

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Katedra analytické chemie

Kritická micelární koncentrace aniontových tenzidů v prostředí těkavých  
elektrolytů

Bc. Zuzana Smetanová

Diplomová práce

2017

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Zuzana Smetanová**  
Osobní číslo: **C15588**  
Studijní program: **N1407 Chemie**  
Studijní obor: **Analytická chemie**  
Název tématu: **Kritická micelární koncentrace aniontových tenzidů  
v prostředí těkavých elektrolytů**  
Zadávající 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 elektroforesy.
2. Stanovte kritickou micelární koncentraci vybraných aniontových tenzidů alkylsíránů sodných pomocí elektroforetických metod. Stanovení proveďte ve vodném prostředí a v prostředí těkavých elektrolytů, vhodných pro spojení s hmotnostní spektrometrií.
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:

Tuto práci jsem 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.

V Pardubicích dne 15. 5. 2017

Zuzana Smetanová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Petru Česlovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích.

Velký dík patří rovněž Ing. Janě Váňové za předané zkušenosti, pomoc a ochotu jak při samotném měření, tak při zpracování teoretické a experimentální části práce a taktéž za poskytnuté materiály, které jsem při zpracování své práce využila.

V neposlední řadě děkuji mojí rodině za to, že mi umožnila studium na vysoké škole, a že jsem v nich po celou dobu studia nacházela oporu a psychickou podporu.

Děkuji

## **ANOTACE**

Diplomová práce se zabývá stanovením kritické micelární koncentrace aniontových tenzidů v prostředí těkavých elektrolytů kapilární elektroforézou. Cílem diplomové práce bylo vyhledat a zpracovat práce, které pojednávají o kritické micelární koncentraci aniontových tenzidů a jejím stanovení kapilární elektroforézou. Kritická micelární koncentrace byla stanovena u vybraných aniontových tenzidů alkylsírání sodných pomocí elektroforetických metod. Stanovení bylo provedeno jak ve vodném prostředí, tak v prostředí těkavých elektrolytů, vhodných pro spojení s hmotnostní spektrometrií.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

kritická micelární koncentrace, aniontové tenzidy, elektrolyt, kapilární elektroforéza

## **TITLE**

Critical micelle concentration of anionic surfactants in volatile electrolytes

## **ANNOTATION**

This diploma thesis deals with determination of critical micelle concentration of anionic surfactants in the environment of the volatile buffers using capillary electrophoresis. The aim of this thesis was to find and process the works that deal with the critical micelle concentration of anionic surfactants and the determination of capillary electrophoresis. The critical micelle concentration was determined for selected anionic surfactants, sodium alkyl sulfates, using electrophoretic methods. Evaluation was performed in an aqueous environment and in the environment of volatile electrolytes suitable for coupling with mass spectrometry.

## **KEYWORDS**

critical micelle concentration, anionic surfactants, electrolyte, capillary electrophoresis

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	9
SEZNAM TABULEK .....	10
SEZNAM ZKRATEK .....	11
ÚVOD .....	12
1 Teoretická část .....	13
1.1 Tenzidy.....	13
1.2 Historie tenzidů .....	13
1.3 Rozdělení tenzidů.....	14
1.3.1 Aniontové tenzidy .....	15
1.3.2 Kationtové tenzidy.....	16
1.3.3 Neiontové tenzidy.....	16
1.3.4 Amfoterní tenzidy.....	17
1.4 Využití tenzidů v analytické chemii.....	17
1.5 Tvorba micel .....	19
1.5.1 Struktura a tvar micel .....	20
1.6 Možnosti ovlivnění kritické micelární koncentrace .....	21
1.7 Stanovení kritické micelární koncentrace .....	23
1.7.1 Měření povrchového napětí .....	23
1.8 Stanovení <i>cmc</i> elektroforetickými metodami.....	24
1.8.1 Měření vodivosti.....	24
1.8.2 Měření viskozity .....	25
1.8.3 Metoda založená na měření proudu.....	25
1.8.4 Metoda založená na měření retenčního faktoru.....	26
1.8.5 Metoda založená na měření retenčního času .....	27
1.8.6 Metoda založená na měření pohyblivosti .....	28
1.9 Elektroforéza .....	29

