

Obor **Analytická chemie** – státní závěrečná zkouška

Státní závěrečná zkouška sestává z předmětů :

Povinné předměty

- Spektrální metody chemické analýzy
- Analytické separační metody

Volitelné předměty

- Bioanalytika
- Elektroanalytické metody

Zkouška klade důraz na důkladné porozumění souvislostem a poznatkům získaným absolvováním povinných a povinně volitelných kurzů magisterského studia, přihlédnuto je ke specializaci kandidáta, dané zaměřením jeho diplomové práce. Rámcové okruhy témat ke státní závěrečné zkoušce jsou uvedeny níže. Součástí státní závěrečné zkoušky je též obhajoba diplomové práce, při níž má uchazeč prokázat schopnost prezentovat získané výsledky a orientovat se v problematice specializované oblasti i širší disciplíny na současné odborné úrovni. Obhajoba diplomové práce má formu ústní prezentace, během níž uchazeč seznámí komisi a posluchače s tématem a cíli práce, řešenými problémy, použitými metodami a získanými výsledky. Odpovídá na připomínky a dotazy obsažené v posudcích vedoucího a oponenta práce a reaguje na dotazy vznesené v průběhu diskuse.

Okruhy otázek:

Povinné předměty

1. Spektrální metody chemické analýzy

Atomová spektrometrie

Principy metod, typy a rozsahy spekter, fyzikální zákony, energetické veličiny, interakce záření s hmotou, klasifikace metod spektrální analýzy. Instrumentace, součásti analyzátorů, principy jejich funkcí a technické parametry. Optická emisní spektrometrie UV-Vis (OES): plamenová emisní spektrometrie molekul a atomů (FES), oblouková a jiskrová OES, OES v indukčně vázaném plazmatu (ICP), mikrovlnném plazmatu (MIP, CMP), výboje za sníženého tlaku v OES. Atomová absorpční spektrometrie (AAS). Atomová fluorescenční spektrometrie. Elementární analýza rentgenovými paprsky: absorpční spektrometrie, fluorescenční spektrometrie, RTG spektrometrie s buzením záření nabitými částicemi, elektronová mikrosonda a elektronová řádkovací mikroskopie. Příprava vzorku k analýze metodami atomové spektrometrie. Speciační analýza. Stopová analýza. Analýza pevných, kapalných a plyných vzorků, analýza povrchů, lokální analýza a mikroanalýza. Techniky vnášení vzorku do analyzátorů. Spektrální a nespektrální interference a jejich mechanismy,

techniky korekce interferencí. Optimalizace metod spektrální analýzy. Analytické vlastnosti metod a jejich metrologické parametry. Zajištění jakosti výsledků. Aplikace metod atomové spektrometrie v analýze reálných vzorků: příklady, metodiky, výhody a nevýhody různých metod, jejich srovnání z hlediska metrologických parametrů a analytických vlastností.

Molekulová spektrometrie

Principy metod, typy a rozsahy spekter, fyzikální zákony, energetické veličiny, interakce záření s hmotou, klasifikace metod molekulové spektrometrie. Instrumentace, součásti analyzátorů, principy jejich funkcí a technické parametry. Spektrometrie: UV-Vis absorpční, využití rozptylu (Vis), luminiscenční, infračervená, Ramanova, mikrovlnná, magnetické rezonanční metody, Moessbauerova. Fotoakustická spektrometrie. Metody založené na měření změny směru a rychlosti šíření záření: refraktometrie, optická rotační disperze, cirkulární dichroismus. Spektra různých látek a efekty ovlivňující spektra. Analýza pevných kapalných a plyných vzorků. Analýza povrchů. Metody molekulové spektrometrie jako detekční systémy v kombinaci s dalšími analytickými metodami. Aplikace metod molekulové spektrometrie v analýze reálných vzorků.

Hmotnostní spektrometrie

Principy metod, typy a rozsahy hmotnostních spekter, fyzikální zákony, veličiny. Ionizní metody a metody zavádění vzorku: Ionizace elektronovým nárazem (EI). Chemická ionizace (CI). Doutnavý výboj. Indukčně vázané plazma (ICP). Ionizace rychlými atomy (FAB). Ionizace (SIMS). Thermospray (TSI). Elektrospray (ESI). Laserová Desorpce (LD). Plazmová Desorpce (PD). Laserová desorpce za účasti matrice (MALDI). Spojení separace a hmotnostní spektrometrie. Hmotnostní spektrometry, jejich součásti, technické parametry a vlastnosti. Základy iontové optiky. Energetické analyzátoary. Magnetický sektor. Kvadrupólový analyzátor. Iontový cyklotron (FT-ICR-MS). Iontová past (IT). Lineární past (LT). Orbitrap. Time-of-Flight hmotnostní spektrometr (TOFMS). Kolizně indukovaná disociace (CID). Tandemová MS (MS/MS). Interference spektrální a nespektrální, jejich mechanismy a korekce. Analytické vlastnosti metod a jejich metrologické parametry. Zajištění jakosti výsledků. Spojení hmotnostní spektrometrie se separačními metodami. Aplikace: proteiny a peptidy, mapování peptidů, proteinové databáze, DNA, sacharidy, syntetické polymery, speciální analýza.

