

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Stanovení kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových  
kyselin pomocí kapilární elektroforézy

Bc. Jana Michalíková

Diplomová práce

2017

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jana Michalíková**  
Osobní číslo: **C15584**  
Studijní program: **N1407 Chemie**  
Studijní obor: **Analytická chemie**  
Název tématu: **Stanovení kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin pomocí kapilární elektroforézy**  
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. V dostupné vědecké literatuře vyhledejte a rešeršně zpracujte práce pojednávající o kritické micelární koncentraci aniontových tenzidů a jejím stanovení s využitím kapilární elektroforézy. Popište využití perfluorovaných kyselin v micelární elektrokinetické chromatografii.
2. Stanovte kritickou micelární koncentraci vybraných perfluorovaných kyselin pomocí elektroforetických metod. Prozkoumejte vlivy délky alkylového řetězce na kritickou micelární koncentraci. Porovnejte výsledky získané pomocí různých metod.
3. Získaná experimentální data kriticky zhodnoťte a diskutujte.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího práce.**

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce:

**Ing. Jana Váňová**

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce:

**20. února 2017**

Termín odevzdání diplomové práce:

**12. května 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2017

**Prohlašuji:**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 05. 2017

Bc. Jana Michalíková

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Petru Česlovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a pomoc při vypracování diplomové práce. Dále Ing. Janě Váňové, která mi po celou dobu experimentálního měření věnovala obrovské množství času a energie, za předané zkušenosti a rovněž ochotu a pomoc při vypracování diplomové práce.

Děkuji také své rodině a přátelům za nepřetržitou a obrovskou podporu po celou dobu mého studia.

## **ANOTACE**

Tato diplomová práce se zabývá stanovením kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin pomocí kapilární elektroforézy. Prvním krokem bylo určení kritické micelární koncentrace u homologické řady perfluorovaných karboxylových kyselin. Kritická micelární koncentrace byla určena dvěma metodami a to metodou založenou na měření proudu a metodou založenou na měření viskozity v závislosti na koncentraci perfluorovaných karboxylových kyselin. Dále byla pro perfluoroheptanovou a perfluorooktanovou kyselinu zkoumána metoda založená na měření retenčního času s využitím homologické řady alkylbenzenů a ketolátek.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Kritická micelární koncentrace, tenzidy, perfluorované karboxylové kyseliny, kapilární elektroforéza

## **TITLE**

Determination of critical micelle concentration of perfluorinated carboxylic acids using capillary electrophoresis.

## **ANNOTATION**

This diploma thesis deals with determination of critical micelle concentration of perfluorinated carboxylic acids using capillary electrophoresis. The first step was to determine the critical micelle concentration of homological series of perfluorinated carboxylic acids. Critical micelle concentration was determined using two methods. The first method is based on measurement of current; the second one utilizes the dependence of viscosity on the concentration of perfluorinated carboxylic acids. Further, a method based on determination of the retention time employing homological series of alkylbenzenes and ketones was also investigated for perfluoroheptanoic and perfluorooctanoic acid.

## **KEYWORDS**

Critical micelle concentration, surfactants, perfluorinated carboxylic acids, capillary electrophoresis

## OBSAH

Úvod.....	11
1. Teoretická část .....	12
1.1 Obecná charakteristika tenzidů .....	12
1.2 Chemická struktura .....	12
1.3 Povrchové napětí.....	13
1.4 Klasifikace tenzidů .....	13
1.4.1 Aniontové tenzidy .....	14
1.4.2 Kationtové tenzidy .....	14
1.4.4 Neiontové tenzidy .....	15
1.5 Perfluorované karboxylové kyseliny .....	15
1.5.1 Chemická struktura a vlastnosti .....	15
1.5.2 Výroba PFCAs .....	16
1.5.3 Využití PFCAs .....	17
1.6 Kritická micelární koncentrace a možnosti ovlivnění její hodnoty .....	18
1.6.1 Vznik a vlastnosti micel.....	18
1.6.2 Struktura a tvar micel.....	19
1.7 Stanovení kritické micelární koncentrace .....	21
1.7.1 Metoda založená na měření proudu .....	21
1.7.2 Metoda založená na měření viskozity.....	22
1.7.3 Zónové metody .....	22
1.7.3.1 Metoda založená na měření retenčního faktoru .....	24
1.7.3.2 Metoda založená na měření retenčního času .....	24
1.7.3.3 Metoda založená na měření pohyblivosti .....	25
1.7.3.4 Další metody pro stanovení kritické micelární koncentrace.....	27
1.8 Kapilární elektroforéza .....	28
1.8.1 Elektroosmotický tok .....	28
1.8.2 Jouleovo teplo .....	29
1.8.3 Kapilární zónová elektroforéza.....	30
1.8.4 Micelární elektrokinetická chromatografie.....	31
1.9 Hmotnostní spektrometrie.....	32
1.9.1 Spojení MEKC s MS .....	33

2.	Experimentální část.....	35
2.1	Použité chemikálie.....	35
2.2	Použité zařízení.....	37
2.3	Pracovní postup.....	37
2.3.1	Křemenná separační kapilára.....	37
2.3.2	Příprava základního elektrolytu.....	38
2.3.3	Měření kritické micelární koncentrace.....	38
2.3.3.1	Metoda založená na měření proudu.....	38
2.3.3.2	Metoda založená na měření viskozity.....	39
2.3.3.3	Metoda založená na měření retenčního času.....	39
3.	Výsledky a diskuze.....	41
3.1	Měření kritické micelární koncentrace.....	41
3.1.1	Perfluoroheptanová kyselina.....	44
3.1.2	Perfluorooktanová kyselina.....	45
3.1.3	Perfluorononanová kyselina.....	46
3.1.4	Porovnání kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin.....	47
4.	Závěr.....	50
5.	Seznam použité literatury.....	51
	Příloha 1.....	57
	Příloha 2.....	61
	Příloha 3.....	65



## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obr. 1:</b> Strukturní vzorec perfluorované karboxylové kyseliny. ....	15
<b>Obr. 2:</b> Fyzikální vlastnosti roztoku tenzidů.....	19
<b>Obr. 3:</b> Struktura micely a molekuly PAL.....	20
<b>Obr. 4:</b> Schématické znázornění (a) zón analytů separovaných v kapiláře a (b) typický elektrokinetický chromatogram z MEKC. $t_0 = t_{eof}$ : migrační čas elektroosmotického toku; $t_R$ : retenční čas neutrálního analytu; $t_{mic}$ : migrační čas micel .....	23
<b>Obr. 5:</b> Experimentální závislost migračního/retenčního času analytu na koncentraci dodecysíranu sodného v 20 mM fosfátovém pufru o pH 7,00, teplota 40 °C. ○ toluen; ● 2-naftalenmetanol; ▲ naftol.....	25
<b>Obr. 6:</b> Experimentální závislost efektivní elektroforetické pohyblivosti pyridinových derivátů na koncentraci SDS v 20 mM fosfátovém pufru o pH 7,00, teplota 25 °C. ....	27
<b>Obr. 7:</b> Elektroosmotický tok v křemenné kapiláře.....	29
<b>Obr. 8:</b> Schéma přístroje pro kapilární zónovou elektroforézu .....	30
<b>Obr. 9:</b> Schéma micelární elektrokinetické chromatografie .....	31
<b>Obr. 10:</b> Schéma základních částí hmotnostního spektrometru.....	33
<b>Obr. 11:</b> Schematické zobrazení spojení MEKC-ESI-MS s přidavným tokem kapaliny.....	34
<b>Obr. 12:</b> Kapilární elektroforéza Agilent <sup>3D</sup> CE s UV/VIS detektorem.....	37
<b>Obr. 13:</b> Závislost proudu na koncentraci SDS v a) 25 mM mravenčanu amonném o pH 8, b) 25 mM mravenčanu amonném o pH 9, c) 50 mM mravenčanu amonném o pH 8, d) 50 mM mravenčanu amonném o pH 9. ....	41
<b>Obr. 14:</b> Závislost proudu na koncentraci SDS v a) 25 mM octanu amonném o pH 8, b) 25 mM octanu amonném o pH 9, c) 50 mM octanu amonném o pH 8, d) 50 mM octanu amonném o pH 9.....	42
<b>Obr. 15:</b> Grafický záznam hodnot cmc v závislosti na PFCAs získaných metodou proudu a viskozity.....	49

## SEZNAM TABULEK

<b>Tab. 1:</b> Přehled vybraných perfluorovaných karboxylových kyselin. ....	16
<b>Tab. 2:</b> Naměřené hodnoty kritické micelární koncentrace SDS metodou založenou na měření proudu. ....	43
<b>Tab. 3:</b> Naměřené hodnoty kritické micelární koncentrace jednotlivých perfluorovaných karboxylových kyselin v základním elektrolytu. ....	47
<b>Tab. 4:</b> Analýza rozptylu (ANOVA) hodnot cmc pro PFCAs získaných metodou proudu a viskozity a výsledky Tukeyova testu. Stanovení cmc bylo provedeno v 50 mM octanu amonném o pH 9. ....	48

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

<b>APCI</b>	Chemická ionizace za atmosférického tlaku
<b>APPI</b>	Fotoionizace za atmosférického tlaku
<b>BGE</b>	Základní elektrolyt
<b>CE</b>	Kapilární elektroforéza
<b>CI</b>	Chemická ionizace
<b>cmc</b>	Kritická micelární koncentrace
<b>CZE</b>	Kapilární zónová elektroforéza
<b>ECF</b>	Elektrochemická fluorace
<b>EI</b>	Elektronová ionizace
<b>EOF</b>	Elektroosmotický tok
<b>ESI</b>	Ionizace elektrosprejem
<b>MALDI</b>	Ionizace/desorpce laserem za přítomnosti matrice
<b>MEKC</b>	Micelární elektrokinetická chromatografie
<b>MS</b>	Hmotnostní spektrometrie
<b><i>n</i></b>	Agregační číslo
<b>PAL</b>	Povrchově aktivní látka
<b>PFBA</b>	Perfluorobutanová kyselina
<b>PFCAs</b>	Perfluorované karboxylové kyseliny
<b>PFDA</b>	Perfluorodekanová kyselina
<b>PFDoDA</b>	Perfluorododekanová kyselina
<b>PFHpA</b>	Perfluoroheptanová kyselina
<b>PFHxA</b>	Perfluorohexanová kyselina

<b>PFNA</b>	Perfluorononanová kyselina
<b>PFOA</b>	Perfluorooktanová kyselina
<b>PFPeA</b>	Perfluoropentanová kyselina
<b>PFT</b>	Technika částečného plnění
<b>PFTeDA</b>	Perfluorotetradekanová kyselina
<b>PFTrDA</b>	Perfluorotridekanová kyselina
<b>PFUnDA</b>	Perfluoroundekanová kyselina
<b>SDS</b>	Dodecylsíran sodný

## Úvod

Tenzidy neboli povrchově aktivní látky snižují povrchové napětí a tím odstraňují nečistoty z povrchů. Na základě iontového charakteru se tenzidy rozdělují na iontové a neiontové. Iontové tenzidy se dále dělí do tří tříd: aniontové, kationtové a amfolytické. Aniontové tenzidy jsou v současné době nejrozšířenějším typem tenzidů představující více než 60 % celkové světové produkce. Mezi aniontové tenzidy se mimo jiné řadí i perfluorované karboxylové kyseliny, proto je tato práce zaměřena na stanovení jejich kritické micelární koncentrace pomocí instrumentace kapilární elektroforézy. Kapilární elektroforéza je elektromigrační separační technika umožňující rychlou a účinnou separaci nabitých složek přítomných v malém objemu vzorku.

Koncentrace tenzidu v roztoku, při které se molekuly povrchově aktivních látek začínají samovolně agregovat do micel, se nazývá kritická micelární koncentrace. Mezi faktory, které ovlivňují hodnotu kritické micelární koncentrace patří teplota, pH a iontová síla roztoku a přítomnost organického modifikátoru. Ve vodném prostředí se tenzidy v micelách orientují nepolárním řetězcem dovnitř micely a polární skupinou ven. Vznikem micel se současně mění řada fyzikálních vlastností roztoku tenzidu jako např. povrchové napětí, molární vodivost nebo osmotický tlak.

Stanovení kritické micelární koncentrace je také důležité pro úspěšnou separaci látek v použitém elektrolytu. V poslední době se často využívají elektroforetické metody v oblasti separačních procesů. Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na ty metody, kterými lze stanovit kritickou micelární koncentraci perfluorovaných karboxylových kyselin s využitím kapilární elektroforézy. Nakonec jsem porovnala hodnoty kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin získané pomocí jednotlivých metod.

# 1. Teoretická část

## 1.1 Obecná charakteristika tenzidů

Tenzidy neboli také povrchově aktivní látky (PAL) jsou organické látky, které se již při nízkých koncentracích hromadí na fázovém rozhraní, což se projevuje především snížením povrchového napětí. Stabilizují nebo v případě potřeby ruší disperzní systémy, urychlují technologické procesy, snižují tření a aktivně se podílejí na biochemických procesech v živých organismech. Povrchová aktivita tenzidu se na dvojfázovém rozhraní zmenšuje v pořadí: kapalina-plyn > pevná látka-plyn > kapalina-pevná látka > pevná látka-pevná látka [1-2].

Tenzidy se v hojné míře přidávají do čisticích prostředků a detergentů. Detergent je směs tenzidů a dalších složek, jako jsou aktivační přísady (polyfosforečnany, křemičitany, polykarboxylové kyseliny, deriváty škrobu aj.), plniva (např. síran sodný) a další speciální přísady (bělicí prostředky, barviva, parfémy, aj.), které jsou schopné převádět nečistotu z pevného povrchu do objemové fáze roztoku [1-2].

## 1.2 Chemická struktura

Povrchová aktivita tenzidů je dána stavbou jejich molekuly, která obsahuje vždy hydrofilní a hydrofobní skupinu. Hydrofobní (nepolární) část molekuly tenzidu je tvořena dlouhými uhlovodíkovými řetězci ( $\geq C_8$ ). Tyto části molekuly jsou dobře rozpustné v nepolárních rozpouštědlech. Oproti tomu hydrofilní (polární) část molekuly má velkou afinitu k vodě a obsahuje atomy nebo skupiny atomů s velkou elektronegativitou a velkou elektronovou afinitou, jako jsou O, N, S, P a halogeny. Tato polární skupina (např.  $-COOH$ ,  $-SO_3H$ ) disociuje ve vodě a ovlivňuje celkovou polaritu, rozdělení elektrického náboje a mimo jiné i celkový iontový charakter molekuly tenzidu [1-3].

### 1.3 Povrchové napětí

Povrchové napětí je nejvýznamnější měřitelnou veličinou, která charakterizuje povrch kapalin. Je ovlivňováno teplotou, složením kapalné fáze, v malé míře tlakem a případně elektrickým nábojem fázového rozhraní. Molekuly v povrchových vrstvách kapaliny mají jiný energetický stav, než molekuly uvnitř kapaliny, které se navzájem ovlivňují přitažlivými a odpudivými silami. Z hlediska potenciální energie jsou molekuly na povrchu kapaliny v prostředí nesymetrického silového pole. Interakcemi mezi těmito molekulami vzniká vnitřní tlak kapaliny, který vtahuje molekuly dovnitř kapaliny, což má za následek, že se kapalina snaží zaujmout co nejmenší povrch. Povrchové napětí kapalin je síla působící v rovině povrchu kapaliny kolmo na délkovou jednotku. Značí se  $\gamma$  a jednotkou je newton na metr (N/m). Pro zvětšení povrchu na fázovém rozhraní je třeba vykonat práci. Tato práce je nazývána práce povrchového napětí a její velikost se vyjadřuje v jednotkách  $\text{J/m}^2$  [1,4].

### 1.4 Klasifikace tenzidů

Tenzidy je možné klasifikovat z více hledisek, a to:

- na základě jejich hydrofobní složky
- na základě jejich iontového charakteru
- na základě číselné hodnoty hydrofilně-lipofilní rovnováhy
- na základě aplikačního použití,...aj.

Charakter hydrofilní části molekuly tenzidu je z hlediska uvedených kritérií nejdůležitější, a proto se klasifikace na základě iontového charakteru používá nejčastěji. Podle iontového charakteru se tedy tenzidy rozdělují na dvě skupiny: iontové a neiontové. Iontové tenzidy obsahují funkční skupiny, které ve vodném roztoku disociují za vzniku kladně a záporně nabitých iontů. Tyto ionty jsou nositeli povrchové aktivity a dělí se dále na aniontové, kationtové a amfolytické [1,5].

### 1.4.1 Aniontové tenzidy

V současné době jde o nejrozšířenější typ tenzidů představující více než 60 % celkové světové produkce. Mají smáčecí, detergentní, dispergační, emulgační a penetrační vlastnosti. Nositelem povrchové aktivity je u těchto typů tenzidů aniont. Hlavními funkčními skupinami hydrofilní části molekuly aniontových tenzidů jsou:  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OSO}_3\text{H}$ ,  $-\text{OPO}(\text{OH})_2$  [1].

Mezi aniontové tenzidy se řadí zejména mýdlo, alkylsulfáty, alkylsulfonany, alkensulfonany, alkylarylsulfonany a sulfátové neionogenní tenzidy. Nejstarším a nejdéle používaným aniontovým tenzidem je mýdlo. Z chemického hlediska se jedná o směsi solí vyšších mastných kyselin s alkalickými kovy ( $\text{RCOONa}$ ) [2].

Nejvýznamnějším zástupcem aniontových tenzidů sulfátového typu je dodecylsírán sodný (SDS). Je poměrně levný, má výborné odmašťovací a čisticí schopnosti. Alkylsulfáty (alkylsíran, alkylhydrogensulfáty) vznikají sulfatací vyšších alifatických alkoholů  $\text{C}_8 - \text{C}_{18}$ . Biochemicky stabilnější jsou alkylsulfáty s rozvětveným řetězcem. Mezi další zástupce aniontových tenzidů se řadí perfluorované karboxylové kyseliny (PFCAs), které jsou zmíněny v kapitole 1.5 [5-6].

### 1.4.2 Kationtové tenzidy

Kationtové tenzidy jsou dražší a vyrábí se v menším rozsahu než aniontové. Mají dobré dezinfekční a antiseptické účinky. Vytvářejí adsorpční vrstvy na buňkách mikroorganismů a tím narušují jejich metabolické funkce. Na rozdíl od aniontových a neiontových tenzidů nemají detergentní ani smáčecí vlastnosti. Mezi nejvýznamnější kationtové tenzidy patří kvartérní amoniové a pyridinové soli [5-7].