1.9.1 Elektroforetická pohyblivost .....	30
1.9.2 Elektroosmotický tok.....	30
1.9.3 Kapilární zónová elektroforéza .....	31
1.9.4 Micelární elektrokinetická chromatografie .....	32
1.9.5 Spojení micelární elektrokinetické chromatografie a hmotnostní spektrometrie .....	33
2 Experimentální část.....	36
2.1 Použité chemikálie .....	36
2.2 Použité přístroje a vybavení .....	37
2.3 Použité programy pro vyhodnocení a zpracování dat .....	37
2.4 Pracovní postup .....	38
2.4.1 Příprava kapiláry .....	38
2.4.2 Postup přípravy základního elektrolytu.....	38
2.4.3 Postup přípravy roztoků tenzidů.....	38
2.4.4 Stanovení kritické micelární koncentrace .....	39
3 Výsledky a diskuze .....	41
3.1 Stanovení kritické micelární koncentrace .....	41
3.1.1 Undecylsírán sodný .....	43
3.1.2 Dodecylsírán sodný .....	44
3.1.3 Tridecylsírán sodný .....	45
3.1.4 Porovnání stanovení kritické micelární koncentrace.....	46
4 ZÁVĚR .....	51
5 POUŽITÁ LITERATURA .....	52
PŘÍLOHOVÁ ČÁST .....	58



## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> <i>Struktura SDS.</i> .....	16
<b>Obrázek 2:</b> <i>Rozpustnost povrchově aktivních látek v závislosti na teplotě a Krafftova teplota</i> .....	20
<b>Obrázek 3:</b> <i>Tvary micel: a) kulovitý; b) vláknitý; c) lamelární.</i> .....	21
<b>Obrázek 4:</b> <i>Znázornění závislosti fyzikálně-chemických veličin na koncentraci koloidu (<math>\rho</math>- hustota; <math>\pi</math>-osmotický tlak; <math>\eta</math>-viskozita; <math>\gamma</math>-povrchové napětí; <math>\lambda</math>- molární vodivost; <math>\tau</math>-turbidita</i>	23
<b>Obrázek 5:</b> <i>Závislost povrchového napětí na koncentraci tenzidu SDS.</i> .....	24
<b>Obrázek 6:</b> <i>Změny vodivosti v závislosti na rostoucí koncentraci tenzidu SDS ve vodě.</i> .....	24
<b>Obrázek 7:</b> <i>Závislost proudu na koncentraci SDS ve vodě.</i> .....	26
<b>Obrázek 8:</b> <i>Závislost retenčního faktoru na koncentraci SDS pro neutrální látky; 2- resorcinol, 3- fenol, 4- p-nitroanilin, 5- nitrobenzen, 6- toluen, 7- naftol.</i> .....	27
<b>Obrázek 9:</b> <i>Závislost migračního času analytu na koncentraci SDS ve 20 mM fosfátovém pufru, pH 7. ○ toluen, ● 2-naftalenmethanol, ▲ naftol.</i> .....	28
<b>Obrázek 10:</b> <i>Schéma zařízení pro kapilární elektroforézu.</i> .....	30
<b>Obrázek 11:</b> <i>Vznik elektroosmotického toku.</i> .....	31
<b>Obrázek 12:</b> <i>Příklady komerčních systémů pro kapilární zónovou elektroforézu.</i> .....	32
<b>Obrázek 13:</b> <i>Mechanismus MEKC při použití aniontového tenzidu.</i> .....	32
<b>Obrázek 14:</b> <i>Zařízení použité k měření</i> .....	37
<b>Obrázek 15:</b> <i>Závislost proudu na koncentraci SDS v: a) 25,3 mM octanu amonném, pH 8; b) 25 mM octanu amonném, pH 9,1; c) 49,8 mM octanu amonném, pH 8; d) 50 mM octanu amonném, pH 9. Modře označené body přísluší koncentracím SDS v submicelární oblasti a červené v micelární oblasti.</i> .....	41
<b>Obrázek 16:</b> <i>Závislost proudu na koncentraci SDS v: a) 25 mM mravenčanu amonném, pH 8; b) 25 mM mravenčanu amonném, pH 9; c) 41,8 mM mravenčanu amonném, pH 8,1; d) 50 mM mravenčanu amonném, pH 9. Modře označené body přísluší koncentracím SDS v submicelární oblasti a červené v micelární oblasti.</i> .....	42
<b>Obrázek 1:</b> <i>Grafické znázornění výsledků cmc SDS v 50 mM octanu amonném, pH 9 v závislosti na koncentraci ACN v základním elektrolytu získané jednotlivými metodami.</i> .....	49