Spektrometrie s využitím laserového záření

Principy laserové techniky, fyzikální zákony, vlastnosti laserového záření a jeho generování. Aktivní prostředí laserů: plynové, v pevné fázi, iontové, excimerové, polovodičové, chemické. Plynule laditelné lasery barvivoové a pevnolátkové. Optické čerpání, pulsní a kontinuální provoz, frekvenční a spektrální vlastnosti, konstrukce jednomódových laditelných laserů. Laserové záření a optické vlastnosti materiálů, průchod elmag. záření hmotným prostředím, nelineární optika; absorpce záření v povrchových vrstvách pevných materiálů. Analytické aplikace s využitím vysoké koncentrace energie v paprsku: laserová ablace pro povrchovou a lokální analýzu materiálů v kombinaci s dalšími spektrálními metodami (AAS, ICP, OES); laserová jiskra v emisní spektrometrii, MALDI. Laserová spektrometrie nenasycených stavů: LEI, Raman, absorpční spektrometrie UV-VIS-IR s vysokým rozlišením, optoakustická spektrometrie, absorpční spektrometrie nízkých absorbancí. Laserová spektrometrie nasycených stavů.

2. Analytické separační metody

Chromatografické metody: základní teorie a pojmy. Klasifikace chromatografických systémů a postupů. Základní teoretické modely popisující chromatografii. Retenční rovnice, teoretické patro, faktory ovlivňující separační účinnost, eluční poměr a rozlišení.

Kapalinová chromatografie

Teoretické základy kapalinové chromatografie (LC), fyzikálně-chemický popis procesů, stacionární a mobilní fáze. LC, přenos hmoty v LC, termodynamické a kinetické aspekty separace. Klasifikace separačních mechanismů v LC (LLC, LSC, IC, GPC). Extrakce kapalina-kapalina, kapalina-pevná látka. Extrakční rovnováha. Předanalytická příprava vzorku: SFE (extrakce nadkritickými tekutinami), ASE (urychlená extrakce rozpouštědlem), MAE (extrakce pomocí mikrovlnného záření), TLC (chromatografie na tenké vrstvě, HPTLC, 2D TLC). SPE (extrakce na pevné fázi), SPME (mikroextrakce na pevné fázi), HSE (extrakce z plynné fáze). Základní módy LC: NP-HPLC (chromatografie na normální fázi), RP-HPLC (chromatografie na obrácené fázi), ultravýkonná LC, LC za zvýšené teploty, ultravýkonná LC za zvýšené teploty. Iontová, gelová a afinitní chromatografie. Vylučovací kapalinová chromatografie (GPC, SEC). Afinitní chromatografie: principy, IMAC (afinitní chromatografie s imobilizovaným iontem kovu), SFC (chromatografie nadkritickými tekutinami), PC (perfúzní chromatografie), biospecifická afinitní chromatografie. HILIC (LC s hydrofilními interakcemi), HIC (LC s hydrofobními interakcemi), IEC (iontově výměnná chromatografie), chromatofokuzace. Chirální separace: optická rotační disperze; chirální selektory, chirální stacionární fáze v HPLC. Separace makromolekul: Makromolekuly syntetické a biologické. Gyrační poloměr, relativní molekulová hmotnost, polydisperzita. Detekce optická, viskozimetrická. Ultracentrifugace, elektroforéza (GCE). Hmotnostní spektrometrie (+ Matrix Assistant Laser Desorption Ionization, MALDI). Separací metody pro makromolekuly: GPC (Gel permeation chromatography), HDC (Hydrodynamic chromatography), FFF =Frakcionace tokem v poli (Field-Flow Fractionation). Speciální detekční techniky. Rozptyl světla (statický) (Light scattering, LALLS, MALLS). Spojení separačních a detekčních technik. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti a parametry. Optimalizace, kvantitativní vztahy mezi strukturou a selektivitou vzhledem k retenci. Validace analyt. separační metody, shodnost metody, přesnost metody, kalibrace, selektivita, robustnost. Popis a vyhodnocení výsledků.

Plynová chromatografie

Princip plynové chromatografie (GC), stacionární a mobilní fáze, difúze, distribuce, interakce. Vliv teploty a tlaku plynu na retenční charakteristiky v GC. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti, parametry. Detekce v GC: plamenově ionizační detektor (FID), tepelně vodivostní detekce (TCD), elektronový záchyt (ECD), spojení GC s hmotnostní spektrometrem (GC-MS). Kvalitativní analýza, identifikace z elučních údajů, eluční závislosti (Kovatsovy indexy), selektivní detektory. Kvantitativní analýza.