### 1.4.3 Amfolytické tenzidy

Amfolytické (amfoterní) tenzidy jsou schopné disociovat ve vodném roztoku a v závislosti na pH prostředí mají buď kladný nebo záporný náboj. Obvykle se jedná o skupinu tenzidů obsahující dusíkový atom nebo karboxylovou skupinu. Poskytují cca 2 – 5 % světové produkce tenzidů. Obecně jsou tyto tenzidy poměrně drahé, a proto je jejich použití omezeno na velmi speciální aplikace, jako je kosmetika (např. šampony). Nepostradatelnou součástí



dnešních receptur šamponů je 1-(3-laurylamino)propyl-1,1-dimethylacetobetain. Mezi další typy amfolytických tenzidů patří sulfobetainy nebo alkylaminokarboxylové kyseliny [7-8].

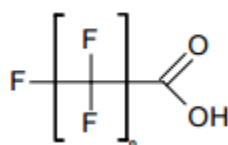
#### 1.4.4 Neiontové tenzidy

Molekuly těchto tenzidů nedisociují ve vodném roztoku. Rozpustnost těchto sloučenin ve vodě umožňuje přítomnost funkčních skupin (polární aminoskupina, etherická a hydroxylová skupina), které mají silnou afinitu k vodě. Mezi základní suroviny, které se používají pro výrobu neiontových tenzidů, patří vyšší mastné kyseliny, alkoholy a alkylfenoly, které spolu s etylenoxidem poskytují acylpolyglykoethery, alkylpolyglykoethery nebo alkylfenolpolyglykoethery. Neiontové tenzidy představují přibližně 45 % celkové průmyslové výroby [5,7].

### 1.5 Perfluorované karboxylové kyseliny

#### 1.5.1 Chemická struktura a vlastnosti

Perfluorované karboxylové kyseliny (PFCAs) jsou organické látky, ve kterých jsou všechny atomy vodíku v alkylovém skeletu zcela nahrazeny atomy fluoru. Jejich molekuly se skládají z hydrofobního uhlíkového řetězce v délce C<sub>4</sub>-C<sub>14</sub> a hydrofilní funkční karboxylové skupiny. Strukturální vzorec perfluorované karboxylové kyseliny je znázorněn na obr. 1. Vzhledem k jejich amfipatické povaze našly uplatnění jako PAL. Po překročení kritické micelární koncentrace agregují do micel. Mají schopnost snižovat povrchové napětí a jsou výbornými smáčedly a čisticími prostředky. S rostoucím počtem atomů uhlíků v uhlíkovém řetězci se snižuje jejich rozpustnost ve vodě. Vyšší perfluorované karboxylové kyseliny jsou silnými kyselinami a jsou chemicky velmi stálé. Přehled vybraných perfluorovaných karboxylových kyselin je uveden v tab. 1. PFCAs nepodléhají biologickému rozkladu, hydrolýze, fotolýze, v organismech nejsou metabolizovány [9-11].



**Obr. 1:** Strukturální vzorec perfluorované karboxylové kyseliny.

Perfluorooktanová kyselina (PFOA) patří mezi typické zástupce PFCAs. Je nezbytnou látkou při produkci fluoropolymerů, které jsou základem pro výrobu nepřilnavých látek, jako je teflon. Využívá se také ve stavebnictví, letectví nebo v automobilovém a textilním průmyslu [12].

**Tab. 1:** Přehled vybraných perfluorovaných karboxylových kyselin.

Funkční vzorec	Zkratka	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Krafftova teplota (°C)
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	PFBA	214,04	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	PFPeA	264,05	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	PFH <sub>x</sub> A	314,05	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH	PFH <sub>p</sub> A	364,06	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH	PFOA	414,07	20,0
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH	PFNA	464,08	48,3
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH	PFDA	514,08	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> COOH	PFUnDA	564,09	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	PFDoDA	614,10	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> COOH	PFTTrDA	664,11	*
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH	PFTeDA	714,11	*

\* nedostupné hodnoty

### 1.5.2 Výroba PFCAs

Elektrochemická fluorace (ECF) se řadí mezi první způsoby výroby PFCAs. Byla objevena v roce 1937 Josephem H. Simonsem [13]. ECF je založena na reakci mezi organickou surovinou (např. 1-oktansulfonylfluoridem) a bezvodým fluorovodíkem při napětí 5-7 V. Generovaný elektrický proud způsobí, že vodíkové atomy z uhlíkového řetězce jsou nahrazeny atomy fluoru. Během procesu může docházet k fragmentaci a přeskupení uhlíkového řetězce. Výslednými produkty jsou různě dlouhé plně fluorované uhlíkové řetězce a směsi lineárních, rozvětvených a cyklických izomerů [12,14].

Jednou z dalších možností výroby PFCAs je Haszeldinova metoda neboli telomerace. Tato metoda byla původně vyvinuta Haszeldinem v roce 1949 a upravena společností Du Pont Company v roce 1969 [15]. Komerčně je využívána reakce tetrafluoroethylenu s pentafluoroethyljodidem. Reakce probíhá působením UV záření při normální teplotě nebo je termicky iniciovaná teplotou 200-240 °C. Produktem reakce je směs látek, která se liší délkou uhlíkatého řetězce. U této metody vznikají pouze produkty, které mají perfluorovaný lineární alkylový řetězec [12].

### **1.5.3 Využití PFCAs**

Americká společnost 3M Company (Minnesota Mining and Manufacturing Company) byla a je největším producentem perfluorovaných látek. Společnost 3M produkuje nejen finální výrobky, ale také produkty, které jsou prodávány na další zpracování jiným společnostem. Díky svým mimořádným vlastnostem se perfluorované karboxylové kyseliny v minulosti hojně využívaly v celé řadě různých odvětví, jako je výroba čisticích prostředků; nátěrových hmot; výroba insekticidů a pesticidů; ošetřování povrchů tkanin, kobereců, papíru a textilií [16].

V současnosti nacházejí PFCAs uplatnění ve fotografickém průmyslu, dále se uplatňují při výrobě hydraulických kapalin, pokovovaných předmětů, také polovodičů a aditiv hasicích pěn [14].

## 1.6 Kritická micelární koncentrace a možnosti ovlivnění její hodnoty

Pojem kritická micelární koncentrace (cmc) je definován jako koncentrace tenzidu v roztoku, při které se molekuly povrchově aktivních látek začínají samovolně agregovat do micel. Hodnota cmc se označuje spíše jako koncentrační rozmezí, ačkoli se v literatuře mnohdy operuje s konkrétní číselnou hodnotou. Se zvyšujícím se počtem uhlíků v alkylovém řetězci povrchově aktivních látek hodnota cmc klesá, neboť se zmenšuje skutečná rozpustnost a vzrůstá tendence molekul tenzidů k asociaci. Mezi faktory, které ovlivňují hodnotu cmc patří teplota, pH a iontová síla roztoku a přítomnost organického modifikátoru (např. acetonitril). Pro iontové typy tenzidů obecně platí, že se zvyšující se teplotou roztoku roste hodnota kritické micelární koncentrace. Naopak je tomu u neiontových tenzidů, kde hodnota cmc tenzidů klesá s rostoucí teplotou [17-19].

U iontových tenzidů je vliv složení elektrolytu na hodnotu cmc výrazný a silně ovlivňuje tvorbu micel. Naopak u neiontových tenzidů bývá zanedbatelný. Zvýšením iontové síly roztoku se kritická micelární koncentrace tenzidu snižuje. To lze zdůvodnit tím, že iontové tenzidy se ve vodném roztoku nachází v rovnováze a po přidání protiiontů se rovnováha posouvá ve směru těžko rozpustných nedisociovaných forem [1,20].

Tyto faktory vedou k potřebě stanovit hodnotu kritické micelární koncentrace tenzidu v pracovním roztoku za takových podmínek, za jakých bude analýza probíhat.

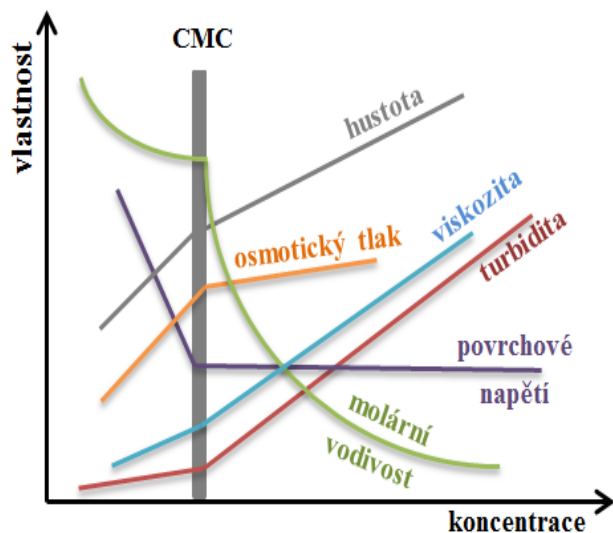
### 1.6.1 Vznik a vlastnosti micel

Tenzidy se při nízkých koncentracích v roztoku samovolně rozpouštějí, tvoří koloidní soustavu a molekuly tenzidů se vyskytují ve formě monomerů. Teprve se zvyšující se koncentrací tenzidu, se jejich molekuly samovolně agregují ve vodném roztoku a vytváří útvary koloidních rozměrů, tzv. micely. Ty vznikají na základě rozdílnosti mezimolekulových sil mezi rozpouštědlem a tenzidem [1].

Pro dosažení cmc je nutné dosáhnout i dostatečně vysoké teploty (Krafftova teplota), při níž rozpustnost PAL dosahuje hodnoty cmc. V oblasti cmc dochází vlivem vzniku micel k celé řadě změn vlastností roztoku tenzidu, viz obr. 2 (např. povrchové napětí, osmotický tlak, vodivost, solubilizace). Jádru micel má opačný charakter než použité rozpouštědlo, to znamená, že ve vodě je uvnitř micely tenzidu nepolární prostředí. Při vytváření micel se

uvolňuje adhezní energie uhlovodíkové části. S rostoucí koncentrací tenzidu se povrchové napětí jejich vodných roztoků až do hodnoty cmc prudce zmenšuje a pak se téměř nemění.

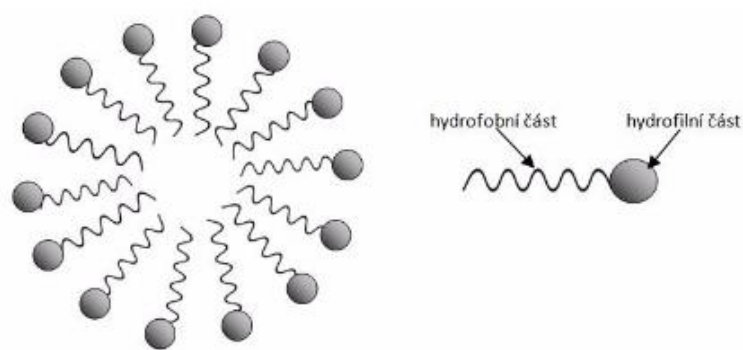
Tvorbu micel lze popsat také z termodynamického hlediska. Micely vznikají díky rovnováze mezi entalpií a entropií a projevuje se zde i tzv. „hydrofobní efekt“, který je považován za hnací sílu samovolného chování molekul PAL ve vodném prostředí, a dokáže překonat pokles entropie způsobený vznikem micel. Nad hodnotou cmc je pokles entropie způsobený agregací molekul tenzidu do micely menší než nárůst entropie, který je způsobený obalením micely molekulami vody. Je nutné uvažovat také elektrostatické interakce mezi částmi tenzidu s nábojem [20-22].



**Obr. 2:** Fyzikální vlastnosti roztoku tenzidů [23].

### 1.6.2 Struktura a tvar micel

Struktura molekuly tenzidu s jedním koncem molekuly nepolárním a druhým polárním umožňuje tvorbu micel, viz obr. 3. Ve vodném prostředí se tenzidy v micelách orientují nepolárním řetězcem dovnitř micely a polární skupinou ven. Uvnitř micely vzniká nepolární prostředí, kde se mohou vyskytovat nepolární látky, jako například kontaminanty [19].



**Obr. 3:** Struktura micely a molekuly PAL.

Nejčastější tvar micel je kulovitý, mohou však vytvářet i elipsoidy, válce a dvojvrstvy. Tvar a velikost micel jsou ovlivněny jak geometrií molekuly a koncentrací tenzidu, tak i vlastnostmi roztoku, jako např. teplotou, pH a iontovou silou. Při velmi nízké koncentraci je tenzid v roztoku přítomen ve formě volných rozpuštěných molekul. Některé z nich difundují na povrch rozpouštědla, kde se hromadí na fázovém rozhraní mezi kapalnou a plynnou fází a vytvářejí tzv. monomolekulární vrstvu povrchového filmu. Při dosažení cmc se začínají vytvářet malé kulovité micely (Hartleyovy micely), jejich poloměr je přibližně roven délce molekuly tenzidu. Dalším zvyšováním koncentrace ubývá množství rozpouštědla mezi micelami, které se uspořádávají do větších válcovitých útvarů. Ještě vyšší koncentrace vytváří fáze kapalných krystalů, nejprve ve formě tzv. hexagonálního uspořádání, dále kubické bikontinuální fáze a lamelární fáze. Lamelární micely (McBainovy micely) se skládají z vrstev rozpouštědla a dvojitých řad amfipatických molekul tenzidu tak, že hydrofobní části jsou paralelně uloženy uvnitř řady v důsledku hydrofobních interakcí. Vyskytují se v koncentrovanějších roztocích tenzidů [24-25].

Počet molekul tenzidu tvořících jednu micelu se nazývá agregační číslo ( $n$ ). Agregační číslo se ve vodném prostředí zvyšuje s rostoucí délkou hydrofobního řetězce a naopak klesá s narůstající velikostí hydrofilní části tenzidu. Hodnota agregačního čísla závisí na změně vnějších vlivů, teplotě i tvaru micely. Tvar micel má význam pro stanovení řady vlastností roztoku tenzidu, jako např. viskozita, schopnost solubilizace a bod zákalu [24-26].

## 1.7 Stanovení kritické micelární koncentrace

Jednotlivé metody používané pro stanovení kritické micelární koncentrace vycházejí ze sledování závislosti fyzikálně-chemických vlastností roztoku tenzidu na koncentraci daného tenzidu v systému, viz obr. 2. K stanovení cmc se využívá měření povrchového napětí, elektrické vodivosti; z elektrochemických metod to může být cyklická voltametrie nebo potenciometrie, dále pak infračervená spektrometrie, NMR a fluorescenční spektroskopie [27-28]. V poslední době se často využívají elektroforetické metody v oblasti separačních procesů. Bylo navrženo několik technik pro stanovení kritické micelární koncentrace pomocí instrumentace pro kapilární elektroforézu [29]. Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na ty metody, kterými lze stanovit kritickou micelární koncentraci perfluorovaných karboxylových kyselin s využitím kapilární elektroforézy.

### 1.7.1 Metoda založená na měření proudu

Tuto metodu pro stanovení kritické micelární koncentrace vycházející z měření proudu, který prochází kapilárou naplněnou roztokem tenzidu, poprvé popsal a aplikoval Tickle a kol. [30]. Později byla podrobněji popsána Cifuentesem a kol. [31], který na práci Tickleho navázal a popsal metodu měření elektrického proudu pomocí instrumentace pro kapilární elektroforézu založenou na vodivosti iontových povrchově aktivních látek v roztoku elektrolytu, závislou na agregačním stavu PAL. Dle Ohmova zákona závisí intenzita proudu  $I$  na hodnotě vloženého napětí  $V$  na kapiláru, která je naplněna roztokem iontového tenzidu podle rovnice:

$$I = \frac{\pi d_c^2 F (\mu_s + \mu_x) c_s}{4L} V \quad (1)$$

kde  $F$  je Faradayova konstanta,  $d_c$  je vnitřní průměr kapiláry,  $L$  je délka kapiláry,  $\mu_s$  je pohyblivost tenzidu,  $\mu_x$  je pohyblivost protiiontu a  $c_s$  je koncentrace tenzidu v roztoku. Tato rovnice platí pro roztoky, jejichž koncentrace je nižší než cmc. Pro oblast koncentrací tenzidu nad hodnotou cmc platí následující vztah:

$$I = \frac{\pi d_c^2 F (\mu_s + \mu_x) cmc + (\mu_x + \mu_{mic})(1 - \theta)(c_s - cmc)}{4L} V \quad (2)$$

kde  $\mu_{mic}$  je pohyblivost micel a  $\theta$  je molární zlomek protiiontu uzavřeného v micelách (obvykle v rozsahu hodnot 0,6 – 0,8) [32].

Hodnota kritické micelární koncentrace se určí z průsečíku dvou přímek získaných proložením koncentračních závislostí měřené veličiny nad a pod hodnotou  $c_{mc}$  [31]. Pomocí této metody se dají stanovit pouze kationtové a aniontové tenzidy [19].

### 1.7.2 Metoda založená na měření viskozity

Jednoduchá metoda pro zjištění kritické micelární koncentrace vychází z principu Poiseuillova zákona o laminárním proudění kapaliny [33]. Viskozitu povrchově aktivních látek lze získat měřením hydrodynamického průtoku roztoků tenzidů, jak v monomerní, tak v micelární oblasti. Jedná se o spolehlivou metodu pro měření viskozity malých molekul, roztoků polymerů a iontových kapalin [34]. Stanley a kol. [35] úspěšně použili kapilární elektroforézu pro studium relativní viskozity roztoků tenzidů v monomerní i micelární oblasti. Relativní viskozitu lze vyjádřit jako podíl dynamické viskozity roztoku  $\eta$  a rozpouštědla  $\eta_0$  podle rovnice:

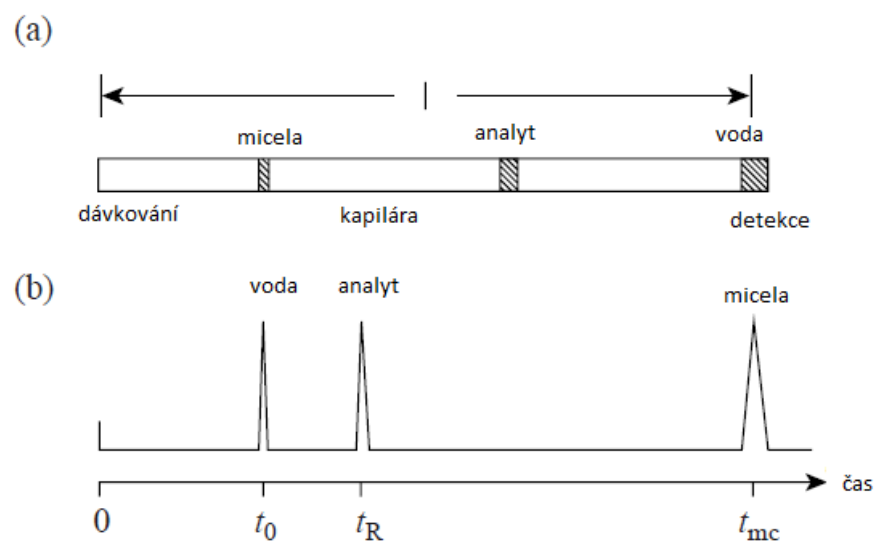
$$\eta_r = \eta/\eta_0 \quad (3)$$

Iontová síla ani pH, měnící se díky přidaným elektrolytům, nezpůsobují významnou změnu průběhu závislosti viskozity na koncentraci povrchově aktivních látek [20]. Kritická micelární koncentrace se určí, jako průsečík dvou přímek získaných nad a pod hodnotou  $c_{mc}$  [34].