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Stanovené hodnoty cmc SDS v jednotlivých pufrách metodou založenou na měření proudu.....	42
<b>Tabulka 2:</b> Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace 1- undecylsírany sodného.....	48
<b>Tabulka 3:</b> Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace SDS.....	48
<b>Tabulka 4:</b> Analýza rozptylu (ANOVA) hodnot cmc pro SDS získaných jednotlivými metodami a výsledek Tukeyova testu. Stanovení cmc bylo provedeno v 50 mM octnanu amonném o pH 9.....	49
<b>Tabulka 5:</b> Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace n-tridecylsírany sodného.....	50

## SEZNAM ZKRATEK

ACN	acetonitril
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	fotoionizace za atmosférického tlaku
BGE	základní elektrolyt
CAC	kritická agregační koncentrace
CE	kapilární elektroforéza
<i>cmc</i>	kritická micelární koncentrace
CTAB	hexadecyltrimethylamonium bromid
EOF	elektroosmotický tok
ESI	ionizace elektrosprejem
HLB	hydrofilně-lipofilní rovnováha
MALDI	ionizace laserem za účasti matrice
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
PAL	povrchově aktivní látky
SDS	dodecylsírán sodný

## ÚVOD

Povrchově aktivní látky neboli tenzidy představují vzhledem ke svým vlastnostem významnou skupinu látek. Tenzidy patří mezi látky s širokým obsahem aplikací, uplatnění nacházejí v celé řadě oborů – používají se v chemickém a farmaceutickém průmyslu, v domácnostech, kde jsou běžnou součástí pracích a čisticích prostředků, ale i v analytické chemii a některých nových technologických postupech. Tenzidy se dělí do čtyř skupin v závislosti na charakteru polární části, rozlišujeme tenzidy kationtové, aniontové, neiontové a amfoterní. Nejvíce využívané jsou aniontové tenzidy, proto je tato práce zaměřena na stanovení kritické micelární koncentrace alkylsíránů sodných pomocí kapilární elektroforézy. Kapilární elektroforéza je instrumentálně nenáročná analytická metoda; je rychlá a její velkou výhodou je malá spotřeba vzorku a chemikálií.

Kritická micelární koncentrace je fyzikálně-chemická vlastnost charakterizující právě tenzidy. Po dosažení kritické micelární koncentrace se tenzidy shlukují do útvarů zvaných micely. Hodnota kritické micelární koncentrace se udává pro každý tenzid v konkrétním rozpouštědle a je ovlivňována celou řadou faktorů jako je pH, teplota a složení elektrolytu.

V této diplomové práci byla stanovena kritická micelární koncentrace vybraných aniontových tenzidů (alkylsíránů sodných) pomocí elektroforetických metod, a to ve vodném prostředí a v prostředí těkavých elektrolytů, jež jsou kompatibilní pro spojení s hmotnostní spektrometrií. Výsledky stanovení kritické micelární koncentrace jednotlivými metodami jsou mezi sebou porovnány.

# 1 Teoretická část

## 1.1 Tenzidy

Pojmem tenzidy, (z latinského *tensio*) neboli také povrchově aktivní látky (PAL) anebo surfaktanty, jsou označovány organické molekuly s bipolární asymetrickou strukturou (jedna část molekuly je hydrofilní a druhá část molekuly hydrofobní), které mají amfifilní (amfipatické) vlastnosti [1-4]. Mezi charakteristické vlastnosti tenzidů patří stabilizace, případně rušení disperzních systémů, snižování tření, urychlování technologických procesů a ovlivňování fyzikálně-mechanických vlastností materiálů; dále se účastní biologických procesů, které probíhají v živých organismech [2]. Tenzidy se adsorbují již při nízkých koncentracích na fázovém rozhraní, právě v důsledku jejich amfipatické povahy, a snižují tak mezifázovou, resp. povrchovou energii [1,3,5]. Právě tato vlastnost usnadňuje smáčení povrchu a odstraňování nečistot [1,6]. Tenzidy jsou hlavní součástí pracích, čisticích, emulgačních, dispergačních a pěnících prostředků, které navíc obsahují přísady, jež zlepšují a doplňují jejich účinky. Souhrnně se tyto prostředky označují jako detergenty [7].

## 1.2 Historie tenzidů

Za první průmyslově vyráběný tenzid může být považováno mýdlo (draselná nebo sodná sůl vyšších mastných kyselin) [4,8]. Mýdla alkalických kovů se používají již více než 2000 let. Pro jejich výrobu se používala směs rostlin, živočišného tuku a popela ze dřeva [1,5].