Elektromigrační metody

Teoretické základy, základní pojmy, veličiny, fyzikální principy. Separační módy v kapilární elektroforéze: CZE (FSCE), CITP, CGE, MEKC (MECC), CEC, CIEF, diskontinuální elektroforéza. Instrumentace, její součásti, principy, technické vlastnosti a parametry. Optimalizace, vyhodnocování dat. Validace metod CE. SDS – PA GE, kapilární iontová elektroforéza (CIE), Chirální separace, CE v nevodném prostředí, analýza DNA, laserem indukovaná fluorescence, CE-MS.

Volitelné předměty

1. Bioanalytika

Biomakromolekuly

Analytické postupy: vysoce výkonné a nízkokrokové analýzy. Afinitní metody: princip, provedení, použití, IMAC, APAGE. Imunoanalytické metody: princip, provedení, použití, FIA, LIA, RIA, EIA, ELISA, IAC, IACE, SELDI. Separace biomakromolekul: GE 1D, 2D, polyakrylamid, agaróza, blotování, 2D LC. Genomika: základy genetiky, PCR, restriční enzymy, identifikace sekvence, pyrosekvence, 454, Solexa, Solid, identifikace změn DNA, metylace DNA. Hmotnostní spektrometrie. Proteomika, expresní proteomika, MS bottom-up, top-down, identifikace pomocí sekvence aminokyselin, 2D HPLC, 2D PAGE, 2D analýza obrazu. Kvantitativní analýza proteinů pomocí MS, metoda vnitřního standardu, hmotnostní značka (ICAT, ICMT, TMT, MCAT, GIST, SILAC, SIL). Funkční proteomika: následná a paralelní analýza, metody studia interakce protein-protein (Y2H; BiFC; mbSUS; MeRA; SEAM – značení myc, TAP, FLAG, His; využití iontové mobility); absolutní kvantifikace proteinů a peptidů pomocí MS (SIL, VICAT, QCAT molární ionizační koeficient, pravděpodobnostní přístup). Strukturní proteomika: zesíťování molekulárními pravítky, FTICR-MS, shotgun proteomika. Analýza post-translačních modifikací (PTM): lokalizace, glykosylace, fosforylace, rozsah PTM. Lipidomika: základy, metody, extrakce lipidů, TLC, GC, LC, SFC, GPC, MS (PIS, HGS, FAS), MS analýza, shotgun analýza.

Analytické metody v klinické praxi

Preanalytická fáze. Analyzátoři, organizace, integrace a miniaturizace analýz. Jakost v klinické analýze. Výběr a optimalizace analytických metod. Analytické soupravy. Vybrané instrumentální metody. Využití barevnosti v bioanalýze, lékařská mikrobiologie. Klinická imunoanalýza. Klinické aspekty analýzy proteinů a DNA. Vývoj metody. Vybrané organické a anorganické analyty. Tlumivé roztoky v bioanalytice.

2. Elektroanalytické metody

Principy, pojmy, veličiny, mechanismy, procesy, modely. Klasifikace elektroanalytických metod. Instrumentace pro elektroanalytické metody. Potenciometrie, iontově selektivní elektrody, měření pH, pX. Elektrolýza, elektrogravimetrie, coulometrie. Polarografie, voltametrie, derivační polarografie, tast-polarografie. Cyklická voltamperometrie, anodická, katodická a adsorptivní voltamperometrie. střídavá a square wave polarografie a voltametrie. Pulzní metody, normální (NPP) a diferenčně pulzní (DPP) polarografie a voltametrie.

Chronopotenciometrie a chronoamperometrie. Hydrodynamické a mikroelektrody. Konduktometrie, vysokofrekvenční konduktometrie, dielektricitivní metody. Impedanční metody. Elektroanalýza s použitím moderních elektrochemických metod: elektrochemické mikrováhy (Quartz Crystal Microbalance QCM), skenovací elektrochemická mikroskopie (scanning tunneling microscopy STM, atomic force microscopy - AFM), spektroeletrochemie (UV-vis, IČ, Raman), sonoeletrochemie. Titrační varianty elektroanalytických metod. Metrologické charakteristiky vybraných elektroanalytických metod. Aplikace na analýzu reálných vzorků.