### 1.7.3 Zónové metody

Zónové elektroforetické metody využívané pro stanovení kritické micelární koncentrace vycházejí z principu micelární elektrokinetické chromatografie (MEKC), viz obr. 4, a kapilární zónové elektroforézy. Tyto metody byly vyvinuty, aby rozšířily rozsah použití kapilární elektroforézy pro stanovení  $c_{mc}$ . Pomocí těchto metod lze stanovit  $c_{mc}$  jak iontových tenzidů, tak i tenzidů neiontových [36].





**Obr. 4:** Schématické znázornění (a) zón analytů separovaných v kapiláře a (b) typický elektrokinetický chromatogram z MEKC.  $t_0 = t_{eof}$ : migrační čas elektroosmotického toku;  $t_R$ : retenční čas neutrálního analytu;  $t_{mic}$ : migrační čas micel [36].

### 1.7.3.1 Metoda založená na měření retenčního faktoru

Retenční faktor,  $k$ , je v micelární elektrokinetické chromatografii definován rovnicí [36]:

$$k = K_{mic} \frac{V_{mic}}{V_{aq}} = K_{mic} \frac{\nu(c_t - cmc)}{1 - \nu(c_t - cmc)} \quad (4)$$

kde  $K_{mic}$  je distribuční konstanta analytu mezi pseudostacionární a vodnou mobilní fází,  $V_{mic}$  a  $V_{aq}$  jsou objemové frakce obou fází (objem micel a objem vodné fáze),  $\nu$  je specifický objem micely tenzidu a  $c_t$  je celková koncentrace tenzidu. Výraz  $\nu(c_t - cmc)$  je mnohem menší než 1, proto může být retenční faktor zjednodušeně vyjádřen jako:

$$k = K_{mic} \nu(c_t - cmc) \quad (5)$$

Retenční faktor pro neutrální analyty lze vypočítat ze znalosti jejich retenčního času  $t_R$ , elektroosmotického toku  $t_{eof}$  a migračního času micel  $t_{mic}$  podle rovnice [37]:

$$k = \frac{t_R - t_{eof}}{t_{eof} \left(1 - \frac{t_R}{t_{mic}}\right)} \quad (6)$$

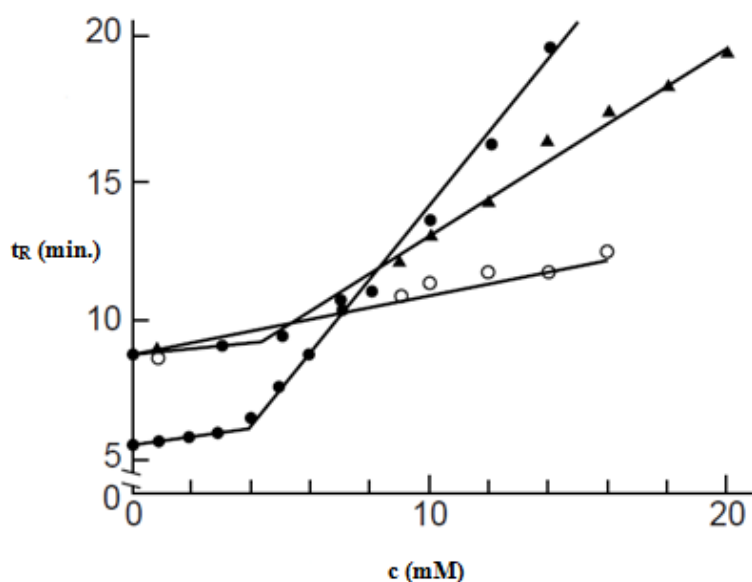
Abychom mohli vypočítat hodnotu retenčního faktoru, je důležité znát migrační čas elektroosmotického toku a migrační čas micel. Pro stanovení migračního času elektroosmotického toku se používají malé neutrální molekuly, které neinteragují s micelami, jako např. thiomocovina nebo uracil. Migrační čas micel lze stanovit pomocí barviva Sudan III nebo použitím iteračního postupu [38]. Vypočítaný retenční faktor analytu je závislý na celkové koncentraci tenzidu v základním elektrolytu. Výsledným grafickým znázorněním je přímka, která protíná  $x$ -ovou osu v hodnotě, která odpovídá kritické micelární koncentraci. Přesnost této metody závisí na tom, s jakou přesností je možné určit  $t_{eof}$  a  $t_{mic}$ .

### 1.7.3.2 Metoda založená na měření retenčního času

Pro zlepšení přesnosti stanovení kritické micelární koncentrace Nakamura a kol. [39] navrhl přímé vynesení retenčního času v závislosti na koncentraci tenzidu v pracovním elektrolytu. Tato metoda založená na měření retenčního času by měla být oproti předchozí metodě přesnější, jelikož nepotřebujeme znát migrační čas micel ani migrační čas elektroosmotického toku. Vztah retenčního času k retenčnímu faktoru je popsán rovnicí:

$$t_R = \frac{t_{eof}(1+k)}{1 + \left(\frac{t_{eof}}{t_{mic}}\right)k} \quad (7)$$

Pokud probíhá analýza v oblasti pod hodnotou kritické micelární koncentrace, dochází k tomu, že neutrální analyt migruje společně s elektroosmotickým tokem, který se vytváří disociací silanových skupin na vnitřní stěně kapiláry. V oblasti nad cmc se migrační čas analytu prodlužuje, jelikož dochází k interakcím mezi analytem a micelami. Na obr. 5 je experimentální závislost migračního času toluenu, 2-naftalenmetanolu a naftolu na koncentraci dodecylsírany sodného v 20 mM fosfátovém pufru o pH 7,00 při teplotě 40 °C [32].



**Obr. 5:** Experimentální závislost migračního/retenčního času analytu na koncentraci dodecylsírany sodného v 20 mM fosfátovém pufru o pH 7,00, teplota 40 °C. ○ toluen; ● 2-naftalenmetanol; ▲ naftol [39].

### 1.7.3.3 Metoda založená na měření pohyblivosti

Tato metoda byla představena Jacquierem a Desbènem [40], kteří ve své práci stanovovali kritickou micelární koncentraci dodecylsírany sodného (SDS) pomocí efektivní elektroforetické pohyblivosti neutrální sloučeniny. Efektivní elektroforetická pohyblivost analytu  $\mu_{eff}$  v elektrolytu s koncentrací tenzidu nižší než je jeho cmc, je dána vztahem:

$$\mu_{eff} = \frac{K_{solv} c_t}{1 + K_{solv} c_t} \mu_{solv} \quad (8)$$

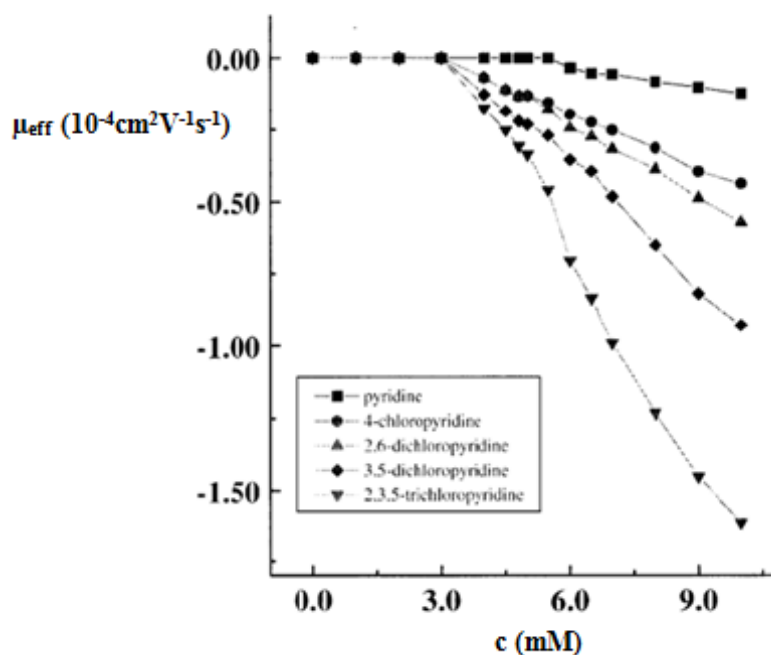
kde  $K_{solv}$  je rovnovážná konstanta, která popisuje interakci mezi analytem a monomerem tenzidu,  $c_t$  je celková koncentrace tenzidu v systému a  $\mu_{solv}$  je pohyblivost komplexu analytu s monomerem.

V elektrolytu s koncentrací tenzidu vyšší než je jeho kritická micelární koncentrace je možné vypočítat efektivní elektroforetickou pohyblivost analytu podle vztahu:

$$\mu_{eff} = \frac{K_{solv} cmc}{1 + K_{solv} cmc + K_{mic}(c_t - cmc)/n} \mu_{solv} + \frac{K_{mic}(c_t - cmc)/n}{1 + K_{solv} cmc + K_{mic}(c_t - cmc)/n} \mu_{mic} \quad (9)$$

kde  $K_{mic}$  je rovnovážná konstanta popisující interakci mezi analytem a micelou,  $\mu_{mic}$  je pohyblivost micel a  $n$  je agregační číslo tenzidu [32].

Na obr. 6 je znázorněna závislost efektivní elektroforetické pohyblivosti některých neutrálních analytů jako funkce celkové koncentrace dodecylsírany sodného. Plochá část na levé straně této křivky ukazuje, že interakce mezi analytem a monomerem tenzidu jsou zanedbatelné. Koncentrace tenzidu, odpovídající prvnímu zlomu na křivce, se nazývá kritická agregační koncentrace. Při této koncentraci se monomery tenzidu začínají shlukovat do micel. Druhý zlom na křivce se označuje jako  $c_2$  koncentrace, kde dochází ke zvětšování shluků monomerů tenzidu v důsledku zvyšování koncentrace tenzidu v elektrolytu. Hodnota cmc se nachází v rozmezí mezi kritickou agregační koncentrací a  $c_2$  koncentrací [41].



**Obr. 6:** Experimentální závislost efektivní elektroforetické pohyblivosti pyridinových derivátů na koncentraci SDS v 20 mM fosfátovém pufru o pH 7,00, teplota 25 °C [41].

#### 1.7.3.4 Další metody pro stanovení kritické micelární koncentrace

Mezi další metody, které lze použít pro stanovení cmc povrchově aktivních látek, se řadí metoda založená na měření zeta potenciálu,  $\zeta$  [42]. Tento parametr může být ve vztahu k elektroforetické pohyblivosti popsán prostřednictvím modifikované Smoluchowského rovnice [29]:

$$\zeta = \frac{3 \eta \mu_{eff}}{2 \varepsilon f(\kappa a)} \quad (10)$$

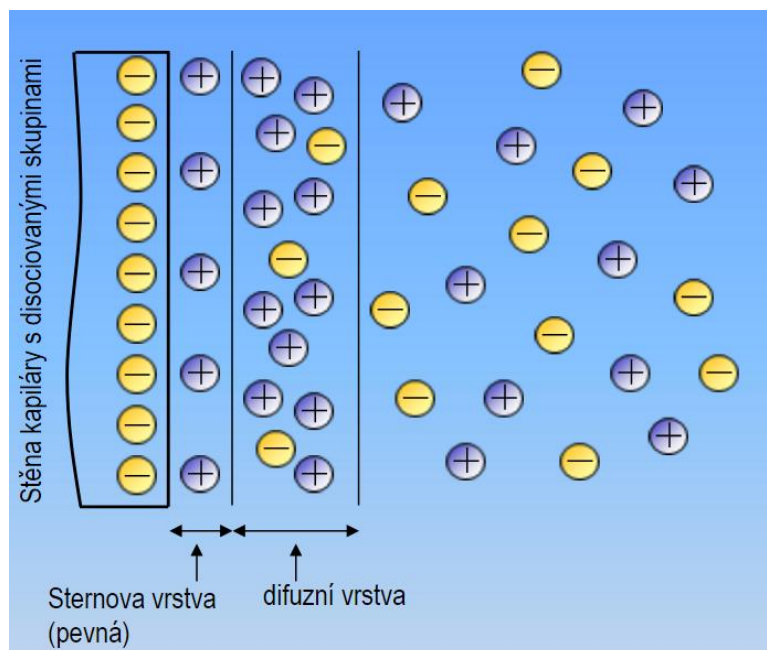
kde  $\eta$  je dynamická viskozita elektrolytu,  $\varepsilon$  je dielektrická konstanta,  $\kappa$  je reverzní Debyeova délka,  $a$  je poloměr částice a  $f(\kappa a)$  je Henryho korekční funkce.

## 1.8 Kapilární elektroforéza

Kapilární elektroforéza (CE) patří mezi elektromigrační separační techniky, které jsou moderními analytickými nástroji, umožňující rychlou a účinnou separaci nabitých složek přítomných v malém objemu vzorku. Separace látek je založena na rozdělení analyzované směsi v závislosti na jejich rozdílné pohyblivosti ve stejnosměrném elektrickém poli. Separace probíhá uvnitř kapiláry, která je naplněna roztokem základního elektrolytu (pufro) [43]. Látky nesoucí náboj se pohybují konstantní rychlostí, která je úměrná jejich velikosti a velikosti jejich nábojů; kationty migrují k záporně nabitě elektrodě (katodě) a anionty ke kladně nabitě elektrodě (anodě). Neutrální látky nejsou přitahovány k žádné elektrodě a pohybují se kapilárou rychlostí elektroosmotického toku [44].

### 1.8.1 Elektroosmotický tok

Elektroosmotický tok (EOF) je důležitým jevem v kapilární elektroforéze (CE) a vzniká disociací silanových skupin ( $-\text{SiOH}$ ) na vnitřní stěně křemenné kapiláry, viz obr. 7. Důsledkem této disociace se vytváří na vnitřní stěně kapiláry přebytek záporného elektrického náboje. K tomuto přebytku záporného náboje je elektrostatickými silami vázaná vrstva kladně nabitých iontů základního elektrolytu (pufro) a společně vytvářejí elektrickou dvojvrstvu (tzv. Sternova vrstva). Tato elektrická dvojvrstva tvoří tzv. elektrokinetický potenciál, neboli zeta-potenciál ( $\zeta$ -potenciál), který je určen velikostí náboje na stěně kapiláry. Po vložení elektrického napětí na kapiláru se kladně nabitě ionty pufro, tvořící difúzní část elektrické dvojvrstvy, začnou pohybovat směrem ke katodě a třením s sebou strhávají i okolní molekuly vody. Vzhledem k vnitřnímu tření a malému průměru kapiláry dochází k pohybu celého roztoku směrem ke katodě. Tento jev se nazývá elektroosmóza [45-47].



**Obr. 7:** Elektroosmotický tok v křemenné kapiláře [48].

EOF je velmi závislý na pH základního elektrolytu, jelikož zeta potenciál roste s disociací kyselých silanolových skupin na povrchu kapilární stěny. Nad hodnotou  $\text{pH} > 9$  je elektroosmotický tok nejsilnější, protože  $-\text{SiOH}$  skupiny jsou plně disociovány [49]. Pohyblivost EOF lze vyjádřit rovnicí (11) a rychlost EOF lze spočítat z pohyblivosti EOF, z napětí vloženého na kapiláru a délky kapiláry podle rovnice (12):

$$\mu_{eof} = \frac{\varepsilon \cdot \zeta}{4 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad (11)$$

$$v_{eof} = \mu_{eof} \cdot E = \mu_{eof} \cdot \frac{U}{l} \quad (12)$$

kde  $\mu_{eof}$  je pohyblivost EOF,  $\varepsilon$  je permitivita základního elektrolytu,  $\eta$  je viskozita,  $\zeta$  je zeta potenciál,  $r$  je poloměr kapiláry,  $U$  je napětí vložené na kapiláru a  $l$  je délka kapiláry.

### 1.8.2 Jouleovo teplo

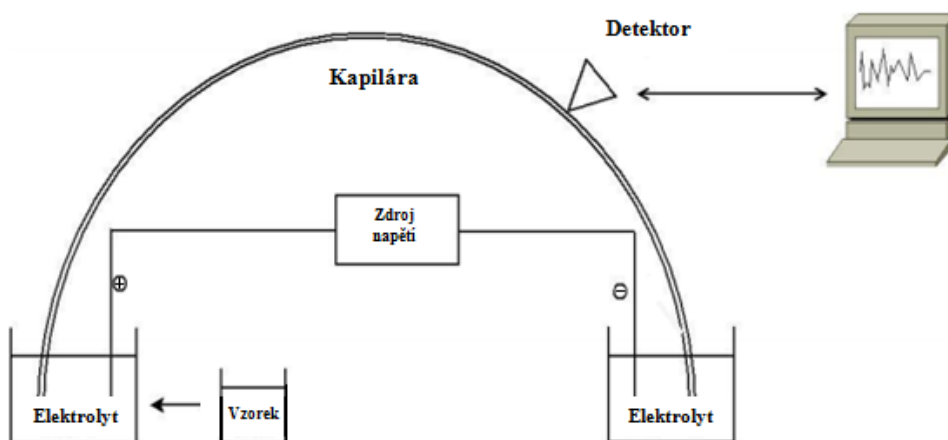
Při průchodu elektrického proudu kapilárou naplněnou roztokem elektrolytu dochází k tepelnému pohybu částic a k zahřívání roztoku. Tento jev je nazýván Joulovým teplem. Elektrický ohřev roztoku je hlavním faktorem, který limituje velikost vloženého napětí a tím velikost procházejícího proudu, a tedy i dobu separace. Produkce Jouleova tepla má za

následek vznik teplotních gradientů a tím i vznik dalších nehomogenit fyzikálně-chemických vlastností roztoku [50].