Sulfátové oleje jsou první dokumentované syntetické produkty, jež se vyznačují svojí povrchovou aktivitou. Z důvodu nedostatku živočišných a rostlinných tuků se za první světové války v Německu vyráběly syntetické PAL, např. alkylnaftalensulfonáty, s krátkými alifatickými řetězci reakcí propylalkoholu nebo butylalkoholu s naftalenem a následnou sulfonací. Bylo zjištěno, že i přes nízké čisticí účinky mají alkylnaftalensulfonáty dokonalé smáčecí schopnosti a používají se dodnes [1,5].

20. a 30. léta 20. století jsou považována za počátek výroby sulfatovaných alkoholů s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem. Počátkem 30. let 20. století se rozvíjela taktéž syntéza alkylarylsulfonátů s benzenem. Jako čisticí prostředky se v té době používaly sulfáty alkoholu i alkylbensensulfonáty. Po ukončení druhé světové války se vyvíjelo široké

spektrum nových povrchově aktivních látek, např. alkansulfátů a derivátů kyseliny 2-aminoethansulfonové, a to z důvodu rozvoje nových organických syntéz a dostupnosti nových surovin. Rozvívěla se i výroba sekundárních olefinsulfátů. Každý z těchto syntetických tenzidů měl jak své výhody, tak nevýhody. Jejich výroba je ovlivněna dostupností a cenou surovin, náročností syntézy, stabilitou produktu a v neposlední řadě ekonomickou náročností [1,5].

Dalšími syntetickými tenzidy byly alkylbenzensulfonáty, kde byl alkylem tetramer propylenu. Jejich výroba byla snadná, staly se oblíbenými na světovém trhu a potlačily výrobu doposud užívaných tenzidů. V letech 1950 až 1965 zastávaly více než polovinu tenzidů používaných po celém světě [1,5].

Studium rozložitelnosti tenzidů ukázalo, že lineární alkylbenzensulfonáty jsou lépe biologicky rozložitelné a tím také ekologicky přijatelnější. Většina producentů detergentů již vyrábí lineární alkylbenzensulfonáty. Již koncem 80. let 20. století bylo více jak 75 % syntetických tenzidů připraveno z lineárních alkylbenzensulfonátů [1,5].

### **1.3 Rozdělení tenzidů**

Tenzidy lze rozdělit podle několika kritérií. Jde o dělení na základě hydrofilní a hydrofobní složky, použití číselné hodnoty HLB (hydrofilně-lipofilní rovnováha) a biologické rozložitelnosti. Nejčastější dělení je podle iontového charakteru [1-3,7,9,10].

Povrchově aktivní látky se dělí na iontové a neiontové podle iontového charakteru hydrofilní složky, a to v závislosti na chování ve vodných roztocích. O iontových tenzidech hovoříme tehdy, pokud dochází ve vodném prostředí k jejich disociaci. Naopak, pokud k disociaci nedochází, jedná se o tenzidy neiontové [9,10]. Po rozpuštění iontových tenzidů ve vodě dojde k tvorbě iontů. Ty se vytvoří oddálením původní části molekuly na místě iontové vazby a vytvořením solvatového obalu kolem každého iontu, konkrétně kolem každého místa, v němž je lokalizován náboj. K tomu dojde účinkem vody, která je polárním dobře solvatujícím prostředím [1,11].

Mezi iontové tenzidy se řadí tenzidy kationtové, aniontové a amfolytické. Kationtové tenzidy disociují na povrchově aktivní kation, naopak aniontové na povrchově aktivní anion.

Neiontové nedisociují; rozpouštějí se solvatací většího počtu hydrofilních skupin [7,10] a obsahují polární nedisociovanou skupinu –OH, –O– [7]. Podle hodnoty pH prostředí mohou amfoterní tenzidy nabývat aniontového nebo kationtového charakteru [12]. Nejčastěji se jako protiionty používají jednoduché ionty ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  apod.) [10].

### 1.3.1 Aniontové tenzidy

Molekuly aniontových tenzidů disociují za vzniku objemného organického aniontu; ten je nositelem povrchové aktivity. Kationtem je potom některý z alkalických kovů nebo amonný kation. Jedná se o:

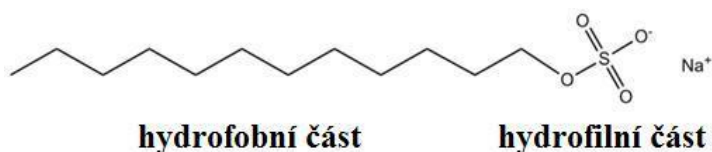
1. soli karboxylových kyselin
2. alkylarylsulfonany
3. alkylsírany
4. alkylsulfonany
5. fosfáty a estery kyseliny fosforečné

V technické praxi jsou nejběžnější právě aniontové povrchově aktivní látky [13]. Zároveň se řadí k nejčastějším typům tenzidů obsažených v detergentech používaných v domácnostech [14]. Představují 70-75 % celkové spotřeby. Využívají se jako smáčečí, dispergační, emulgační, penetrační a detergentní přípravky. Maximální účinnost vykazují v alkalickém prostředí [1,13,14].

