezvy ve srovnání s elektrodou nemodifikovanou. Zvýšení citlivosti modifikované elektrody lze přisoudit předběžnému nahromadění kovů stejně jako v případě jiných sorpčních modifikátorů (montmorillonit). Výsledky tak naznačují možné analytické využití elektrody modifikované uhlím.

*Tato práce vznikla za podpory GA AV ČR, projekt IAA 301870801.*

## LITERATURA

1. Navrátilová Z.: *Electroanalysis* 21, 1758 (2009).
2. Maršálek R., Navrátilová Z.: předneseno na 60<sup>th</sup> Annual meeting of the International society of electrochemistry, Beijing, 16.8.2009.

## 3L-10

## COMPARISON OF ENZYME REACTORS BASED ON THREE DIFFERENT COLUMNS

**PETR SMEJKAL<sup>a,b</sup>, SILVIJA ABELE<sup>c</sup>, OKSANA YAVORSKA<sup>d</sup>, TOMASZ PIASECKI<sup>d</sup>, FRANTISEK FORET<sup>b</sup>, and MIREK MACKA<sup>d</sup>**

<sup>a</sup> University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Studentská 573, 532 10 Pardubice, <sup>b</sup> Institute of Analytical Chemistry of the ASCR, v.v.i., Veveří 97, 602 00 Brno, <sup>c</sup> University of Latvia, 19 Raina Blvd., LV 1586 Riga, <sup>d</sup> National Centre for Sensor Research and School of Chemical Sciences, Dublin City University, Dublin 9  
smejkal@iach.cz

The aim of this work was to provide an experimental comparison of three different columns as the reactor formats for on-line enzymatic protein digestion. Pepsin A as an enzyme with a low pH working area was immobilised onto the surface of bare silica capillaries and both full and porous layer open tubular<sup>1</sup> (PLOT) monolithic columns. Reactors were online coupled with MS in positive mode and obtained mass spectra of digested myoglobin were compared to evaluate the digestion efficiency of enzymatic reactors.

Poly(glycidylmethacrylate-co-ethylmethacrylate (GMA-EDMA) PLOT monolithic columns and full monolithic columns were prepared in silica capillaries with different inner diameters: 25 µm, 50 µm, and 100 µm. Pepsin A was immobilised through epoxy groups by reductive amination directly onto the surface of the monoliths or fused silica capillary<sup>2</sup>. The reactors were then connected into a system where a solution of myoglobin as a model protein was pumped continuously through the column and the digested protein was on-line sprayed into a Mariner ESI-TOF MS.

Pepsin is known for its low digestion selectivity and therefore a library of reference MS spectra was first prepared for the peptides of digested myoglobin. With a purpose to compare MS spectra from digestion in solution with spectra obtained from on-line digests, a straightforward routine was used based on counting matching peptides of identical mass with a help of a programme written in LabView.

The results showed that digestion of Myoglobin in only 6 cm long monolithic reactors (both PLOT and full monolith) was comparable with digestion in a 30 cm long reactors prepared in plain silica capillaries. The PLOT monolithic reactors compared to full monolithic reactors have significantly lower backpressure and can be easily flushed what is an additional advantage of PLOT columns.

*Acknowledgements: MSMT 0021627502, AV0Z 40310501 of the Academy of Sciences of the Czech Republic, SFI SRC Irish Separation Science Cluster, EC Marie Curie Excellence Grants fellowship and grant-MEXT-CT-2004-014361.*

## REFERENCES

1. Abele S., Smejkal P., Yavorska O., Foret F., Macka M.: *Analyst* 135, 447 (2010).
2. Křenková J., Klepárník K., Foret F.: *J. Chromatogr., A* 1159, 110 (2007).

## 3L-11

## LC-NMR – APLIKACE

## JAN SÝKORA

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

Před osmi lety byla v České republice nainstalována první a zdá se, dosud také poslední kombinace HPLC-NMR. Tato experimentální technika se poprvé objevila na konci 70. let minulého století a v dnešní době je už rozšířena celosvětově a je nejvíce využívána při analýzách přírodních látek nebo při kontrole výroby léčiv či analýzách jejich metabolitů v tělních tekutinách<sup>1</sup>.