### 1.8.3 Kapilární zónová elektroforéza

Nejjednodušší elektromigrační technikou je kapilární zónová elektroforéza (CZE). Separace v CZE je založena na rozdílné elektroforetické pohyblivosti látek ve stejnosměrném elektrickém poli, kde se analyty iontů rozdělují do jednotlivých zón, které jsou na konci kapiláry vhodným způsobem detekovány. Oba konce křemenné kapiláry, ve které dochází k analýze, jsou ponořeny do elektroforetických nádobek, které jsou naplněny roztokem základního elektrolytu (BGE), jimž je naplněna též kapilára, viz obr. 8. Pohyb zón vzorku v kapiláře je nejčastěji sledován pomocí UV–VIS detektoru. Získaný záznam z detektoru, tzv. elektroforegram, nám dává kvalitativní a kvantitativní informace o složení analyzovaného vzorku. Kvalitativní informace o analytu poskytuje poloha píku dané látky (migrační čas), kvantitativní informace jsou získávány z plochy daného píku. V kapilární zónové elektroforéze je vzorek dávkován do základního elektrolytu, jehož koncentrace je zpravidla mnohem vyšší než koncentrace samotného vzorku. Mezi výhody této separační techniky řadíme vysokou účinnost separace, snadnou a rychlou manipulaci s přístrojem, nízké náklady na provoz a malou spotřebu vzorku [43,51-52].

Kapilární zónová elektroforéza je vhodná technika pro separace molekul s nábojem. CZE se nehodí pro separace neutrálních molekul, které se dají separovat pomocí MEKC za přítomnosti tenzidu (např. SDS) v pracovním elektrolytu [53].



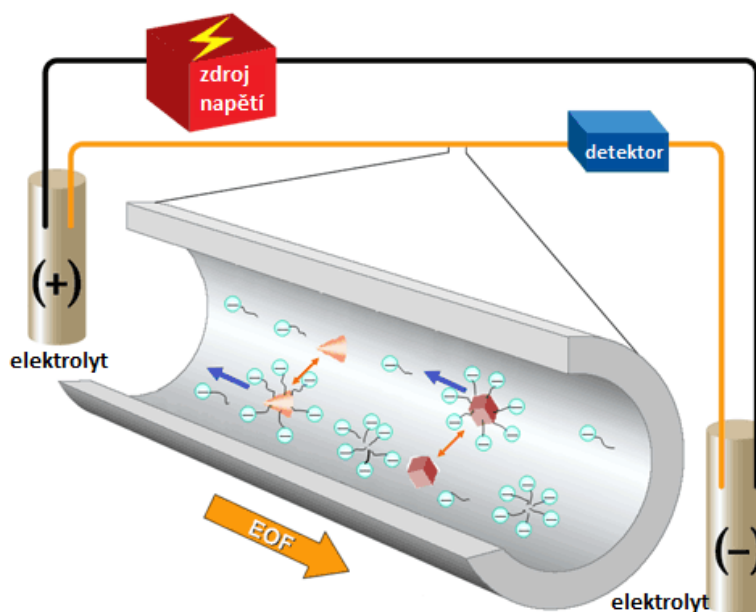
**Obr. 8:** Schéma přístroje pro kapilární zónovou elektroforézu [51].



### 1.8.4 Micelární elektrokinetická chromatografie

Jedná se o elektromigrační separační techniku [47], která byla vyvinuta Terabem a kol. [54] v roce 1984 pro separaci neutrálních molekul hydrofobní i hydrofilní povahy, které se separují v důsledku jejich rozdílné interakce s micelami. Umožňuje však separaci i elektricky nabitých látek. Jde o separační techniku kombinující elektrokinetické jevy (elektroforézu, elektroosmózu) a chromatografický princip. Dochází k distribuci analyzovaných látek mezi pseudostacionární fází, která je tvořena např. micelami iontového tenzidu (SDS) a vodnou fází roztoku nosného elektrolytu. Pseudostacionární fáze je v kapiláře naplněné základním elektrolytem rozptýlena homogenně.

Koncentrace tenzidu musí být vyšší než je jeho cmc, aby byla zajištěna přítomnost micel v roztoku. Micely se záporným nábojem se pohybují směrem k anodě, avšak vlivem vysokého elektroosmotického toku je jejich zdánlivý pohyb směrem ke katodě. Neutrální analyt se v době interakce s micelou pohybuje stejnou rychlostí jako micely a v době, kdy s micelami neinteragují se pohybují rychlostí elektroosmotického toku. Všechny látky, které jsou ve vzorku přítomné, migrují v oblasti, která se nazývá migrační okno (obr. 4). Tato oblast je z jedné strany ohraničena migračním časem EOF a z druhé strany je ohraničena migračním časem micel. Migrační čas EOF lze určit pomocí látek, které s micelami neinteragují (např. thiomocovina) [43,55-57].

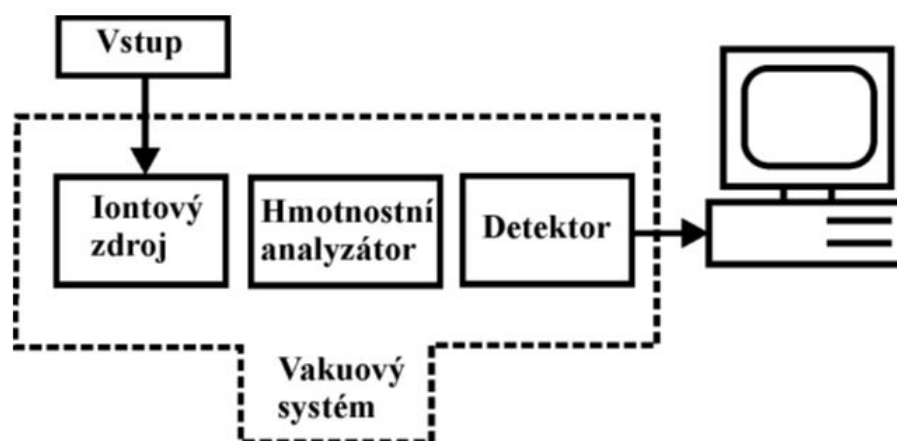


**Obr. 9:** Schéma micelární elektrokinetické chromatografie [58].

## 1.9 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická technika, která slouží k převedení molekul na ionty, rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) a následnému záznamu relativních intenzit jednotlivých iontů. Zařízení, které rozlišuje ionty podle poměru jejich  $m/z$  se nazývá hmotnostní spektrometr [61]. Toto zařízení se skládá ze tří základních částí: iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a hmotnostního detektoru, viz obr. 10. Iontový zdroj slouží k převedení neutrálních molekul analytu na nabitě částice (ionty). Hmotnostní spektrometrie využívá různé ionizační techniky, které se na základě fyzikálně-chemických vlastností analytu dělí na měkké a tvrdé ionizační techniky. Tvrdé ionizační techniky způsobují rozsáhlou fragmentaci molekul a řadí se sem např. elektronová ionizace (EI). Naopak měkké ionizační techniky pracují šetrněji a nedochází k tak rozsáhlé fragmentaci molekul, jedná se např. o chemickou ionizaci (CI). Ionizace může probíhat za sníženého i atmosférického tlaku. Mezi ionizační techniky, které pracují za atmosférického tlaku, patří: chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI) a ionizace elektrosprejem (ESI). Za sníženého tlaku se používá např. ionizace/desorpce laserem za přítomnosti matrice (MALDI). Po převedení neutrálních molekul analytu na ionty, putují ionty do hmotnostního analyzátoru, který slouží k rozdělení iontů v plynné fázi za vysokého vakua (cca  $10^{-3}$ - $10^{-11}$  Pa) podle poměru hmotnosti a náboje. Nejběžnějšími analyzátory jsou kvadrupól nebo iontová past. Jednotlivé ionty vycházející z hmotnostního analyzátoru jsou detekovány pomocí elektronového násobiče, fotonásobiče nebo Faradayovy klece [59,61].

Výhodou této metody je její vysoká citlivost, minimální spotřeba vzorku a možnost jak kvalitativní analýzy (určení molární hmotnosti  $M_R$  a dalších strukturních informací), tak kvantitativní analýzy (odezva detektoru je závislá na koncentraci). Naopak nevýhodou jsou vysoké pořizovací a provozní náklady [59,61].



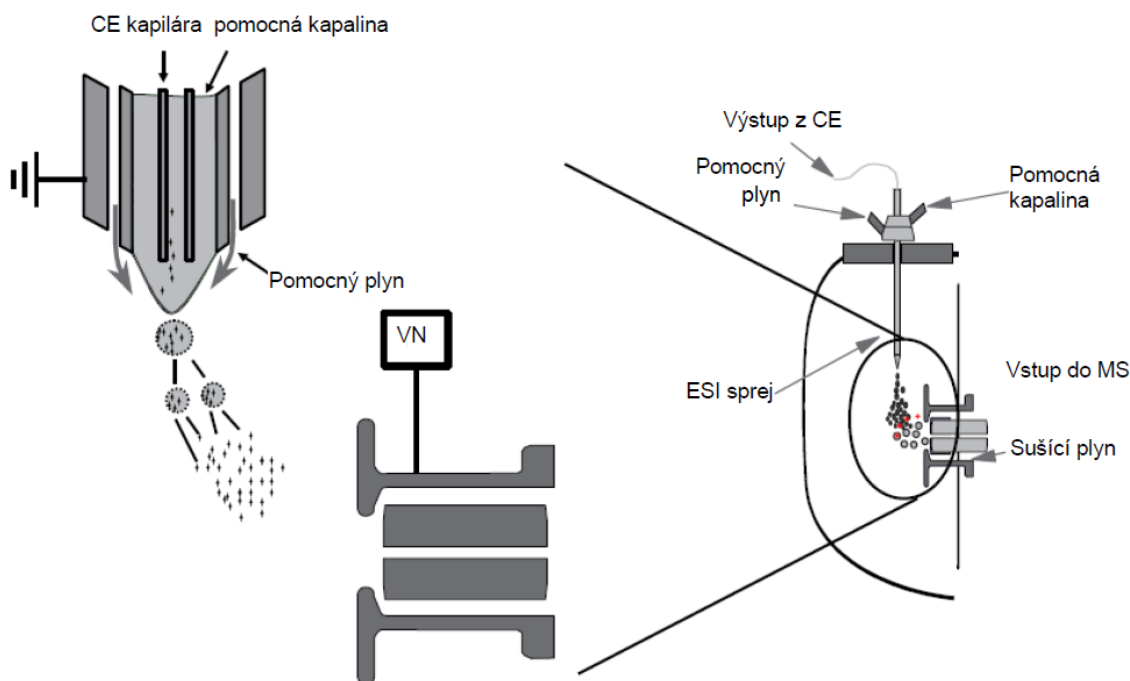
**Obr. 10:** Schéma základních částí hmotnostního spektrometru.

### 1.9.1 Spojení MEKC s MS

Použití povrchově aktivních látek pro separaci je kompatibilní s většinou optických detekčních systémů, včetně UV-VIS absorpční spektrometrie a fluorescenční spektrometrie. UV-VIS detekce je vzhledem k velmi malému vnitřnímu průměru kapiláry a velmi nízkým dávkovaným objemům málo citlivá. Citlivější detekci poskytuje hmotnostní spektrometrie [62].

Spojení MEKC s MS poskytuje účinný analytický nástroj s vynikajícími separačními schopnostmi, identifikací a charakterizací analytů. Spojení CE s MS může být realizováno pomocí spojení s přídavným tokem kapaliny, s vodivým kapalným spojením nebo spojením bez přídavného toku kapaliny [60]. Typickým iontovým zdrojem pro spojení MEKC s MS je ionizace elektrosprejem, protože účinně vytváří z netěkavých látek plynnou fázi iontů [62]. Tenzidy používané pro MEKC jsou až na některé výjimky netěkavé. Tato vlastnost tenzidů je pro MEKC-ESI-MS separace velmi limitující. Nízké koncentrace tenzidů často nevedou k dosažení potřebného rozlišení separace analytů a je tedy nutné jejich koncentraci zvýšit [63-64]. Alternativou ionizační techniky ESI je např. APPI nebo APCI. V případě využití těchto ionizačních technik je možné netěkavé tenzidy použít v elektrolytu bez toho, abychom museli zabránit jejich vstupu do iontového zdroje [65]. Praktickým řešením při ESI ionizaci je technika částečného plnění (PFT). Princip spočívá v naplnění kapiláry pracovním elektrolytem, který obsahuje netěkavou složku (tenzid, polymer) do definované části celkové délky křemenné kapiláry. Netěkavá složka elektrolytu se tak nedostane při analýze do iontového zdroje [65-66]. Nevýhodou částečného plnění je nižší účinnost separace a nižší

rozlišení. Alternativou může být použití perfluorovaného tenzidu, který je dostatečně těkavý a tím nedochází k významné kontaminaci iontového zdroje. Bylo publikováno několik studií využívající perfluorooktanové a perfluorooktansulfonové kyseliny a jejich amonné soli pro spojení MEKC-ESI-MS. Například Van Beisen [67] a Bottaro [67] demonstrovali úspěšnou analýzu MEKC-ESI-MS s použitím amonné soli perfluorooktanové kyseliny jako povrchově aktivní látky [59,62].



**Obr. 11:** Schematické zobrazení spojení MEKC-ESI-MS s přídavným tokem kapaliny [59].

Další možností pro analýzu neutrálních a nabitých molekul je off-line spojení MEKC-MALDI-MS. MEKC-MALDI-MS je účinná analytická technika schopná vynikající citlivosti. Avšak i zde mají vysoké koncentrace netěkavých povrchově aktivních látek (SDS) negativní účinek na spojení MALDI-MS [68].

## 2. Experimentální část

### 2.1 Použité chemikálie

Hydroxid sodný	Penta, Praha, ČR
Acetonitril	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Thiomočovina	Lachema, Brno, ČR
Dodecylsíran sodný (98 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

#### PERFLUOROVANÉ KYSELINY

Perfluoroheptanová kyselina (99 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Perfluorooktanová kyselina (96 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Perfluorononanová kyselina (97 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

#### PŘÍPRAVA ZÁKLADNÍHO ELEKTROLYTU

Octan amonný	Lachema, Brno, ČR
Mravenčan amonný	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Amoniak, vodný roztok (25-29 %)	Penta, Praha, ČR

#### ALKYLBENZENY

Toluen (99,52 %)	Lach-Ner, Neratovice, ČR
Ethylbenzen (99,8 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Propylbenzen (98 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo
Butylbenzen ( $\geq 99$ %)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Pentylbenzen

Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Hexylbenzen

Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

#### KETO LÁTKY

Aceton (99,5 %)

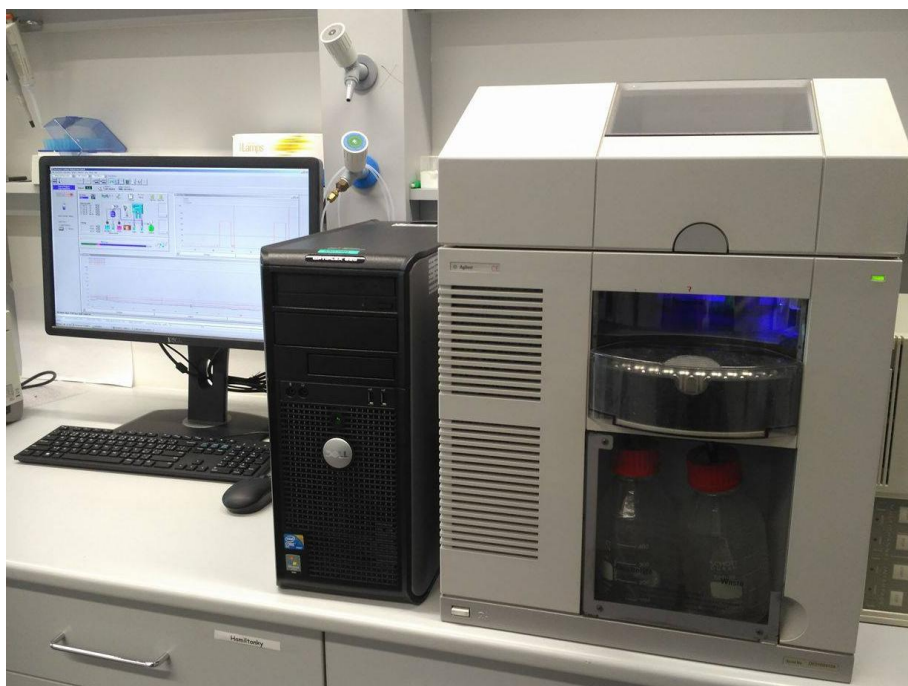
Penta, Praha, ČR

Methylethylketon (99 %)

Loba, Fischamend, Rakousko

## 2.2 Použité zařízení

Pro měření byla použita kapilární elektroforéza Agilent <sup>3D</sup>CE (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Toto zařízení se skládá z autosampleru, zdroje vysokého napětí, křemenné kapiláry (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) a UV/VIS detektoru s diodovým polem (DAD) (obr. 12). Vše bylo propojeno s počítačem, kde v programu ChemStation bylo možné nastavit podmínky analýzy a vyhodnotit naměřené údaje. Hodnota pH pufrů byla měřena pomocí pH metru 827 Metrohm (Švýcarsko). K navažování chemikálií byly použity analytické váhy Sartorius (Extend, Německo).



**Obr. 12:** Kapilární elektroforéza Agilent <sup>3D</sup>CE s UV/VIS detektorem.

## 2.3 Pracovní postup

### 2.3.1 Křemenná separační kapilára

Pro experimentální měření pomocí instrumentace pro CE s UV/VIS detektorem byla použita křemenná separační kapilára opatřená ochranným polyimidovým povlakem s vnitřním průměrem 50  $\mu\text{m}$  a celkovou délkou 50 cm. Efektivní délka kapiláry činila 42 cm, detekční okénko bylo vytvořeno opálením polyimidového povlaku. Oba konce křemenné kapiláry byly zkráceny na požadovanou délku a také opáleny. Na začátku každého měření byla kapilára nejdříve promyta 10 minut 0,1 M roztokem NaOH a poté 10 minut deionizovanou vodou.