Mýdla vyráběná z živočišných a rostlinných tuků a olejů jsou nejstaršími zástupci této skupiny. Dlouhou dobu patřila k jediným dostupným tenzidům. Později se v mnoha moderních průmyslových procesech projevily funkční nedostatky klasických mýdel, a proto začal vývoj syntetických tenzidů, které se více osvědčily v řadě průmyslových aplikací [5]. Jako výchozí suroviny se pro výrobu syntetických aniontových tenzidů používají jednosytné alkoholy s delším uhlíkatým řetězcem, mastné kyseliny a nenasycené uhlovodíky  $\text{C}_8\text{-C}_{18}$ , toluen, naftalen a fenol. Činidlem je koncentrovaná kyselina sírová, oleum, kyselina chlorsulfonová a oxid sírový [6,9].

Nejčastěji používaným a nejznámějším aniontovým tenzidem je dodecylsírany sodný (SDS, obr. 1), který se řadí mezi alkylsírany (estery kyseliny sírové), s obecným vzorcem  $\text{R-CH}_2\text{-O-SO}_3\text{Na}$ . Alkylsírany se připravují sulfatací vyšších alifatických alkoholů  $\text{C}_8\text{-C}_{18}$ . Sulfátová

skupina  $-O-SO_3-Na$  je umístěna na konci řetězce. Alkylsírany mají vysokou povrchovou aktivitu, a to i v kyselém prostředí. Lineární alkylsírany jsou dobře biologicky rozložitelné [7].



**Obrázek 2:** *Struktura SDS*; převzato z [15].

### 1.3.2 Kationtové tenzidy

Jedná se o sloučeniny s jednou nebo více funkčními skupinami, které ve vodném roztoku disociují za vzniku kladně nabitých organických iontů [2,4]. Hlavní význam kationtových tenzidů spočívá v jejich desinfekčních a antiseptických účincích díky jejich bakteriostatickým vlastnostem [3]. Jejich germicidní účinky jsou důvodem používání těchto tenzidů ve farmacii [6,11]. Uplatnění nacházejí také v textilním průmyslu [5]. Kvůli změkčovacím a antistatickým vlastnostem jsou obsaženy v avivážních přípravcích. Kationtové tenzidy působí také jako inhibitory koroze [5]. Dále se používají jako koupelňové přísady a do kondicionérů pro vlasovou kosmetiku [6].

Největší zastoupení a význam z kationtových tenzidů mají kvarterní amoniové a pyridinové sloučeniny (chloridy nebo methosulfáty), které mají v molekule aspoň jeden dlouhý hydrofobní uhlovodíkový řetězec spojený s pozitivně nabitým atomem dusíku a další alkylové skupiny (metyl- nebo benzyl-) jako substituenty [7]. Vzhledem k silné ionizaci jsou nejvýznamnější primární a kvartérní aminy [10]. Nevýhodou těchto tenzidů je nízká detergenční schopnost a v porovnání s aniontovými a neiontovými tenzidy i jejich vyšší cena [16].

### 1.3.3 Neiontové tenzidy

Neiontové tenzidy ve vodném roztoku nedisociují na ionty. Rozpustnost těchto látek ve vodě je umožněna díky přítomnosti polárních hydrofilních funkčních skupin v molekule se



silnou hydratační schopností, např. amino-, hydroxy- a etherické skupiny, nebo díky přítomnosti kyslíkových můstků, které mají k vodě vysokou afinitu, tvoří s molekulami vody vodíkové můstky a právě to vede k rozpustnosti těchto látek ve vodě [16]. Hydrofobní část molekuly je tvořena alifatickými uhlovodíkovými nebo alkylfenolovými řetězci [2,17].

### **1.3.4 Amfoterní tenzidy**

Pro amfoterní tenzidy je charakteristické, že jsou tvořeny dvěma hydrofilními skupinami. Skupiny kyselé (karboxylové, sulfoskupiny) a skupiny zásadité (aminoskupiny nebo amoniové skupiny) dávají molekule amfoterní charakter; to znamená, že se v alkalickém prostředí chovají jako aniontové a v kyselém prostředí jako kationtové tenzidy. V molekule amfolytického tenzidu musí být přítomen alespoň jeden dlouhý alifatický řetězec [7].

