

D – Charakteristika studijního předmětu

Název studijního předmětu	Základy instrumentální analýzy		
Typ předmětu	povinný	doporučený ročník / semestr	1.roč./LS
Rozsah studijního předmětu	1p + 1s	hod. za semestr	20
Jiný způsob vyjádření rozsahu		kreditů	2
Způsob zakončení	zápočet, zkouška	forma výuky	přednáška, seminář
Další požadavky na studenta	Středoškolské znalosti z matematiky, fyziky, kurz fyzikální chemie-obecné chemie, anorganické a organické chemie.		
Vyučující	RNDr. Petr ŠIMEK, CSc.		
Stručná anotace předmětu	<p>Kurz vysvětluje principy hlavních metody analýzy látek v biologickém materiálu tak, aby posluchač porozuměl principům hlavních instrumentálních metod používaných v současné biochemické analýze s klinickým zaměřením.</p> <p>Výstupy</p> <ol style="list-style-type: none">1. Student je schopen porozumět povaze intramolekulárních interakcí látek a intermolekulárním interakcím mezi látkami a prostředím na úrovni malých molekul i makromolekulárních systémů.2. Student je schopen popsat interakce mezi látkou a záření, princip absorpce a emise záření, rozptylu, odrazu a lomu světla a porozumět principům metod založených na těchto interakcích.3. Student je schopen popsat elektrický článek, elektrodový potenciál a porozumět principům měření pH a použití iontově selektivních elektrod v potenciometrických měřeních.4. Student je schopen popsat principy přípravy vzorku k analýze a separace látek, extrakce látek z různých materiálů, princip derivatizace a chromatografie v kapalně a plynné fázi včetně grafických výstupů, chromatogramů.5. Student je schopen popsat principy elektromigračních metod, zejména elektroforézy a blottingu a porozumět hlavních faktorů, které ovlivňují tyto separační děje.6. Student je schopen porozumět principu imunochemických metod a různým uspořádáním imunoanalytických metod, zejména metodě ELISA.7. Student je schopen porozumět základním principům hmotnostní spektrometrie a NMR, principům tvrdé a měkké ionizace látek, izotopického složení a popsat základní charakteristiky hmotnostního spektra a spektra NMR8. Student je schopen popsat jednotlivé fáze laboratorní analýzy látek, principy kvalitativní, kvantitativní analýzy, nejistot měření, kalibrace a validace analytické metody. <p>Přednášky</p> <p>1. Intramolekulární interakce v metabolitech a makromolekulách. Proton, elektron, kation, anion, radikál. Atomy, prvky (uhlík, vodík, dusík, kyslík, sodík, fluor, helium, porovnání jejich vlastností), izotopy a molekuly, malé molekuly -metabolity, polymery, buňky. Chemická vazba kovalentní, polární, iontová, kovová. Hmotnost molekulová, monoizotopická.</p> <p>2. Intermolekulární interakce v metabolitech a makromolekulách. Makroskopické projevy – skupenské stavy, solvatace iontů, primární až kvarterní struktura makromolekul, supramolekulární systémy host-hostitel, antigen-protilátka, enzym-substrát, afinita, avidita.</p> <p>3. Záření v instrumentální analýze. Foton-vlnění, elektromagnetické spektrum, vnitřní pohyb atomů a molekul, interakce molekul a záření. Absorpce a emise záření, transmitance, absorbance, Lambertův-Beerův zákon. Principy fotometrie/spektrofotometrie, fluorescence, chemiluminiscence. Odraz, lom světla, refraktometrie. Polarometrie. Rozptyl světla, turbidimetrie, nefelometrie. Ohyb záření, rentgenová difrakce. Atomová emisní a absorpční spektrometrie.</p> <p>4. Elektroanalytické metody. Elektrochemický článek, jeho vlastnosti, elektrodový potenciál – Nernstova rovnice. Přehled elektroanalytických metod. Potenciometrie, typy používaných elektrod, měření pH –skleněná elektroda, iontově selektivní membránové elektrody. Potenciometrická titrace-měření bodu ekvivalence.</p> <p>5.Příprava vzorku k analýze, principy extrakčních metod. Obecné zásady odběru vzorku. Srážení proteinů, extrakce kapalina-kapalina (LLE). Extrakce tuhá fáze – kapalina, tlaková extrakce rozpouštědlem, superkritická extrakce (SFE). Principy extrakce tuhá fáze – plyn, mikroextrakce sorbentem (SPME, vlákno). Princip extrakce tuhým sorbentem (SPE), mikroextrakce (MEPS). Princip derivatizace.</p> <p>6.Princip separace látek, chromatografie. Chromatogram, termodynamika, kinetika separačního děje. Základní charakteristiky - retenční čas, rozlišení, tvar eluční</p>		

křivky, plocha píku, symetrie. Účinnost separace, počet pater kolony. Principy planární chromatografie, kapalinová chromatografie (LC), gelová, iontoměničová. Principy LC na reverzní a normální fázi. Základní principy optimalizace separačního děje. Princip plynové chromatografie (GC).