Literatura:

- *Analytická příručka. Díl I.* Edited by Zýka J. 4. upr. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1988.
- *Analytická příručka. Díl II.* Edited by Zýka J. 4. upr. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1988.
- Kanický, V., Otruba V., Sommer L. a Toman J. *Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech.* 1. st. Praha: Academia, 1992. Pokroky chemie 24. ISBN 80-200-0215-4.
- *5.kurz ICP spektrometrie.* Edited by Otruba V., Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Masarykova Univerzita, 2009. ISBN 978-80-903732-8-0.
- *Inductively coupled plasma analytical atomic spectrometry.* Edited by Montaser, A. and Golightly D. W. 2nd ed. New York: VCH Publishers, 1992.
- *Inductively coupled plasma emission spectroscopy, Part 2, Applications and fundamentals.* Edited by Boumans, P. W. J. M. New York: Wiley, 1987. ISBN 978-0-471-85378-7.
- Becker, J. S. *Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications.* Chichester: Wiley, 2007. ISBN-13: 978-0470012000.
- Nelms, S. *Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook.* Oxford: Blackwell Publishing, 2005. ISBN-13: 978-0849323812.
- *Laser-induced breakdown spectroscopy.* Edited by Singh J. P. and Thakur S. N. Amsterdam: Elsevier, 2007. ISBN: 978-0-444-51734-0.
- Cremers, D. A. and Radziemski, L. J. *Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy.* Chichester: Wiley, 2006. ISBN: 13 978-0-470-09299-66.
- Churáček, J. *Analytická separace látek.* 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-03-00569-8.
- Popl, M. a Kubát J. *Separace látek.* 3. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1986.
- Sommer, L. *Základy teorie analytické chemie.* 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1991. ISBN 80-210-0215-8.
- Kuhn, R. and Hoffstetter-Kuhn, S. *Capillary electrophoresis : principles and practice.* Berlin: Springer-Verlag, 1993. ISBN 3-540-56434-9-.
- Jandik, P. and Bonn, G. *Capillary electrophoresis of small molecules and ions.* New York: VCH Publishers, 1993. ISBN 1-56081-533-7.
- Schwartz, H. *Separation of proteins and peptides by Capillary Electrophoresis: Application to Analytical Biotechnology.* : Beckman Coulter, 1993.

- *Capillary electrophoresis of proteins and peptides*. Edited by Strege, M. A., Lagu, A. L. Totowa, N. J.: Humana Press, 2004. ISBN 1-58829-017-4.
- LI, S. F. Y. *Capillary electrophoresis: principles, practice and applications*. Amsterdam: Elsevier, 1993. ISBN 0-444-81590-2.
- *Capillary electrophoresis of nucleic acids*. Edited by Mitchelson K. R. and Cheng J. Totowa, N.J.: Humana Press, 2001. ISBN 0-89603-765-7.
- Čermáková, L. a Zýka, J. *Analytická chemie méně běžných prvků*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1990. ISBN 80-7066-050-3.
- Brett, C. M. A. and Oliviera Brett, A. M. *Electroanalysis*. Oxford: Oxford University Press, 1998. ISBN 0-19-854816-8.
- Bard, A. J. and Faulkner L. R. *Electrochemical methods :fundamentals and applications*. 2nd ed. New York: Wiley, 2001. ISBN 0-471-04372-9.
- Bard, A. J., Stratman, M. *Encyclopedia of Electrochemistry, Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, Vol.3, Wiley-VCH,2001.
- Engst, P. a Horák, M. *Aplikace laserů*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1989.
- Hábovčík, P. *Lasery a fotodetektory*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatúry, 1990. ISBN 80-05-00526-1.
- Cotter, R. J. *Time-of-Flight Mass Spectrometry: Instrumentation and applications in biological research*. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997. ISBN 0-8412-3474-4.
- Cole, R. B. *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation & Applications*. : Wiley, 1997. ISBN 0-471-14564-5.
- *Quantitative proteomics by mass spectrometry*. Edited by Sechi, S. Totowa, N.J.: Humana Press, 2007. ISBN 978-1-58829-571.
- Liebler, D. C. *Introduction to proteomics :tools for the new biology*. Edited by Yates, J. R.. Totowa, NJ: Humana Press, 2002. ISBN 0-89603-992-7.
- Mikkelsen, S. R. and Cortón, E. *Bioanalytical chemistry*. Hoboken, N.J.: Wiley, 2004. ISBN 0-471-54447-7.
- Benfey, P. N. and Protopapas, A. D. *Essentials of genomics*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice-Hall, 2005. ISBN 0-13-047018-X.
- *Foundations of Comparative Genomics*. Edited by Mushegian A. R. I. Title. Burlington, USA: Elsevier Academic Press, 2007. ISBN 0120887940.
- *Posttranslational modifications of proteins :tools for functional proteomics*. Edited by Kannicht, C. Totowa, N.J.: Humana Press, 2002. ISBN 0-89603-678-2.
- Chromý, V. *Bioanalytika : analytická chemie v laboratorní medicíně*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2002. ISBN 80-210-2917-.
- Chromý, V. a Fischer J. *Analytické metody v klinické chemii*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2000. ISBN 80-210-2363-5.