Z důvodu vysoké výrobní ceny jsou amfoterní tenzidy používány prakticky pouze v kosmetice. Častou součástí tekutých mýdel, šampónů a pěn do koupele jsou právě směsi amfoterních a aniontových tenzidů [7]. V porovnání se samostatnými tenzidy jsou tyto kombinace méně dráždivé pro pokožku a oči [3].

## **1.4 Využití tenzidů v analytické chemii**

Tenzidy jsou díky svým vlastnostem hojně využívány v separačních technikách. Vedle nejčastěji užívaného aniontového tenzidu SDS a hexadecyltrimethylamonium bromidu, který patří mezi kationtové tenzidy, se dále využívají také cholové kyseliny, jejich deriváty a chirální tenzidy. Z neiontových tenzidů nacházejí uplatnění např. polyoxyethylenované alkoholy [18,19].

V micelární kapalinové chromatografii v systémech s obrácenými fázemi mohou micely tenzidů částečně nebo úplně nahradit polární organickou složku mobilní fáze (methanol nebo acetonitril). Kapalná fáze je za přítomnosti micel tenzidů složená z vodné fáze a micelární pseudofáze. Tenzid je v kapalinové chromatografii s obrácenými fázemi sorbován na stacionární nepolární fázi. Při separaci se látky mohou rozdělovat mezi vodnou fázi, micelární pseudofázi a nebo stacionární fázi. Polarita stacionární fáze je ovlivněna typem tenzidu.

Pokud se použije právě aniontový tenzid v kombinaci s nepolární stacionární fází, je povrch stacionární fáze hydrofilní a se záporným nábojem. Při použití polárnější stacionární fáze se vytváří pseudo-nepolární stacionární fáze, což je výsledkem sorpce iontových tenzidů jejich polární skupinou na stacionární fázi [20]. V micelární kapalinové chromatografii s hybridními mobilními fázemi lze dosáhnout potřebné selektivity separace vhodnou kombinací koncentrace tenzidu a organické složky mobilní fáze. Selektivitu separace ovlivňuje vedle koncentrace použitého tenzidu i jeho typ [21].

V kapilární elektroforéze mohou mít tenzidy dvojí využití. V prvním případě, po dosažení kritické micelární koncentrace (*cmc*) tenzidu vznikají v základním elektrolytu micely, které tvoří pseudostacionární fázi a jsou využívány zejména pro separaci neutrálních látek. Metoda, jejíž princip je založen na rozdílném distribučním koeficientu analytů mezi pseudostacionární a vodnou mobilní fází se nazývá micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC). Dále lze pomocí tenzidů v základním elektrolytu ovlivnit velikost a směr elektroosmotického toku v křemenných separačních kapilárách [19].

V micelární elektrokinetické chromatografii jsou tenzidy o koncentraci vyšší než *cmc* přidávány do základního elektrolytu a vytvářejí micely, které mají nepolární alkylové řetězce orientované dovnitř micely a polární koncové skupiny orientované do okolního vodného roztoku. Aby bylo dosaženo co nejlepšího rozlišení neutrálních látek pomocí MEKC je důležité zvolit správný typ a koncentraci tenzidu. Nejčastějším tenzidem používaným v MEKC je SDS [19,22]. Uplatnění nacházejí také neiontové tenzidy; ty se ale v elektrickém poli nepohybují a samotné nemohou být použity jako pseudostacionární fáze pro separaci neutrálních látek. Obsahují ale polyoxyethylenové skupiny, a ty v kombinaci s aniontovými tenzidy mohou ovlivňovat selektivitu separace [19,23]. Přítomnost micel tenzidů v základním elektrolytu, jímž je naplněna separační kapilára, je také využívána při on-line zakoncentrování vzorků, při tzv. sweepingu [24]. U této metody je potlačen elektroosmotický tok v kapiláře na minimum snížením pH základního elektrolytu nebo chemickou modifikací vnitřní stěny kapiláry [19]. Při tomto jevu jsou separované látky zachytávány a zakoncentrovávány micelární pseudostacionární fází, která po vložení napětí na kapiláru proniká do zóny vzorku. Vzorek je rozpuštěn v matrici, která je svou vodivostí blízká vodivosti micelárního základního elektrolytu; neobsahuje ale micely tenzidu. Technika je vhodná převážně pro zakoncentrování nepolárních látek [24].