Mezi jednotlivými analýzami byla kapilára vždy promyta po dobu 5 minut roztokem NaOH a deionizovanou vodou.

### **2.3.2 Příprava základního elektrolytu**

Pro prvotní experimenty byly zvoleny dva typy elektrolytů: octan amonný a mravenčan amonný. Pro každý typ pufru byly připraveny čtyři roztoky o různé koncentraci a pH. Na analytických vahách bylo naváženo takové množství octanu amonného a mravenčanu amonného, aby vznikl od každého pufru roztok o koncentraci 25 mM a 50 mM. Do těchto připravených roztoků bylo pipetováno takové množství vodného roztoku amoniaku, aby bylo dosaženo požadovaného pH pufru 8 nebo 9. V těchto pufrech byla stanovena hodnota kritické micelární koncentrace SDS metodou založenou na měření proudu. Na základě provedeného měření byl pro další experimenty použit 50 mM octan amonný o pH 9.

### **2.3.3 Měření kritické micelární koncentrace**

Pro stanovení kritické micelární koncentrace perfluorovaných kyselin byla použita metoda založená na měření proudu a viskozity v závislosti na koncentraci jednotlivých perfluorovaných kyselin. Nejdříve byl pro každou perfluorovanou kyselinu připraven 50 mM zásobní roztok rozpuštěním dané navážky v 50 mM octanu amonného o pH 9 nebo ve vodě. Z takto přichystaného zásobního roztoku perfluorované kyseliny byla připravena kalibrační řada. Do 5 ml odměrných baněk bylo odpipetováno potřebné množství zásobního roztoku s ohledem na typ tenzidu. Odměrné baňky byly doplněny po rysku octanem amonným nebo vodou. Pro analýzu bylo pipetováno do tří skleněných elektroforetických nádobek po 1 ml roztoku pro každý kalibrační bod.

#### **2.3.3.1 Metoda založená na měření proudu**

Program analýzy:

- 5 minut promývání kapiláry základním elektrolytem tlakem 1 Bar
- vložené napětí 20 kV
- měření proudu, doba analýzy 5 minut
- teplota kapiláry během analýzy 25 °C.

Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka pro každou koncentraci příslušné perfluorované kyseliny. Byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka v závislosti na koncentraci perfluorované kyseliny a pomocí



rovnice regrese byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a směrodatná odchylka.

### **2.3.3.2 Metoda založená na měření viskozity**

Program analýzy:

- 3 minuty promývání kapiláry základním elektrolytem tlakem 1 Bar
- dávkování vzorku thiomochoviny tlakem 50 mBar po dobu 10 s
- měření času průchodu thiomochoviny kapilárou tlakem 50 mBar, doba analýzy 10 min
- detekce při 200 nm
- teplota kapiláry během analýzy 25 °C.

Pro stanovení kritické micelární koncentrace byl měřen čas průchodu thiomochoviny kapilárou tlakem v závislosti na koncentraci perfluorované kyseliny v základním elektrolytu. Do elektroforetické nádoby o objemu 1,5 ml byl napipetován zásobní roztok thiomochoviny  $c = 50$  mM a zředěn deionizovanou vodou, výsledná koncentrace thiomochoviny byla 0,5 mM. Dále byl proměřen čas thiomochoviny v elektrolytu bez perfluorované kyseliny. Pro každou koncentraci bylo měření provedeno třikrát. Ze získaných hodnot časů thiomochoviny pro jednotlivé koncentrace byla vypočítána relativní viskozita, viz rovnice (13), a směrodatná odchylka. Po vynesení závislosti relativní viskozity  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci perfluorované kyseliny byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a její směrodatná odchylka.

### **2.3.3.3 Metoda založená na měření retenčního času**

Program analýzy:

- 3 minuty promývání kapiláry základním elektrolytem tlakem 1 Bar
- dávkování vzorku tlakem 50 mBar po dobu 10 s
- vložené napětí 20 kV
- měření retenčních časů, doba analýzy 10 minut
- detekce alkylbenzenů při 200 nm
- detekce ketolátek při 254 nm
- teplota kapiláry během analýzy 25 °C.

Byl měřen retenční čas alkylbenzenů (methylbenzen - hexylbenzen) v závislosti na koncentraci perfluorooctanové kyseliny v základním elektrolytu. Do elektroforetické nádoby

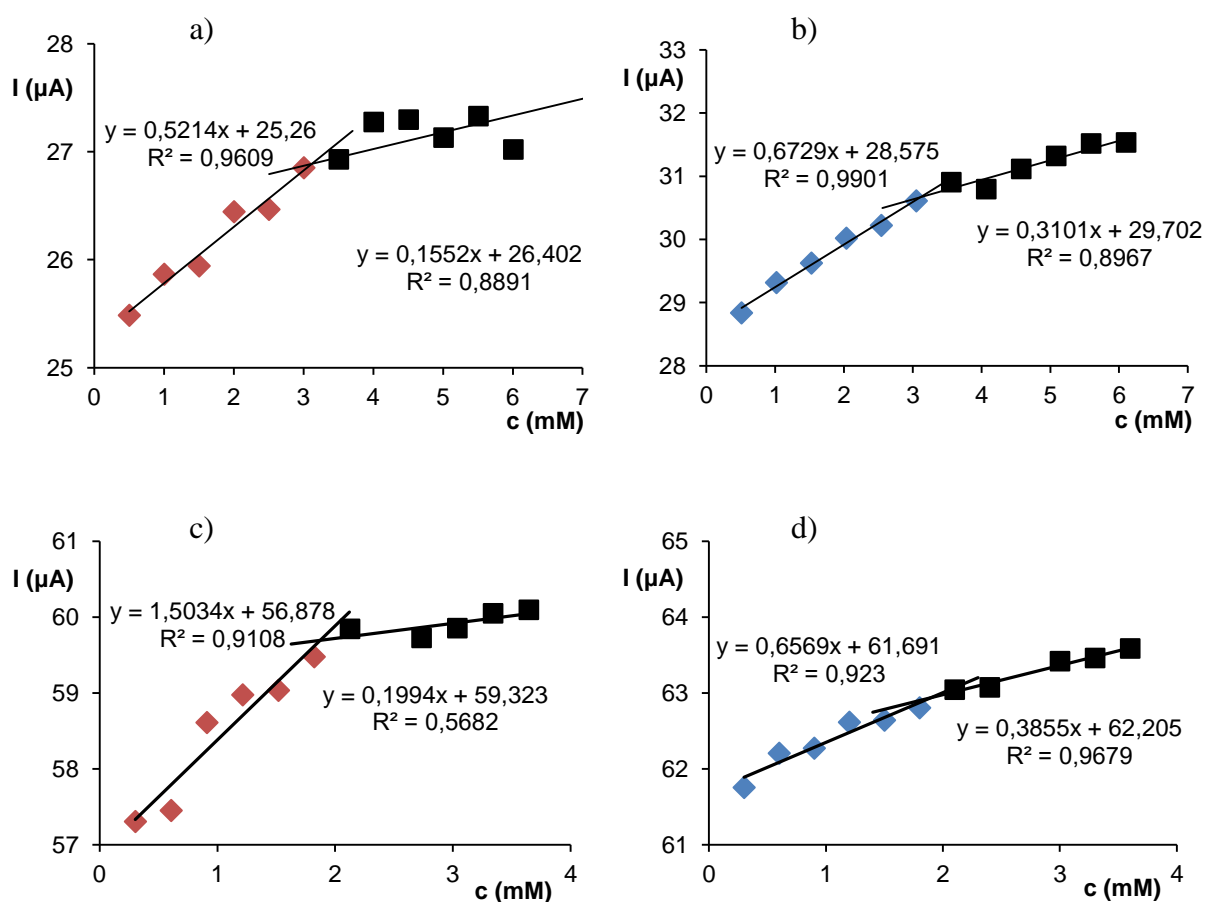
o objemu 1,5 ml byl pipetován zásobní roztok alkybenzenů o  $c = 5 \text{ g/l}$ , dále byl přidán zásobní roztok thiomčoviny o  $c = 50 \text{ mM}$  a elektroforetická nádobka byla doplněna deionizovanou vodou. Výsledná koncentrace alkybenzenů byla  $120 \text{ mg/l}$ . Pomocí thiomčoviny, která sloužila jako neutrální látka a jejíž výsledná koncentrace byla  $0,5 \text{ mM}$ , byl určen migrační čas elektroosmotického toku.

Dále byl měřen retenční čas ketolátek (aceton a methylethylketon) v závislosti na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny v základním elektrolytu. Do elektroforetické nádobky o objemu 1,5 ml byl pipetován zásobní roztok ketolátek o  $c = 5 \text{ g/l}$ . Dále byl přidán zásobní roztok thiomčoviny o  $c = 50 \text{ mM}$  a elektroforetická nádobka byla doplněna deionizovanou vodou. Výsledná koncentrace thiomčoviny byla  $0,5 \text{ mM}$  a výsledná koncentrace ketolátek byla  $120 \text{ mg/l}$ .

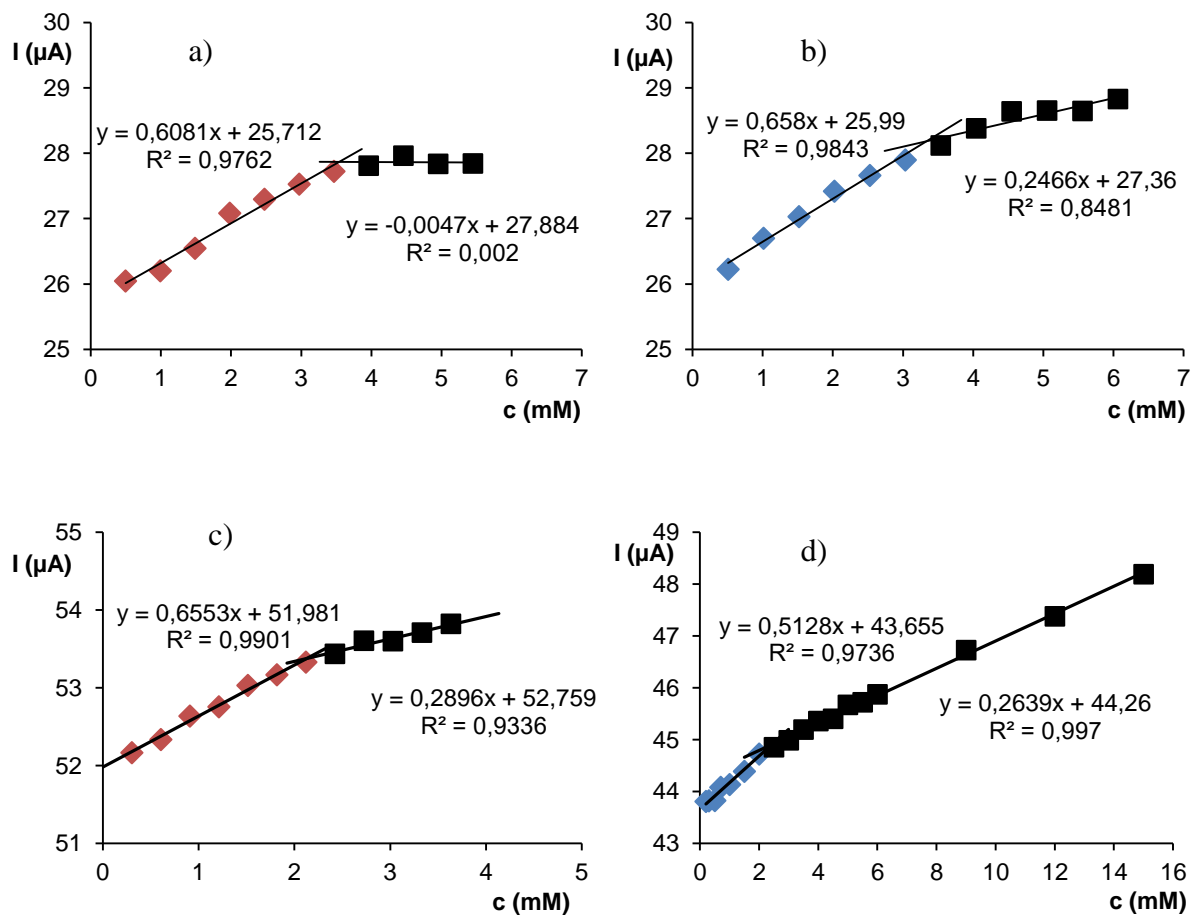
### 3. Výsledky a diskuze

#### 3.1 Měření kritické micelární koncentrace

Pro porovnání použitých metod a ověření jejich vhodnosti pro stanovení cmc byly nejprve provedeny experimenty s dodecylsíránem sodným jako micelární fází. Pro prvotní měření kritické micelární koncentrace byly zvoleny dva typy pufrů: octan amonný a mravenčan amonný. V těchto pufrch byla stanovena hodnota kritické micelární koncentrace dodecylsíranu sodného metodou založenou na měření proudu. Na obr. 13 a 14 jsou znázorněny závislosti proudu na koncentraci SDS obou typů pufrů o různé koncentraci a pH.



**Obr. 13:** Závislost proudu na koncentraci SDS v a) 25 mM mravenčanu amonném o pH 8, b) 25 mM mravenčanu amonném o pH 9, c) 50 mM mravenčanu amonném o pH 8, d) 50 mM mravenčanu amonném o pH 9.



**Obr. 14:** Závislost proudu na koncentraci SDS v a) 25 mM octanu amonném o pH 8, b) 25 mM octanu amonném o pH 9, c) 50 mM octanu amonném o pH 8, d) 50 mM octanu amonném o pH 9.

Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka pro každou koncentraci dodecylsíranu sodného. Byla vynesena závislost průměru proudu ± směrodatná odchylka v závislosti na koncentraci SDS a pomocí rovnic regrese byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a směrodatná odchylka (viz tab. 2). Na základě provedeného měření byl pro další experimenty použit 50 mM octan amonný o pH 9. Elektrolyt octan amonný byl použit jako těkavé separační prostředí vhodné pro spojení elektroforetických analýz s hmotnostní spektrometrií.

**Tab. 2:** Naměřené hodnoty kritické micelární koncentrace SDS metodou založenou na měření proudu.

<b>Pufr</b>	<b>c (mM)</b>	<b>pH</b>	<b>cmc (mM)</b>
<b>Mravenčan amonný</b>	25	8	3,12 ± 0,29
		9	3,11 ± 0,18
	50	8	1,88 ± 0,62
		9	1,89 ± 0,04
<b>Octan amonný</b>	25	8	3,54 ± 0,04
		9	3,33 ± 0,08
	50	8	2,13 ± 0,12
		9	2,43 ± 0,17

Pro zvolené složení základního elektrolytu byly dále proměřeny kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin. U vybraných perfluorovaných kyselin byl připraven 50 mM zásobní roztok rozpuštěný v 50 mM octanu amonného o pH 9 a ve vodě. Z takto přichystaného zásobního roztoku perfluorované kyseliny byla připravena kalibrační řada v oblastech nad a pod hodnotou kritické micelární koncentrace. Všechny roztoky byly proměřeny na kapilární elektroforéze s UV/VIS detektorem. Kritická micelární koncentrace se stanovovala metodou založenou na měření proudu procházejícího kapilárou a metodou založenou na měření viskozity v závislosti na koncentraci jednotlivých perfluorovaných karboxylových kyselin.

Poslední použitou metodou testovanou pro stanovení cmc perfluoroheptované a perfluorooktanové kyseliny byla metoda založená na měření retenčního času alkylbenzenů a ketolátek v závislosti na koncentraci perfluorované karboxylové kyseliny v základním elektrolytu.

### 3.1.1 Perfluoroheptanová kyselina

Pro perfluoroheptanovou kyselinu (PFHpA) byla stanovena kritická micelární koncentrace v 50 mM octanu amonném o pH 9 a ve vodě. Průměrné hodnoty proudu a směrodatné odchylky získané metodou založenou na měření proudu jsou uvedeny v tab. 5 a 6, příloha 1. Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka pro každou koncentraci PFHpA. Poté byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka v závislosti na koncentraci PFHpA (obr. 16 a 17, příloha 1) a pomocí rovnic regrese byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a směrodatná odchylka (viz tab. 3). Obě závislosti proudu protékajícího kapilárou na koncentraci PFHpA vykazují v submicelární oblasti rostoucí trend. Pro vodné prostředí dochází k nárůstu proudu i v micelární oblasti, ale s nižší směrnici. V základním elektrolytu 50 mM octanu amonném o pH 9 proud v micelární oblasti mírně klesal s rostoucí koncentrací perfluoroheptanové kyseliny (obr. 16, příloha 1). Podobný trend nebyl pro další kyseliny pozorován.

Další použitá metoda byla založená na měření viskozity. Pro stanovení cmc byl měřen čas průchodu thiomochoviny kapilárou tlakem v závislosti na koncentraci perfluorované kyseliny v základním elektrolytu ( $t_c$ ). Byl také proměřen čas thiomochoviny v elektrolytu bez perfluorované kyseliny ( $t_0$ ). Ze získaných hodnot časů pro jednotlivé koncentrace byla vypočítána relativní viskozita a směrodatná odchylka (viz tab. 7, příloha 1) dle rovnice (13):

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \sim \frac{t_c}{t_0} \quad (13)$$

Po vynesení závislosti relativní viskozity  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny (obr. 18, příloha 1) byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a její směrodatná odchylka, viz tab. 3. Při uvedeném stanovení byl pozorován pokles relativní viskozity micelárního roztoku vůči samotnému elektrolytu a nejnižší hodnota viskozity byla pozorována při koncentraci rovné cmc.

Hodnota cmc byla stanovována i pomocí metody založené na měření retenčního času alkylbenzenů (methylbenzen - hexylbenzen) a ketolátek (aceton a methylethylketon) v závislosti na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny v základním elektrolytu. Pomocí této metody se však cmc nepodařilo stanovit, jelikož byla pozorována velice nízká retence uvedených látek v micelách, pravděpodobně způsobená vysoce polárním charakterem micel. Rovněž u analýzy směsi nedocházelo k separaci a tudíž nemohl být odečten retenční čas.