V centrální LC-NMR laboratoři se převážně zaměřujeme na analýzy reakčních směsí, kde tato metoda pomáhá identifikovat kýžené produkty a výrazně urychluje hledání optimálních reakčních podmínek. Zvláště se osvědčila při syntéze helicenových prekurzorů, kde při cyklizačních reakcích běžně vznikají různé izomery, které se jinými metodami prakticky nedají rozlišit<sup>2</sup>. Během osmileté praxe došlo i na analýzy rostlinných extraktů a příměsí ve farmaceutických substancích. Zde šlo například o látky obtížně separovatelné<sup>3</sup>, LC-NMR dokáže rozlišit i několik látek (opět často izomerů) v případné koeluci. Světové unikum zatím držíme v analýzách různých druhů křemíkatých oligo/polymerů<sup>4,5</sup>. Při identifikaci siloxanových polymerů předčí LC-NMR nejčastěji používané GPC a přináší nové informace nejen o skutečné distribuci molekulových vah ale i funkčních skupin. Jako klíčová se jeví i role LC-NMR při analýzách polyfenylsilanových polymerů, kde přináší dodatečnou informaci o takticitě polymeru či případně redistribuci funkčních skupin.

*Tato práce vznikla za podpory grantu GA AV ČR IAA-400720706 a GA ČR 203/09/1574.*

## 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., Heflejš 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).

**3L-12**  
**MATRIX FREE LASER DESORPTION-IONIZATION**  
**MASS SPECTROMETRY IMAGING COUPLED**  
**TO FT-ICR**

**MICHAEL VOLNÝ\***, **VERONIKA VIDOVÁ**, **PETR NOVÁK**, **MARTIN STROHALM**, **JAROSLAV PÓL**,  
**and VLADIMÍR HAVLÍČEK**

*Laboratory of Molecular Structure Characterization, Institute of Microbiology of the ASCR, v.v.i., Videnska 1083, 142 20 Prague  
volny@biomed.cas.cz*

Desorption-Ionization Mass Spectrometry (DI-MS) techniques represent a portfolio of tools that have always been important in bioanalytical chemistry, but in recent years some of them become nearly indispensable for biological and biomedical sciences. The foundation of DI-MS experiment is desorption and ionization of the analyte molecules, which are introduced on a suitable surface. The gas-phase ions are then mass-analyzed (with optional dissociation steps) and detected. Because this approach allows for a direct analysis of surfaces, without spatial disruption of the analytes prior to the analysis, molecular imaging of tissue sections is one of the biologically relevant applications of DI-MS. Spectra obtained from tissue section are usually very complex and utilization of high resolution mass analyzers is thus especially advantageous.

In this work we introduced mass spectrometry imaging of tissue lipids by laser desorption mass spectrometry from commercially available nanostructured surfaces coupled to high resolution FT-MS instrument. The nanostructured surfaces were developed for matrix free laser desorption ionization and were previously used for analysis of small molecules. The technique combines the well-known advantages of MALDI with the newly introduced advantages of DESI. The experiment is based on a lithographic transfer of lipids from tissue section to a nanostructured surface that allows ionization without introduction of ionization matrix. The lipids are transferred by a simple imprinting procedure onto a nanostructured surface for Nano-Assisted Laser Desorption/Ionization (NALDI) MS.

The NALDI spectra are generally less complex than MALDI spectra (due to the absence of alkali adducts and matrix clusters ions). Identification by exact mass measurement and tandem MS was also demonstrated.

*The work was supported by the Ministry of Education, Youth, and Sports of the Czech Republic (LC07017, MSM 6198959216) and by an Institutional research concept of the Institute of Microbiology (AV0Z50200510). MV's research was supported by a Marie Curie IR Grant within the 7th European Community Framework Program and by the Czech Science Foundation (project P206/10/P018).*

**3L-13**  
**VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ GENOTOXICKÝCH**  
**NITRO- A OXODERIVÁTŮ FLUORENU**

**VLASTIMIL VYSKOČIL\*\***, **JÁN LABUDA<sup>b</sup>**  
**a JIŘÍ BAREK<sup>a</sup>**

*<sup>a</sup> Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2, <sup>b</sup> Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava  
vyskocil@natur.cuni.cz*