7. Princip separace látek, elektromigrační metody, elektroforéza.

Přehled elektromigračních metod. Elektroforéza na nosičích, gelová elektroforéza SDS-PAGE. Izoelektrická fokusace, dvourozměrná elektroforéza. Princip blottingu. Southern, western, northern, eastern blotting. Kapilární elektroforéza (CE), princip, elektroosmotický tok. Elektroforéza versus chromatografie. Principy optimalizace separačního děje elektroforéze, vliv pufru, pH.

8. Imunochemické metody.

Host – hostitel interakce, antigen (Ag) – protilátka (Ab), enzym-substrát, haptén.

Imunoprecipitační křivka. Gelové imunoanalytické metody, princip imunodifúze, radiální, jednoduchá, dvojité.

Enzymová imunoanalýza (EIA), radioaktivní imunoanalýza (RIA). Heterogenní imunoanalýza nekompetitivní – ELISA. Homogenní imunoanalýza kompetitivní. Rychlá imunoanalýza – diagnostické proužky.

9. Hmotnostní spektrometrie (MS) a jaderná magnetická rezonance (NMR).

Hmotnostní spektrometrie, princip, měření efektivní hmotnosti. Kation-radikál, kation, anion.

Tvrdá ionizace molekul, EI. Měkká ionizace molekul, chemická ionizace, elektrosprej (ESI, DESI), laserová desorpce

(MALDI). Princip zobrazovací metody, MS imaging (MSI). Hmotnostní spektrum malých molekul, molekulární ion,

izotopické složení, rozlišení, fragmentace iontů. Princip zobrazení hmotnostních spekter peptidů/proteinů. Princip

NMR, princip absorpce záření, relaxace jader, Fourierova transformace. NMR spektrum, chemický posuv, spin-spinová interakce, štěpení signálu chemického posuvu. Princip NMR tomografie.

10. Jednotlivé fáze instrumentální analýzy a základy vyhodnocení výsledků analytických měření

Přeanalytická, analytická a postanalytická fáze laboratorního vyšetření vzorku. Mimolaboratorní, laboratorní přeanalytika, zásada dvou identifikátorů, kritéria odmítnutí vzorku. Kvalitativní a kvantitativní analýza. Výsledek měření, střední hodnota, medián, pracovní interval, referenční meze analytu. Nejistota měření, chyby měření.

Správnost, pravdivost a přesnost měření. Kalibrační závislost (mez detekce, mez stanovitelnosti, pracovní interval, linearita). Citlivost, robustnost a validace analytické metody. Zásady správné laboratorní praxe (GLP). Certifikace a akreditace laboratoře instrumentální analýzy.

Semináře (

1. Intramolekulární, intermolekulární interakce, záření a elektroanalytické metody v instrumentální analýze. (2 hodiny)

2. Principy extrakce, chromatografie a elektromigračních metod. (2 hodiny)

3. Imunochemické metody. (2 hodiny)

4. Principy hmotnostní spektrometrie a NMR metod. (2 hodiny)

5. Fáze instrumentální analýzy a základy vyhodnocení výsledků analytických měření (2 hodiny)

Součástí semináře je samostatné vypracování seminární práce každým studentem, která je zaměřena na měření vybraného analytu vhodnou instrumentální metodou s popisem principu metody, její přeanalytické, analytické a postanalytické fáze a odkazy na použitou literaturu.

Informace ke kombinované nebo distanční formě

Rozsah konzultací (soustředění)	3p + 3s	hodin za semestr
--	---------	-------------------------

Rozsah a obsahové zaměření individuálních prací studentů a způsob kontroly

Student obdrží úplnou prezentaci přednášky a postupuje při samostatném studiu podle sylabu přednášky s využitím doporučené literatury. Součástí studijní přípravy je dále samostatné vypracování seminární práce vybraného analytu vhodnou instrumentální metodou s popisem principu metody, její přeanalytické, analytické a postanalytické fáze a odkazy na použitou literaturu.

Studijní literatura a studijní pomůcky

Základní studijní literatura:

Šimek P: Základy instrumentální analýzy. Přednášky předmětu v pdf formátu, Č. Budějovice, 2012.

Doležalová V et al.: Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii, vyd. IDVPZ, Brno 1995, IBSN-80-7013-198-5.

Zima T et al: Laboratorní diagnostika, Galen 2007, 2. Vydání, IBSN-80-24614235.

Chromý V et al: Bioanalytika. Analytická chemie v laboratorní medicíně, MU 2002, IBSN-80-210-2917-X.

Další odborná literatura:

FOGL J.: Návod pro laboratorní cvičení z analytické chemie, I. VŠCHT Praha 2000, IBSN 80-708-0291-X.

Principles of Instrumental Analysis. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR, 6th edition, Publisher: Brooks/Cole Pub Co, 1056 pages, 12/2006, IBSN-13: 978-0495012016. 2006.