Přirozenou vlastností tenzidů je schopnost adsorbovat se na povrchu pevných látek. Právě adsorpce je výsledkem kombinace elektrostatických a hydrofobních interakcí s povrchem. Dynamické pokrytí kapiláry pomocí adsorpce tenzidu slouží k modifikaci povrchu. Při dynamickém pokrývání křemenné kapiláry se nejčastěji používají kationtové tenzidy, hlavně hexadecyltrimethylamonium bromid (CTAB), který elektroosmotický tok potlačuje nebo obrací. Hlavní využití nachází dynamické pokrytí kapiláry adsorpcí CTAB při separaci anorganických aniontů pomocí kapilární elektroforézy [19].

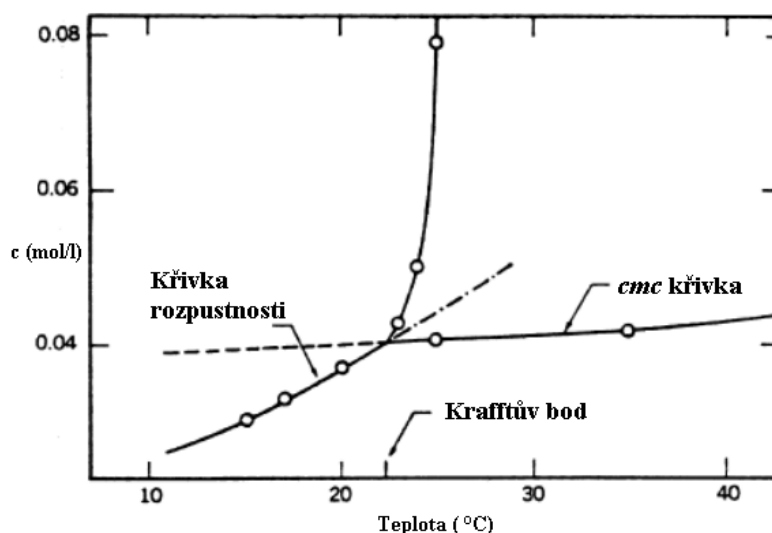
## 1.5 Tvorba micel

Pro tenzidy je charakteristická tvorba micelárních roztoků. Ve vodném prostředí je tvorba micel jakýmsi ústupkem mezi afinitou polárních částí tenzidů k vodnému prostředí a současnou snahou alkylových řetězců vyhnout se energeticky nevýhodnému kontaktu s vodou [25]. Na rozhraní dvou prostředí vzniká adsorpce tzv. adsorpční vrstva; v ní je koncentrace tenzidu vyšší než v prostředích, na jejichž rozhraních se vytvořila [26]. Aby mohly útvary koloidní velikosti (micely) vzniknout, musí být rozdíl mezimolekulových sil rozpouštědla a povrchově aktivní látky nenulový; systém se snaží dostat do stavu s nejnižší energií [2]. Micely se vytváří díky přítomnosti hydrofilní a hydrofobní skupiny v molekule tenzidu a vznikají od určité koncentrace povrchově aktivních látek v roztoku, tzv. kritické micelární koncentrace, která se u jednotlivých tenzidů liší [4,9,27].

Hydrofobní (nepolární) část molekuly tenzidu je tvořena dlouhým uhlovodíkovým řetězcem, který obsahuje osm a více uhlíků. V systému tvořeném polárním a nepolárním rozpouštědlem je orientována směrem k nepolární fázi. Uhlíkové řetězce mohou být fluorované, perfluorované a siloxanové; mohou být rozvětvené a taktéž mohou obsahovat benzenová jádra. Čím je uhlovodíkový řetězec delší, tím více roste povrchová aktivita tenzidů [2,9]. Hydrofilní (polární) část molekuly je tvořena alespoň jednou funkční skupinou obsahující heteroatomy (COOH, SO<sub>3</sub>H a další). Ve vodném prostředí je silně hydratovaná a má velkou afinitu k vodě. Hydrofilní skupina v molekule ovlivňuje celkovou polaritu, rozdělení elektrického náboje a celkový iontový charakter tenzidu [2,9].