Studované nitro- a oxoderiváty polycyklického aromatického uhlovodíku fluorenu (jmenovitě 2-nitrofluoren, 2,7-dinitrofluoren, 9-fluorenon, 2-nitro-9-fluorenon a 2,7-dinitro-9-fluorenon), vznikají především při spalování fosilních paliv. Vzhledem k jejich genotoxickým účinkům neustále roste potřeba mimořádně citlivých a selektivních metod stanovení těchto látek v různých matricích<sup>1</sup>. Snadná elektrochemická redukovatelnost nitro- a oxoskupiny, vázaných na aromatickém jádře, umožňuje ke stanovení úspěšně využít elektrochemických metod<sup>2</sup>. Tradiční visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) a rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda (m-AgSAE) byly užity v kombinaci s moderními voltametričnými technikami (DC voltametrie, diferenční pulsní voltametrie a adsorpční rozpouštěcí diferenční pulsní voltametrie) pro vývoj nových metod stanovení stopových množství výše uvedených xenobiotik v pitné a říční vodě<sup>3,4</sup> v koncentračním rozmezí  $10^{-8}$  až  $10^{-7}$  mol l<sup>-1</sup>. Další zvýšení selektivity a citlivosti bylo dosaženo pomocí předběžné separace a prekoncentrace pomocí extrakce na tuhou fázi<sup>5</sup>.

Elektrochemický DNA biosensor na bázi dispozibilních sítotiskových uhlíkových pastových elektrod byl následně užít pro *in vitro* detekci poškození DNA imobilizované na povrchu pracovní elektrody jednak přímou interakcí s 2-nitrofluorenem či 2,7-dinitrofluorenem, jednak interakcí DNA s intermediáty elektrochemické přeměny studovaných nitrofluorenů<sup>6</sup>.

*Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR (projekty LC 06035, MSM 0021620857 a RP 14/63) a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt SVV 261204). Ján Labuda děkuje Vedeckej grantovej agentúre Ministerstva školstva SR a Slovenskej akadémie vied (projekt 1/0852/08) za finančnú podporu.*

**LITERATURA**

1. Vyskočil V., Barek J., Jiránek I., Zima J., v knize: *Progress on Drinking Water Research*, kap. 5, s. 171. Nova Science Publishers, New York 2008.
2. Vyskočil V., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 173 (2009).
3. Vyskočil V., Barek J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 74, 1675 (2009).
4. Vyskočil V., Navrátil T., Polášková P., Barek J.: *Electroanalysis* 22 (2010), v tisku.
5. Vyskočil V., Labuda J., Barek J.: *Anal. Bioanal. Chem.* 396 (2010), publikováno online.

**3L-14****UHLÍKOVÉ PASTY V ANALÝZE BIOLOGICKY  
AKTIVNÍCH ORGANICKÝCH SLOUČENIN****JIŘÍ 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 se v elektroanalytické chemii využívají v různých formách, např. jako prosté binární směsi pastovací kapaliny a uhlíkového prášku, chemicky či biologicky modifikované elektrody, elektrody modifikované různými filmy či chráněné membránami. V širším smyslu jsou od nich odvozeny i elektrody síťotiskové. V analýze biologicky aktivních sloučenin se v současné době uplatňují především různými způsoby modifikované uhlíkové pasty<sup>1–3</sup>, které umožňují využít největší výhodu uhlíkových past, kterou je jejich snadná modifikovatelnost podle řešeného analytického problému. Kromě klasických voltametrických metod se pasty využívají i jako elektrochemické detektory v HPLC, což umožňuje pasty na základě mikrokuliček skelného uhlíku, které nepodléhají ve směsných vodně organických prostředích degradaci.

V tomto příspěvku bude věnována pozornost využití uhlíkových past v naší laboratoři ke stanovení environmentálně významných organických látek, karcinogenních látek a farmaceutických látek pomocí vsádkových voltametrických metod a pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí na uhlíkových pastách v konfiguraci wall-jet. Popis optimalizace nových metod stanovení vybraných analytů bude vždy doplněn příklady jejich praktického využití na reálných či modelových vzorcích<sup>4–6</sup>.

*Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR, projekty LC0603, MSM 021620857, RP 14/63 a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt SVV 261204).*

**LITERATURA**

1. Zima J., Švancara I., Barek J., Vytřas K.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 204 (2009).
2. Svancara I., Vytras K., Kalcher K., Walcarius A., Wang J.: *Electroanalysis* 21, 7 (2009).
3. Svancara I., Walcarius A., Kalcher K., Vytras K.: *Central. Eur. J. Chem.* 7, 598 (2009).
4. Vokálová V.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha 2009.
5. Kalusová M.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha 2010.
6. Vysoká M.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha 2010.