### 3.1.2 Perfluorooktanová kyselina

Měření kritické micelární koncentrace PFOA bylo provedeno v 50 mM octanu amonném o pH 9 a ve vodě. V tab. 8 a 9 (příloha 2) jsou uvedeny průměrné hodnoty proudu a směrodatné odchylky v závislosti na koncentraci perfluorooktanové kyseliny. Pomocí rovnic regrese byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a směrodatná odchylka, viz tab. 3. Závislosti hodnot průměru proudu na koncentraci PFOA jsou zaznamenány na obr. 19 a 20, příloha 2. Také zde obě závislosti proudu protékajícího kapilárou na koncentraci PFOA vykazují v submicelární oblasti rostoucí trend. K nárůstu proudu dochází i v micelární oblasti s rostoucí koncentrací perfluorooktanové kyseliny, ale s nižší směrnici (viz obr. 19 a 20, příloha 2).

Hodnota cmc PFOA byla stanovena i pomocí metody založené na měření viskozity, viz rovnice (12). V tab. 10 (příloha 2) jsou uvedeny průměrné hodnoty časů thiomochoviny v elektrolytu s i bez PFOA, relativní viskozita a směrodatná odchylka pro jednotlivé koncentrace perfluorooktanové kyseliny. Grafický záznam závislosti relativní viskozity  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci PFOA je znázorněn na obr. 21, příloha 2. Vypočítaná hodnota kritické micelární koncentrace a její směrodatná odchylka je uvedena v tab. 3. Při uvedeném stanovení byl pozorován pokles relativní viskozity micelárního roztoku vůči samotnému elektrolytu a nejnižší hodnota viskozity byla pozorována při koncentraci, která se rovnala kritické micelární koncentraci.

Další metodou testovanou pro stanovení cmc perfluorooktanové kyseliny byla metoda založená na měření retenčního času homologické řady alkylbenzenů (methylbenzen - hexylbenzen) a ketolátek (aceton a methylethylketon) v závislosti na koncentraci PFOA v základním elektrolytu. Ukázalo se, že touto metodou se však stejně jako u předchozí kyseliny nepodařilo hodnotu cmc stanovit, jelikož byla pozorována velice nízká retence uvedených látek v micelách, pravděpodobně způsobená vysoce polárním charakterem micel. Rovněž nedocházelo k separaci směsí a tudíž nemohl být odečten retenční čas.

### 3.1.3 Perfluorononanová kyselina

Pro stanovení cmc perfluorononanové kyseliny (PFNA) byla použita metoda založená na měření proudu a viskozity v závislosti na koncentraci PFNA v 50 mM octanu amonném o pH 9. Průměrné hodnoty proudu a směrodatné odchylky získané metodou založenou na měření proudu jsou uvedeny v tab. 11, příloha 3. Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka pro každou koncentraci PFNA. Byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka v závislosti na koncentraci perfluorononanové kyseliny (obr. 22, příloha 3) a pomocí rovnic regrese byla vypočítána hodnota cmc a směrodatná odchylka, viz tab. 3. Závislost proudu protékajícího kapilárou na koncentraci PFNA v základním elektrolytu 50 mM octanu amonném o pH 9 vykazuje jak v submicelární tak v micelární oblasti rostoucí trend (viz obr. 22, příloha 3). V micelární oblasti dochází k nárůstu proudu s rostoucí koncentrací PFNA, ale s nižší směrnici.

Další použitá metoda byla založená na měření viskozity. Pro stanovení cmc byl měřen čas průtoku thiomochoviny kapilárou tlakem v závislosti na koncentraci perfluorované kyseliny v základním elektrolytu. Byl také proměřen čas thiomochoviny v elektrolytu bez perfluorované kyseliny. V tab. 12 (příloha 3) jsou uvedeny získané hodnoty časů metodou založenou na měření viskozity, vypočítaná relativní viskozita (rovnice (13)) a směrodatná odchylka pro jednotlivé koncentrace PFNA. Grafický záznam je znázorněn na obr. 23, příloha 3. Po vynesení závislosti relativní viskozity  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci perfluorononanové kyseliny byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a její směrodatná odchylka viz tab. 3. Také zde byl pozorován při uvedeném stanovení pokles relativní viskozity micelárního roztoku vůči samotnému elektrolytu.



### 3.1.4 Porovnání kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin

Byly stanoveny kritické micelární koncentrace homologické řady perfluorovaných karboxylových kyselin (perfluoroheptanová – perfluorononanová kyselina) pomocí metody založené na měření proudu a metody založené na měření viskozity. Pro vybrané perfluorované karboxylové kyseliny byla změřena cmc v 50 mM octanu amonném o pH 9. Naměřené hodnoty cmc a její směrodatné odchylky jsou shrnuty v tab. 3. Na první pohled je patrné, že s rostoucím počtem uhlíků v alkylovém řetězci kritická micelární koncentrace klesá. Kritická micelární koncentrace se stanovovala i ve vodě (viz tab. 3), kromě perfluorononanové kyseliny, protože jedním z faktorů, který znemožňoval stanovit hodnotu cmc je to, že Krafftova teplota pro PFNA je 48,3 °C [69]. Dále lze podotknout, že zvýšením iontové síly roztoku se kritická micelární koncentrace tenzidu snižuje, což znamená, že hodnota cmc ve vodném roztoku tenzidu je vyšší než v použitém základním elektrolytu 50 mM octanu amonném o pH 9.

**Tab. 3:** Naměřené hodnoty kritické micelární koncentrace jednotlivých perfluorovaných karboxylových kyselin v základním elektrolytu.

Tenzid	Základní elektrolyt	cmc (mM) metoda proudu	cmc (mM) metoda viskozity
PFHpA	pufř	21,76 ± 0,01	16,60 ± 1,79
	voda	30,03 ± 3,20	*
PFOA	pufř	3,58 ± 0,57	2,74 ± 0,11
	voda	5,54 ± 0,88	*
PFNA	pufř	1,69 ± 0,01	1,00 ± 0,39

\*tyto hodnoty nebyly stanovovány

Byla provedena analýza rozptylu (ANOVA) hodnot cmc pro PFCAs získaných metodou založenou na měření proudu a viskozity a výsledky byly vyhodnoceny také pomocí Tukeyova testu (viz tab. 4). Stanovení cmc bylo provedeno v 50 mM octanu amonném o pH 9. Vzhledem k tomu, že na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  byly nalezeny statisticky významné rozdíly ( $\alpha > p$ ) mezi výsledky kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin v 50 mM octanu amonném o pH 9 získaných metodou založenou na měření proudu a založenou na měření viskozity, byl proveden Tukeyův test pro mnohonásobné porovnání. Byly mezi sebou porovnány obě metody, které byly použity pro stanovení kritické micelární koncentrace. Statisticky významné rozdíly byly nalezeny mezi hodnotami cmc PFHpA a PFNA v 50 mM octanu amonném o pH 9.

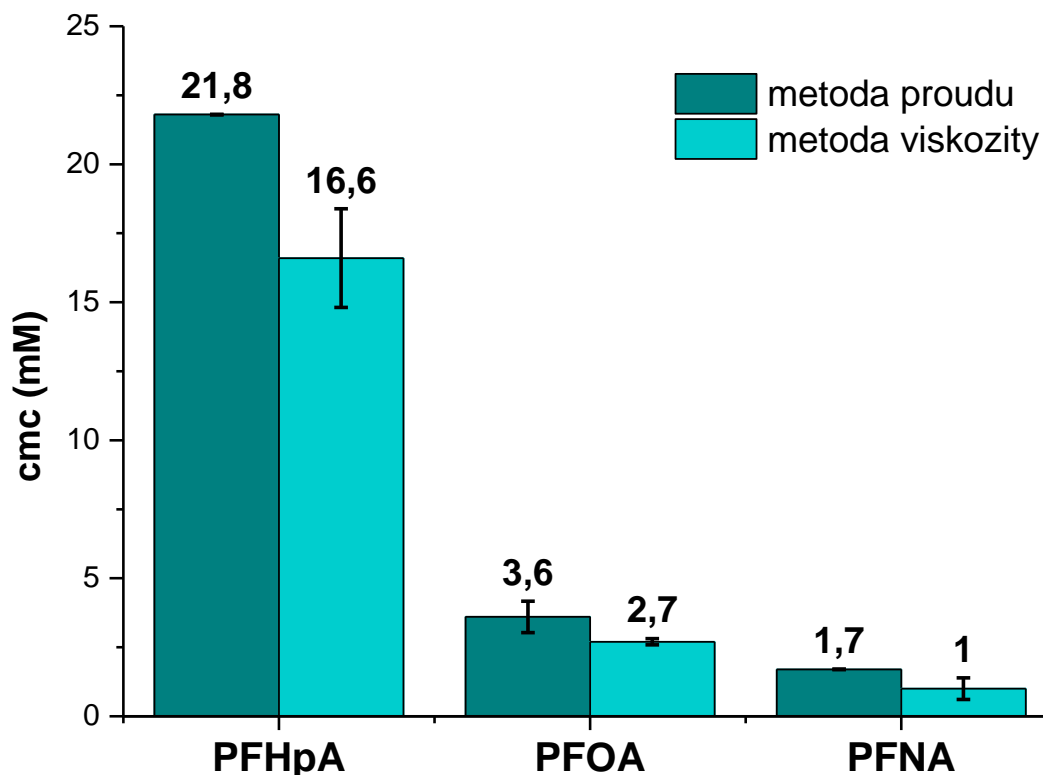
Na obr. 15 je grafický záznam hodnot cmc v závislosti na PFCAs získaných metodou proudu a viskozity. Hodnoty cmc získané metodou založenou na měření proudu byly vyšší, než hodnoty cmc získané metodou založenou na měření viskozity. Zde můžeme pozorovat, že největší směrodatnou odchylku má kritická micelární koncentrace PFHpA měřená metodou viskozity a metodou proudu je směrodatná odchylka minimální. Naopak perfluorooktanová kyselina vykazuje větší směrodatnou odchylku metodou proudu. Směrodatná odchylka u PFNA je větší u metody viskozity než proudu, kde je směrodatná odchylka minimální.

**Tab. 4:** Analýza rozptylu (ANOVA) hodnot cmc pro PFCAs získaných metodou proudu a viskozity a výsledky Tukeyova testu. Stanovení cmc bylo provedeno v 50 mM octanu amonném o pH 9.

PFCAs	cmc (mM) metoda založená na měření		ANOVA			Tukeyův test
	proud ( <i>I</i> )	Relativní viskozita	$\alpha$	p	statisticky významný rozdíl	významný rozdíl mezi metodami
PFHpA	21,76 ± 0,01	16,60 ± 1,79	0,05	0,0073	ano	ano
PFOA	3,58 ± 0,57	2,74 ± 0,11		0,0549	ne	ne
PFNA	1,69 ± 0,01	1,00 ± 0,39		0,0360	ano	ano

$\alpha$  – hladina významnosti, p - pravděpodobnost

**Obr. 15:** Grafický záznam hodnot cmc v závislosti na PFCAs získaných metodou proudu a viskozity.



Poslední použitou metodou testovanou pro stanovení kritické micelární koncentrace perfluoroheptanové a perfluorooktanové kyseliny byla metoda založená na měření retenčního času s využitím alkylbenzenů a ketolátek v závislosti na koncentraci perfluorované karboxylové kyseliny v základním elektrolytu. Pomocí této metody se nepodařilo stanovit hodnotu kritická micelární koncentrace ani u jedné z uvedených perfluorovaných karboxylových kyselin, jelikož byla pozorována velice nízká retence uvedených látek v micelách, pravděpodobně způsobená vysoce polárním charakterem micel. Rovněž u analýzy směsí nedocházelo k separaci a tudíž nemohl být odečten retenční čas jednotlivých látek.

## 4. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši pojednávající o kritické micelární koncentraci aniontových tenzidů a jejím stanovení s využitím instrumentace kapilární elektroforézy. Experimentálně byla stanovena kritická micelární koncentrace homologické řady perfluorovaných karboxylových kyselin v 50 mM octanu amonném o pH 9 a ve vodě. Elektrolyt octan amonný byl použit jako těkavé separační prostředí vhodné pro spojení elektroforetických analýz s hmotnostní spektrometrií.

Stanovení bylo provedeno pomocí metody založené na měření proudu procházejícího kapilárou a metody založené na měření viskozity v závislosti na koncentraci jednotlivých perfluorovaných karboxylových kyselin. Z rovnic lineární regrese přímek byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace a směrodatná odchylka. Z naměřených výsledků je patrné, že kritická micelární koncentrace s rostoucím počtem uhlíků v alkylovém řetězci klesá. Dále lze podotknout, že zvýšením iontové síly roztoku se kritická micelární koncentrace tenzidu snižuje, což znamená, že hodnota cmc ve vodném roztoku tenzidu je vyšší než v použitém základním elektrolytu 50 mM octanu amonném o pH 9.

Výsledky byly testovány pomocí analýzy rozptylu hodnot cmc pro PFCAs získaných metodou založenou na měření proudu a viskozity a Tukeyova testu. Stanovení cmc bylo provedeno v 50 mM octanu amonném o pH 9. Statisticky významné rozdíly byly nalezeny mezi použitými metodami pro stanovení hodnot cmc PFHpA a PFNA.

Poslední metodou testovanou pro stanovení cmc perfluoroheptanové a perfluorooktanové kyseliny v základním elektrolytu byla metoda založená na měření retenčního času homologické řady alkylbenzenů a ketolátek. Pomocí této metody se však kritickou micelární koncentraci nepodařilo stanovit, jelikož byla pozorována velice nízká retence uvedených látek v micelách, pravděpodobně způsobená vysoce polárním charakterem micel. Rovněž u analýzy směsí nedocházelo k separaci a tudíž nemohl být odečten retenční čas.

## 5. Seznam použité literatury

- [1] BLAŽEJ, A. a kol. *Tenzidy*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1977, 481 s.
- [2] PITTER, P. *Hydrochemie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1981, 373 s.
- [3] ROSEN, M. J.; KUNJAPPU, J. T. *Surfactants and Interfacial Phenomena* (4th ed.). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons. 2012, 1 s. ISBN 1-118-22902-9.
- [4] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. 5. přepracované vyd. Praha: VŠCHT, 2005. 244 s. ISBN 80-7080-579-X.
- [5] KIZLINK, J. *Technologie chemických látek II.: zpracování ropy, paliva a petrochemie, chemické speciality, pesticidy, dezinfekční látky, tenzidy, plasty a kaučuk, aditiva a pomocné chemikálie, výbušniny, biotechnologie, organizace pro chemii*. Vyd. 1. Brno: Vysoké učení technické, 2001, 421 s. ISBN 80-214-2013-8.
- [6] KUČEJOVÁ, J. Interakce kolagenu I se směsí surfaktantů. 2010, 58 s. [online]. [citováno 13. 2. 2017]. Dostupné z:  
[https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/11157/kucejov%C3%A1\\_2010\\_dp.pdf?sequence=1](https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/11157/kucejov%C3%A1_2010_dp.pdf?sequence=1)
- [7] SALAGER, J. - L. Surfactants types and uses. *Teaching aid in surfactant science & engineering*. 2002, 48 s. [online]. [citováno 14. 2. 2017]. Dostupné z:  
<http://www.scribd.com/doc/28435989/Surfactant-Classification>
- [8] ŠMIDRKAL, J. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy*. 1999, 93, 421-427 s.
- [9] LAU, C.: Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Reproductive toxicology. Toxicological science*. 2007, 99 (2), 366-394 s.
- [10] <http://arnika.org/perfluorkarboxylove-kyseliny-pfcas> [online]. [citováno 16. 2. 2017]
- [11] DEWITT, J. C. Toxicological Effects of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances. *Humana Press*. 2015, 500 s. ISBN 978-3-319-15517-3.
- [12] VLASÁKOVÁ, T. Disociační konstanty perfluorovaných karboxylových kyselin. 2013, 25 s. [online]. [citováno 16. 2. 2017]. Dostupné z:  
[https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:\\_Y\\_E0uRzs3wJ:https://is.cuni.cz/webapps/zzp/download/130105878+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_Y_E0uRzs3wJ:https://is.cuni.cz/webapps/zzp/download/130105878+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz)
- [13] SIMONS, J. H., Electrochemical process of making fluorine-containing carbon compounds, in United States Patent Office. 1950, Minnesota Mining & Manufacturing Company: USA.
- [14] KISSA, E., Fluorinated surfactants and repellents. Second Edition. Vol. 607, 2001, New York: Marcel Dekker Inc. 579 s. [online]. [citováno 16. 2. 2017]. Dostupné z:

[https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=iAmE8v3bFnUC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Kissa,+E.,+Fluorinated+surfactants+and+repellents.+Vol.+607.+2001,+New+York:+Marcel+Dekker+Inc.&ots=D6\\_z00ghDr&sig=2JYvtDas7dgL588WTs33x5mYIWc&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=iAmE8v3bFnUC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Kissa,+E.,+Fluorinated+surfactants+and+repellents.+Vol.+607.+2001,+New+York:+Marcel+Dekker+Inc.&ots=D6_z00ghDr&sig=2JYvtDas7dgL588WTs33x5mYIWc&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

- [15] HEKSTER, F. M., R. LAANE AND P. DE VOOGT, Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances, in *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2003. p. 99-121.
- [16] Swedish Chemicals Inspectorate and Swedish EPA: Perfluorooctane sulfonate, Dossier prepared in support for a nomination of PFOS to the UN-ECE LRTAP Protocol and the Stockholm Convention, 2004. [online]. [citováno 16.2.2017]. Dostupné z: [http://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/lrtap/TaskForce/popsxg/2004/Sweden\\_PFOSS\\_dossier\\_Aug\\_2004.pdf](http://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/lrtap/TaskForce/popsxg/2004/Sweden_PFOSS_dossier_Aug_2004.pdf)
- [17] FUGUET E., RÁFOLS C., ROSÉS M., BOSCH E., *Analytica Chimica Acta*. 2005, 548, 95 – 100 s.
- [18] MOHAJERI, E.; NOUDEH, G. D. Effect of Temperature on the Critical Micelle Concentration and Micellization Thermodynamic of Nonionic Surfactants: Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Esters. *E-Journal of Chemistry*. 2012, 9 (4), 2268-2274 s.
- [19] MÜLLEROVÁ, M., ŠVÁB, M. a MOREIRA DOS SANTOS, M. Měření kritických micelárních koncentrací tenzidů ve vodných roztocích. *Chemické listy*. 2007, 101, 509-514 s.
- [20] STRNADOVÁ, H., KVÍTEK, L. Vliv pufru na tvorbu micel vybraných povrchově aktivních látek. *Chemické listy*. 2009, 103, 315-319 s.
- [21] <http://www.chempoint.cz/studium-tvorby-micel> [online]. [citováno 17. 2. 2017]
- [22] <https://en.wikipedia.org/wiki/Micelle> [online]. [citováno 19. 2. 2017]
- [23] [http://147.33.74.135/knihy/uid\\_es-001/hesla/kriticka\\_micelarni\\_koncentrace.html](http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/kriticka_micelarni_koncentrace.html) [online]. [citováno 19.2.2017]
- [24] ŠOJDROVÁ, K. Prozkoumání možných povrchově aktivních vlastností benzimidazoliových solí s adamantanovým skeletem. 2015, 59 s. [online]. [citováno 19. 2. 2017]. Dostupné z: <http://docplayer.cz/14335280-Prozkoumani-moznych-povrchove-aktivnich-vlastnosti-benzimidazoliovych-soli-s-adamantanovym-skeletem-kamila-sojdrova.html>
- [25] SEDLAŘÍKOVÁ, J. Chemie a technologie tenzidů II. [online]. [citováno 19. 2. 2017]

Dostupné z:

<http://kosmetika.ft.utb.cz/Services/Downloader.ashx?id=134&disposition=inline>

- [26] MOROI, Y. *Micelles – Theoretical and applied aspects*. Plenum Press. New York, 1992, 252 s. [online]. [citováno 19. 2. 2017]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=cVenuNI-29AC&printsec=frontcover&dq=structure+of+micelles&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwi m0s7DlpzSAhXDaRQKHWeKAKkQ6AEIRTAH#v=onepage&q=structure%20of%20micelles&f=false>
- [27] AL-SOUFI, W., PINEIRO, L., NOVO, M. A model for monomer and micellar concentrations in surfactant solutions. Application to conductivity, NMR, diffusion and surface tension data. *Department of Physical Chemistry*, 28 s. [online]. [citováno 21.4.2017]. Dostupné z: [http://www.usc.es/fotofqm/sites/default/files/single-molecule/alsoufi12\\_jcis370\\_p102\\_postprint.pdf](http://www.usc.es/fotofqm/sites/default/files/single-molecule/alsoufi12_jcis370_p102_postprint.pdf)
- [28] MANDAL, A., B., NAIR, B., U. Cyclic Voltammetric Technique for the Determination of the Critical Micelle Concentration of Surfactants, Self-Diffusion Coefficient of Micelles, and Partition Coefficient of an Electrochemical Probe. *J. Phys. Chem.* 1991, 95,9008-9013 s.
- [29] LE SAUX, T., VARENNE, A., GAREIL, P. *Electrokinetic Chromatography: Theory, Instrumentation and Applications* Edited by U. Pyell, 2006. Kapitola 2: Determination of Critical Micellar Concentrations by Capillary Electrokinetic Techniques, 33 – 54 s. John Wiley & Sons, Ltd. ISBN:0-470-87102-4.
- [30] TICKLE, D. C., OKAFO, G. N., CAMILLERI, P., JONES, R. F. D. AND KIRBY, A. J. Glucopyranoside based surfactants as pseudostationary phases for chiral separations in capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*. 1994, 66, 4121–4126 s.
- [31] CIFUENTES, A.; BERNAL, J. L.; DIEZ-MASA, J. C. Determination of Critical Micelle Concentration Values Using Capillary Electrophoresis Instrumentation. *Analytical Chemistry*. 1997, 69, 4271-4274 s.
- [32] FUGUET, E.; RÁFOLS, C.; ROSÉS, M.; BOSCH, E. Critical micelle concentration of surfactants in aqueous buffered and unbuffered systems. *Analytica Chimica Acta*. 2005, 548, 95-100 s.
- [33] BELLO, M., S., REZZONICO, R., RIGHETTI, P., G. Capillary electrophoresis instrumentation as a bench-top viscometer. *Journal of Chromatography A*. 1994, 659, 199–204 s.

- [34] CHUNHUNG, W.; NENG, J. L. Determination of critical micelle concentrations of ionic and nonionic surfactants based on relative viscosity measurements by capillary electrophoresis. *Research on Chemical Intermed.* 2014, 40, 2371–2379 s.
- [35] STANLEY, F. E.; WARNER, A. M.; SCHNEIDERMAN, E. Rapid determination of surfactant critical micelle concentrations using pressure-driven flow with capillary electrophoresis instrumentation. *Journal of Chromatography A.* 2009, 1216, 8431–8434 s.
- [36] TERABE, S., OTSUKA, K. AND ANDO, T. Electrokinetic chromatography with micellar solution and open-tubular capillary, *Analytical Chemistry.* 1985, 57, 834–841s.
- [37] LIN, CH. E. Determination of critical micelle concentration of surfactants by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A.* 2004, 1037, 467–478 s.
- [38] VAVŘÍKOVÁ, M., Stanovení kritické micelární koncentrace aniontových tenzidů pomocí kapilární elektroforézy. 2016, 86 s.
- [39] NAKAMURA, H.; SANO, A.; MATSUURA, K. Determination of critical micelle concentration of anionic surfactants by capillary electrophoresis using 2-naphthalenemethanol as a marker for micelle formation. *Analytical Sciences.* 1998, 14, 379-382 s.
- [40] JACQUIER, J.C. AND DESBE`NE, P.L. Determination of critical micelle concentration by capillary electrophoresis. Theoretical approach and validation. *Journal of Chromatography A.* 1995, 718, 167–175 s.
- [41] LIN, C. E., CHEN, M. J., HUANG, H. C., CHEN, H. W. Influence of solubilized solutes. *Journal of Chromatography A.* 2001, 924, 83 – 91 s.
- [42] SABATE´, R., GALLARDO, M. AND ESTELRICH, J. Electrophoretic properties of dodecyltrimethylammonium bromide micelles in KBr solutions. *Electrophoresis.* 2000, 21, 481–485 s.
- [43] LI, S. F. Y. Capillary electrophoresis. *Amsterdam: Elsevier Science Publishers.* 1992, 52, 579 s.
- [44] HORKÁ, M., PLANETA, J., RŮŽIČKA, F., ŠLAIS, K. Sol-gel column technology for capillary isoelectric focusing of microorganisms and biopolymers with UV or fluorometric detection. *Electrophoresis* 24. 2003, 1383 – 1390 s.
- [45] KLOUDA, P. Moderní analytické metody. *Ostrava.* 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [46] LANDERS, J. P. Handbook of capillary and microchip electrophoresis and associated microtechniques (3rd Edition). *CRC Press.* 2008, 1567 s.



- [47] KAŠIČKA, V. Teoretické základy a separační principy kapilárních elektromigračních metod. *Chemické listy*. 1997, 91, s. 320 – 329.
- [48] <http://slideplayer.cz/slide/2534933/> [online]. [citováno 8. 4. 2017].
- [49] GROSSMAN, P. D., COLBURN, J. C. Capillary Electrophoresis. *Academic Press Limited*. 1992, 352 s.
- [50] VAVŘÍKOVÁ, M. Stanovení kritické micelární koncentrace aniontových tenzidů pomocí kapilární elektroforézy. *Diplomová práce*. 2016, 46 s.
- [51] MICHALÍKOVÁ, J. Analýza katecholaminů pomocí kapilární elektroforézy. *Bakalářská práce*. 2015, 40 s.
- [52] PAZOUREK, J. Moderní elektroforetické analytické metody. 2003 [online]. [cit. 2015-07-08]. Dostupné na: <<https://faf.vfu.cz/pub-files/ustavy/ustav-chemickych-leciv/vyuka-predmetu/analyticka-chemie-i-ii/separacni-metody---elektroforeza.pdf>>
- [53] KOK, W. Capillary Electrophoresis: Instrumentation and Operation. *Friedr. Vieweg*. 2000, 51, s. 14-15.
- [54] TERABE, S., OTSUKA, K., ICHIKAWA, K., TSUCHIA, A., ANDO, T. *Analytical Chemistry*. 1984, 56, 111 s.
- [55] LAUER, H. H.; ROZING, G. P. High Performance Capillary Electrophoresis. *Germany : Agilent Technologies*, 2010. 174 s.
- [56] HANCU, G., SIMON, B., RUSU, A., MIRCIA, E. GYÉRESI, Á. Principles of Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography Applied in Pharmaceutical Analysis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2013, 3(1), 1-8 s.
- [57] NISHI, H., TERABE, S. Micellar electrokinetic chromatography Perspectives in drug analysis. *Journal of Chromatography A*. 1996, 735, 3-27 s.
- [58] [http://inac-methylxanthines.blogspot.cz/2014\\_01\\_01\\_archive.html](http://inac-methylxanthines.blogspot.cz/2014_01_01_archive.html) [online]. [citováno 9. 4. 2017].
- [59] ŠVIDRNOCH, M. Spojení elektrokinetické chromatografie s hmotnostní spektrometrií v toxikologické a klinické analýze. *Disertační práce*. 2016, 142 s.
- [60] NORKOVÁ, R., JAKLOVÁ, J., DYTRTOVÁ, J., KAŠIČKA, V. Ionizační techniky a rozhraní pro spojení kapilárních elektromigračních metod s hmotnostně spektrometrickou detekcí. *Chemické listy*. 2013, 107, 949-955 s.
- [61] HOLČAPEK, M. Hmotnostní spektrometrie (přednášky). [online]. [citováno 9.4. 2017]. Dostupné z: <http://holcapek.upce.cz>

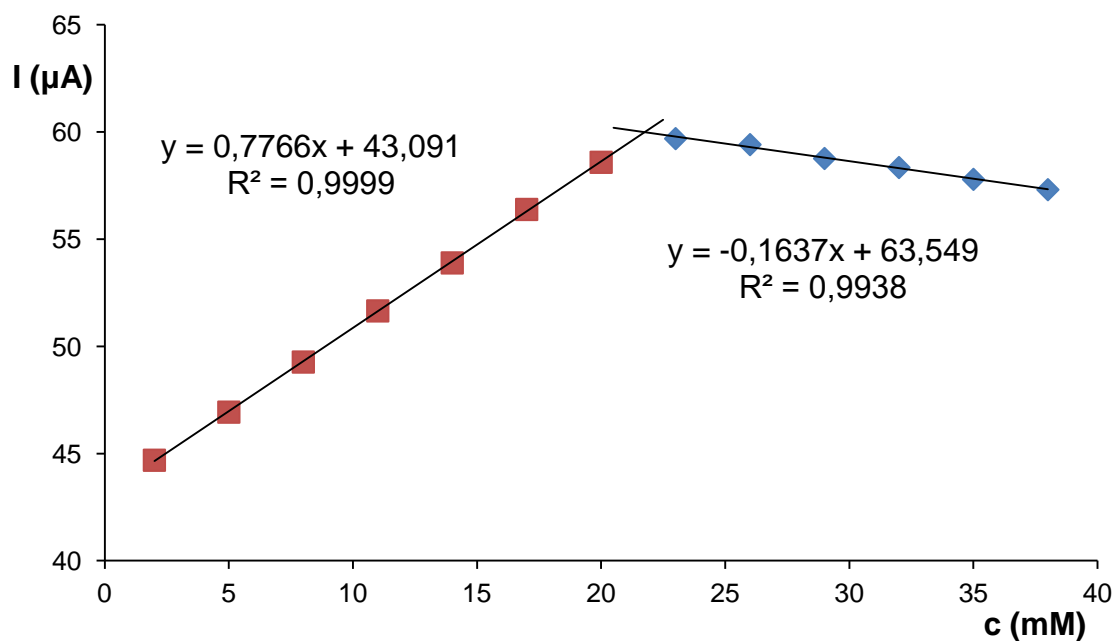
- [62] GARCÍA, C. D., CHUMBIMUNI-TORRES, K. Y., CARRILHO, E. Capillary elektrophoresis and microchip capillary elektrophoresis. *Wiley*. 2013, 394 s.
- [63] CHENG, H.L., TSENG, M., THAI, P., HER, G.R. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 15, 2001, 1473-1480 s.
- [64] PETERSSON, P., JORTÉN-KARLSSON, M., STALEBRO, M. *Electrophoresis* 24. 2003, 999-1007 s.
- [65] SOMSEN, G. W., MOL, R., DE JONG, G. J. *Journal of Chromatography A.* 2010, 1217, 3978-3991 s.
- [66] OZAKI, H., ITOU, N., TERABE, S., TAKADA, Y., SAKAIRI, M., KOIZUMI, H. Micellar electrokinetic chromatography-mass spektrometry using a high-molecular-mass surfactant On-line coupling with an electrospray ionization interface. *Journal of Chromatography A.* 1995, 716, 69-79 s.
- [67] VAN BIESEN, G., BOTTARO, C. S. 2006. *Electrophoresis* 27 (22), 4456-4468 s.
- [68] LIYU, Y., CHENG, S. LEE. Micellar electrokinetic chromatography-mass spektrometry. *Journal of Chromatography A.* 1997, 780, 207-218 s.
- [69] KUNLEDA, H., SHINODA, K. Krafft Points, Critical Micelle Concentrations, Surface Tension, and Solubilizing Power of Aqueous Solutions of Fluorinated Surfactants. *The Journal of Physical Chemistry*, Vol. 80 (22), 1976, 2468-2470 s.

## **Příloha 1**

### **Perfluoroheptanová kyselina**

**Tab. 5:** Naměřené hodnoty proudu  $I$  a vypočítané hodnoty směrodatné odchylky pro kalibrační řadu perfluoroheptanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

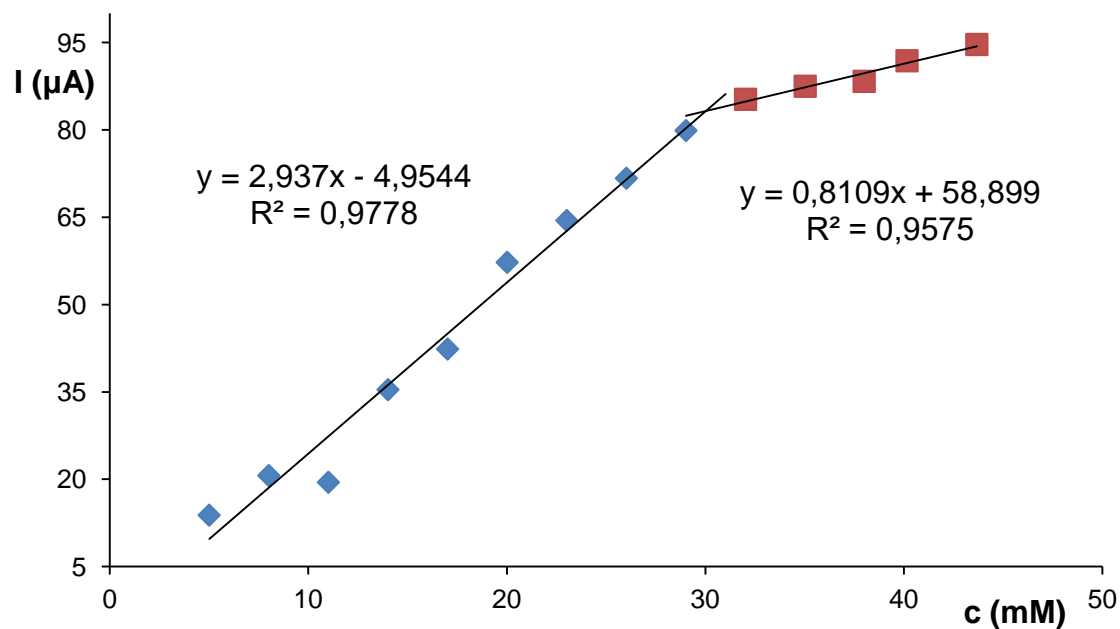
Koncentrace (mM)	$I$ ( $\mu\text{A}$ )	Směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
2	44,69	0,17
5	46,94	0,19
8	49,27	0,26
11	51,66	0,28
14	53,90	0,28
17	56,39	0,31
20	58,59	0,33
23	59,70	0,31
26	59,42	0,33
29	58,77	0,32
32	58,35	0,32
35	57,80	0,32
38	57,31	0,34



**Obr. 16:** Závislost proudu na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

**Tab. 6:** Naměřené hodnoty proudu  $I$  a vypočítané hodnoty směrodatné odchylky pro kalibrační řadu perfluoroheptanové kyseliny ve vodě.

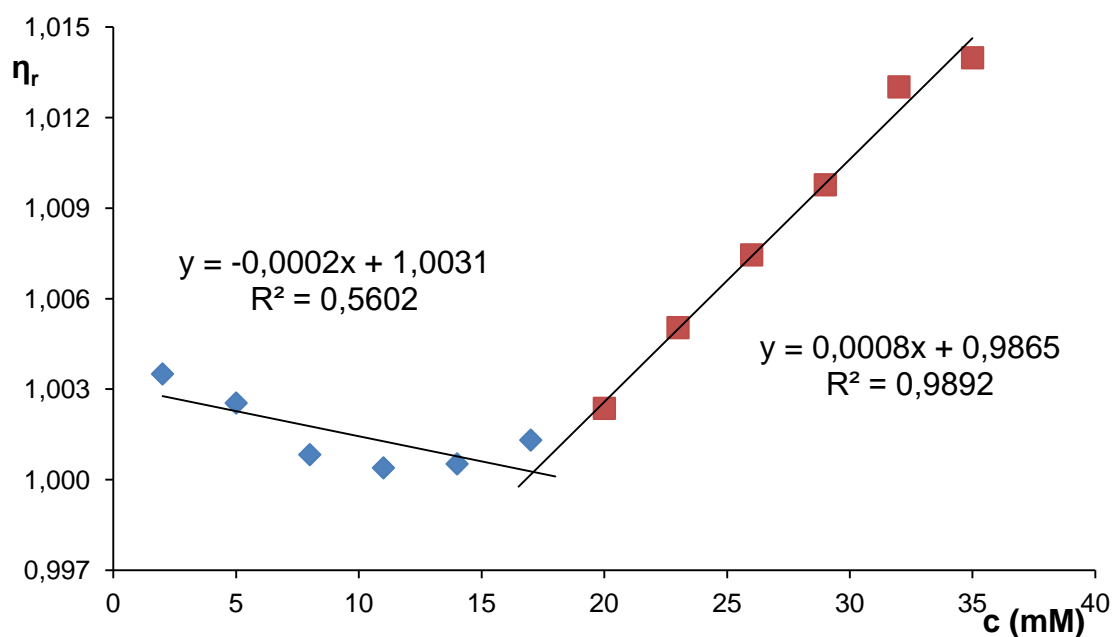
Koncentrace (mM)	$I$ ( $\mu\text{A}$ )	Směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
5,00	13,86	0,73
8,01	20,66	0,98
11,01	19,51	1,02
14,01	35,40	1,86
17,01	42,38	1,86
20,02	57,27	2,85
23,02	64,45	3,39
26,02	71,71	3,25
29,02	79,90	6,88
32,03	85,26	9,07
35,03	87,50	6,62
38,00	88,35	21,75
40,16	91,88	4,52
43,67	94,68	4,39



**Obr. 17:** Závislost proudu na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny ve vodě.

**Tab. 7:** Naměřené hodnoty migračního času a vypočítané hodnoty relativní viskozity  $\eta_r$  pro kalibrační řadu perfluoroheptanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

Koncentrace (mM)	$t_1$ (min)	$t_2$ (min)	$t_3$ (min)	Průměr $t_c$ (min)	Relativní viskozita $\eta_r$	Směrodatná odchylka
0	$t_0 = 7,603$					
2	7,647	7,633	7,610	7,630	1,004	0,02
5	7,636	7,624	7,608	7,623	1,003	0,01
8	7,675	7,536	7,618	7,610	1,001	0,07
11	7,629	7,595	7,595	7,606	1,000	0,02
14	7,623	7,599	7,600	7,607	1,001	0,01
17	7,609	7,613	7,618	7,613	1,001	0,01
20	7,620	7,625	7,619	7,621	1,002	0,00
23	7,631	7,640	7,654	7,642	1,005	0,01
26	7,673	7,656	7,651	7,660	1,007	0,01
29	7,689	7,676	7,668	7,678	1,010	0,01
32	7,696	7,713	7,698	7,702	1,013	0,01
35	7,723	7,704	7,702	7,710	1,014	0,01



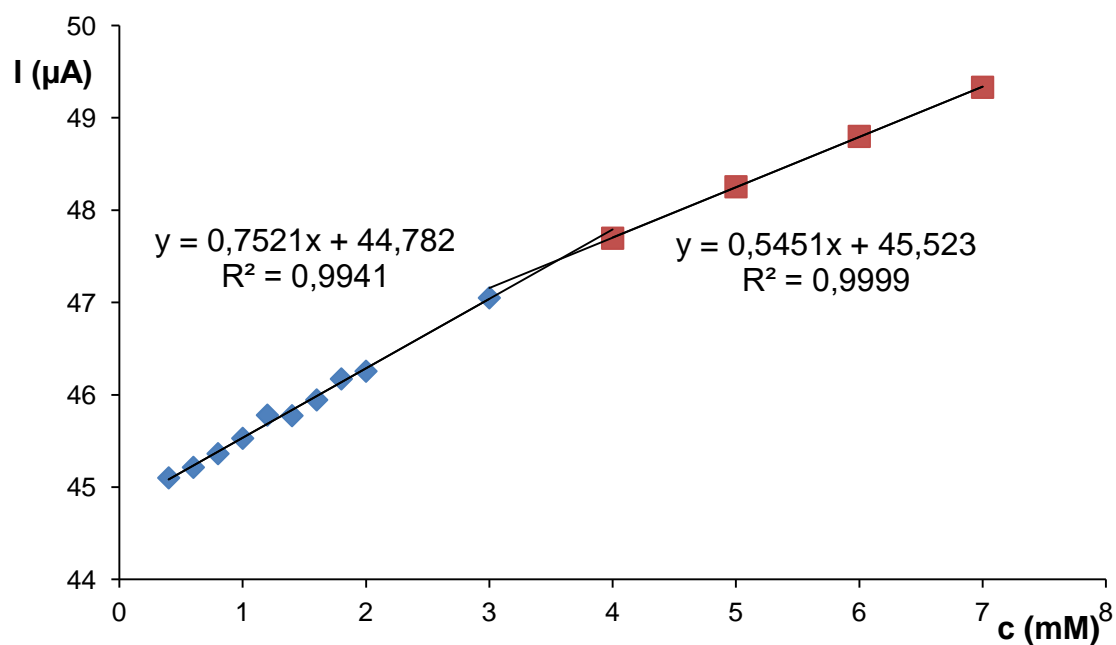
**Obr. 18:** Závislost relativní viskozity  $\eta_r$  na koncentraci perfluoroheptanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

## **Příloha 2**

### **Perfluorooktanová kyselina**

**Tab. 8:** Naměřené hodnoty proudu  $I$  a vypočítané hodnoty směrodatné odchylky pro kalibrační řadu perfluorooktanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

Koncentrace (mM)	$I$ ( $\mu\text{A}$ )	Směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,4	45,10	0,16
0,6	45,22	0,10
0,8	45,36	0,11
1,0	45,53	0,11
1,2	45,78	0,12
1,4	45,78	0,11
1,6	45,95	0,10
1,8	46,17	0,11
2,0	46,26	0,10
3,0	47,05	0,11
4,0	47,70	0,10
5,0	48,25	0,25
6,0	48,80	0,10
7,0	49,33	0,12

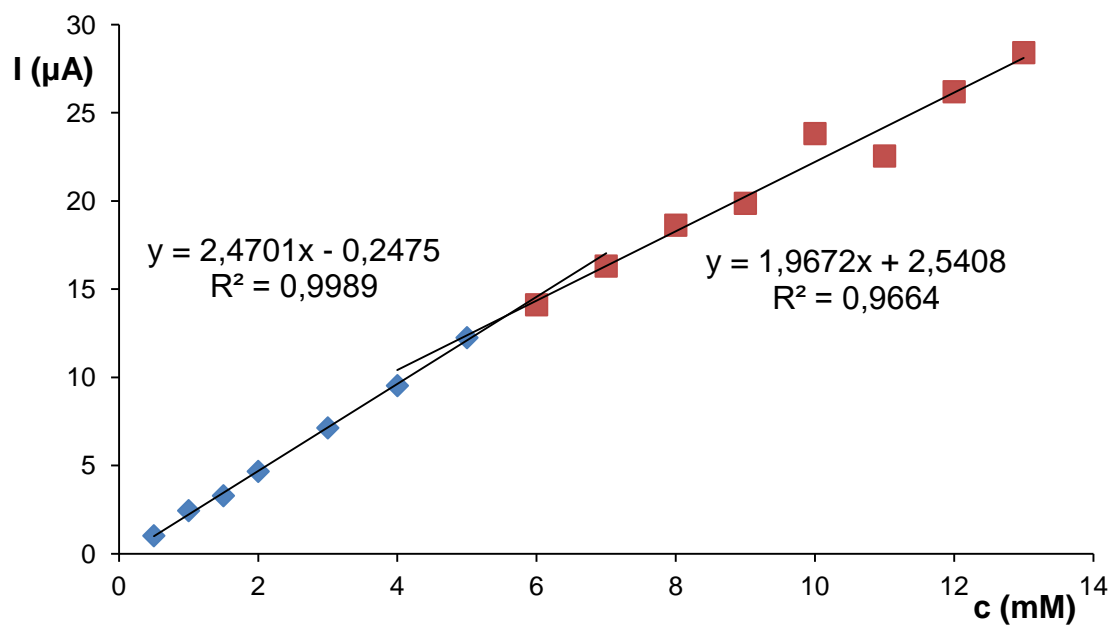


**Obr. 19:** Závislost proudu na koncentraci perfluorooktanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.



**Tab. 9:** Naměřené hodnoty proudu  $I$  a vypočítané hodnoty směrodatné odchylky pro kalibrační řadu perfluorooktanové kyseliny ve vodě.

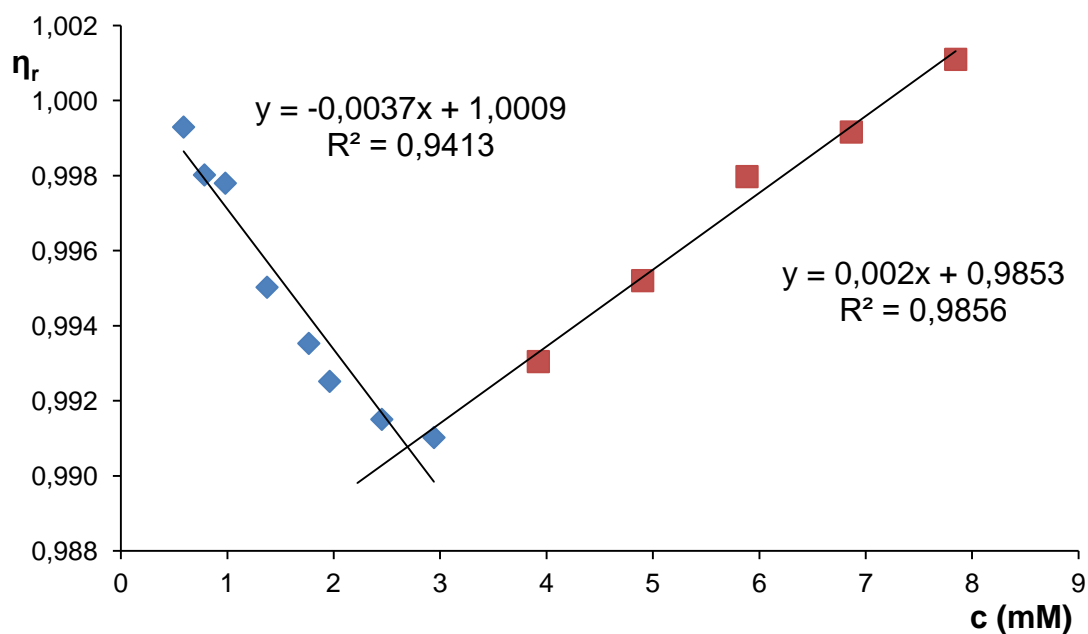
Koncentrace (mM)	$I$ ( $\mu\text{A}$ )	Směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,5	1,01	0,05
1,0	2,43	0,11
1,5	3,28	0,08
2,0	4,66	0,15
3,0	7,12	0,14
4,0	9,52	0,27
5,0	12,24	0,40
6,0	14,11	0,37
7,0	16,30	0,41
8,0	18,62	0,23
9,0	19,86	0,27
10,0	23,81	0,20
11,0	22,54	0,05
12,0	26,19	0,30
13,0	28,40	1,58



**Obr. 20:** Závislost proudu na koncentraci perfluorooktanové kyseliny ve vodě.

**Tab. 10:** Naměřené hodnoty migračního času a vypočítané hodnoty relativní viskozity  $\eta_r$  pro kalibrační řadu perfluorooktanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

Koncentrace (mM)	t <sub>1</sub> (min)	t <sub>2</sub> (min)	t <sub>3</sub> (min)	Průměr t <sub>c</sub> (min)	Relativní viskozita $\eta_r$	Směrodatná odchylka
0	$t_0 = 7,577$					
0,59	7,601	7,558	7,556	7,572	0,999	0,03
0,78	7,579	7,560	7,547	7,562	0,998	0,02
0,98	7,559	7,578	7,544	7,560	0,998	0,02
1,37	7,559	7,559	7,500	7,539	0,995	0,03
1,77	7,529	7,525	7,530	7,528	0,994	0,00
1,96	7,524	7,522	7,515	7,520	0,993	0,01
2,45	7,510	7,517	7,511	7,513	0,992	0,00
2,94	7,506	7,510	7,511	7,509	0,991	0,00
3,92	7,522	7,521	7,530	7,524	0,993	0,01
4,90	7,536	7,541	7,545	7,541	0,995	0,01
5,88	7,557	7,565	7,563	7,562	0,998	0,00
6,86	7,572	7,565	7,575	7,571	0,999	0,01
7,85	7,586	7,588	7,582	7,585	1,001	0,00



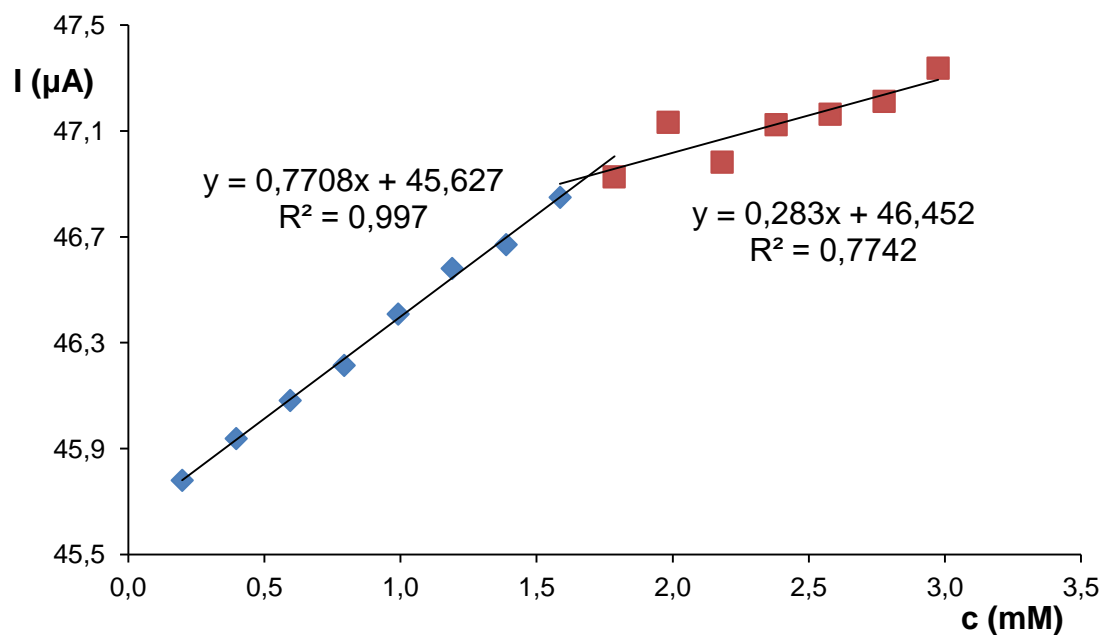
**Obr. 21:** Závislost relativní viskozity  $\eta_r$  na koncentraci perfluorooktanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

## **Příloha 3**

### **Perfluorononanová kyselina**

**Tab. 11:** Naměřené hodnoty proudu  $I$  a vypočítané hodnoty směrodatné odchylky pro kalibrační řadu perfluorononanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

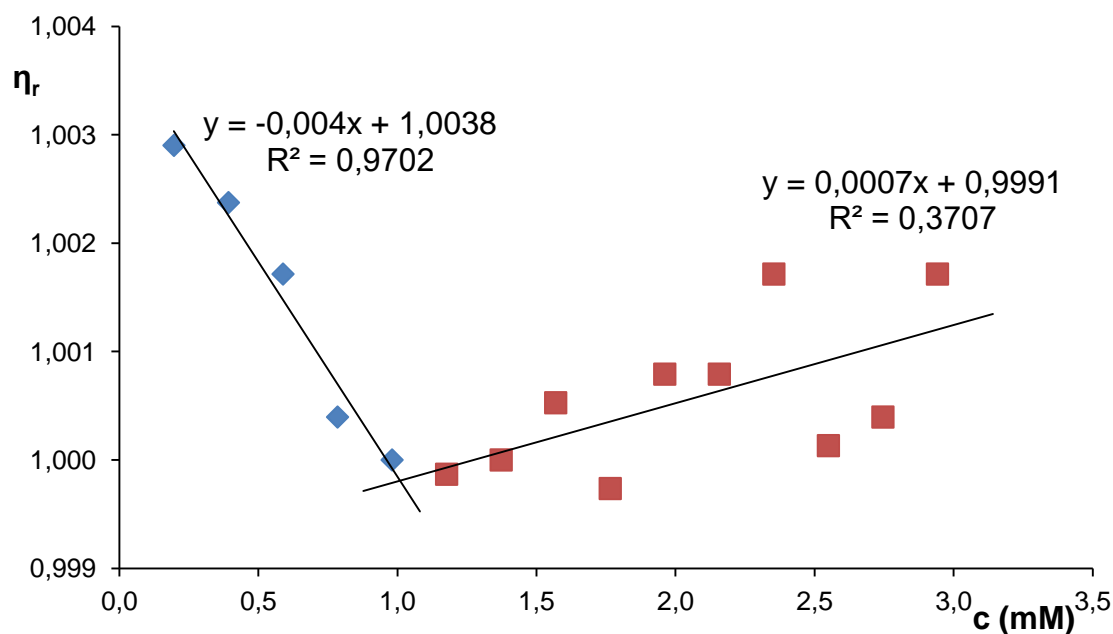
Koncentrace (mM)	$I$ ( $\mu\text{A}$ )	Směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,20	45,78	0,17
0,40	45,94	0,16
0,60	46,08	0,17
0,79	46,21	0,16
0,99	46,41	0,17
1,19	46,58	0,17
1,39	46,67	0,17
1,59	46,85	0,16
1,79	46,93	0,17
1,98	47,13	0,17
2,18	46,98	0,16
2,38	47,12	0,16
2,58	47,16	0,14
2,78	47,21	0,17
2,98	47,34	0,14



**Obr. 22:** Závislost proudu na koncentraci perfluorononanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

**Tab. 12:** Naměřené hodnoty migračního času a vypočítané hodnoty relativní viskozity  $\eta_r$  pro kalibrační řadu perfluorononanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.

Koncentrace (mM)	$t_1$ (min)	$t_2$ (min)	$t_3$ (min)	Průměr $t_c$ (min)	Relativní viskozita $\eta_r$	Směrodatná odchylka
0	$t_0 = 7,581$					
0,196	7,603	7,601	7,593	7,599	1,003	0,01
0,392	7,599	7,587	7,587	7,591	1,002	0,01
0,588	7,594	7,577	7,573	7,581	1,002	0,01
0,784	7,584	7,580	7,578	7,581	1,000	0,00
0,981	7,581	7,567	7,570	7,573	1,000	0,01
1,177	7,580	7,561	7,559	7,567	1,000	0,01
1,373	7,581	7,619	7,561	7,587	1,000	0,03
1,569	7,585	7,592	7,591	7,589	1,001	0,00
1,765	7,579	7,589	7,590	7,586	1,000	0,01
1,961	7,587	7,597	7,598	7,594	1,001	0,01
2,157	7,587	7,578	7,579	7,581	1,001	0,00
2,353	7,594	7,583	7,583	7,587	1,002	0,01
2,550	7,582	7,568	7,569	7,573	1,000	0,01
2,746	7,584	7,575	7,580	7,580	1,000	0,00
2,942	7,594	7,562	7,565	7,574	1,002	0,02



**Obr. 23:** Závislost relativní viskozity  $\eta_r$  na koncentraci perfluorononanové kyseliny v 50 mM octanu amonném o pH 9.