Pro dosažení kritické micelární koncentrace je nezbytná dostatečně vysoká teplota systému, při níž rozpustnost tenzidu dosahuje hodnoty *cmc* (Krafftova teplota). Nad tuto

teplotu rozpustnost PAL stoupá díky tvorbě micel v roztoku; pod touto teplotou tenzidy zůstávají v nerozpustné formě [4,9,26,27]. Krafftova teplota je přesněji kritickým teplotním intervalem, při kterém se jinak průhledný roztok mýdel nebo některých aniontových tenzidů zakalí [2]. Závislost koncentrace rozpuštěného tenzidu na teplotě (obr. 2) znázorňuje, že pod Krafftovou teplotou je rozpustnost tenzidu nízká a vzrůstá s rostoucí teplotou až do hodnoty odpovídající Krafftově teplotě. Při Krafftově teplotě je dosaženo *cmc*, molekuly tenzidu jsou sdružovány do micel a rozpustnost se zvyšuje. Nad Krafftovou teplotou dochází při dosažení *cmc* ke snížení povrchového nebo mezifázového napětí. Krafftova teplota je výrazně ovlivněna strukturou tenzidu a vykazují ji všechny typy tenzidů, avšak u neiontových tenzidů je trend závislosti koncentrace na teplotě opačný. S rostoucí teplotou rozpustnost klesá a při určité teplotě, označované jako bod zákalu, neiontové tenzidy dokonce ztrácejí svoji povrchovou aktivitu [25,28,29].



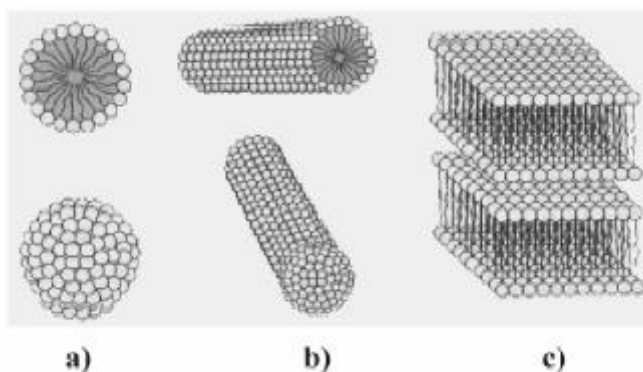
**Obrázek 3:** Rozpustnost povrchově aktivních látek v závislosti na teplotě a Krafftova teplota; upraveno podle [29].

### 1.5.1 Struktura a tvar micel

Micela je uspořádaným agregátem iontů nebo molekul, který vznikne v roztoku tenzidu, jehož koncentrace je vyšší než kritická micelární koncentrace. Micely, které v roztoku vznikají, jsou strukturně odlišné (obr. 3) a závisí na množství a polaritě tenzidu. Mohou být kulovité, lamelární a hexagonální [2].

Sférické micely vznikají nejčastěji, a to hlavně ve zředěných roztocích tenzidů v oblasti blízké kritické micelární koncentraci. Jádro micely je ve vodném prostředí tvořeno hydrofobními řetězci a na povrchu micely jsou hydrofilní skupiny tenzidu [2,28].

Složitější micelární útvary, lamelární a hexagonální, se tvoří při koncentracích tenzidů v roztoku pohybujících se nad hodnotami kritických micelárních koncentrací. S rostoucí koncentrací tenzidu v roztoku roste rozměr micel a uhlovodíkové řetězce se formují vzájemně rovnoběžně. Kulovité micely se tak nejprve přeměňují na válcovité struktury. Pokud se koncentrace ještě zvýší, vznikají micely lamelární složené střídavě z vrstvy rozpouštědla a dvojitých řad amfifilních molekul tenzidu – hydrofobní části molekuly tenzidu jsou uloženy paralelně uvnitř řady [2,28]. Hexagonální micely vznikají rovnoběžným uložením normálních micel ve tvaru tyčinek, válečků nebo disků do větších hexagonálních útvarů [2,28].



**Obrázek 4:** Tvary micel: a) kulovitý; b) vláknitý; c) lamelární; upraveno podle [30].

## 1.6 Možnosti ovlivnění kritické micelární koncentrace

Hodnota kritické micelární koncentrace tenzidů v roztocích je ovlivněna řadou faktorů. Jedním z nich je vliv molekulové stavby tenzidu na povrchovou aktivitu a rozpustnost tenzidu a charakterizuje ji hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy.  $C_{mc}$  jednoho druhu tenzidu se zvětšuje s hodnotou HLB díky rozdílné velikosti mezimolekulových sil tenzidu a mezimolekulových sil vody a tenzidu [2]. Se zvyšující se molekulovou hmotností hydrofobní části molekuly tenzidu  $c_{mc}$  klesá - je to dáno tím, že s prodloužením uhlovodíkového řetězce se sníží reálná rozpustnost a molekuly tenzidu mají snahu se sdružovat [31,32].

Kritická micelární koncentrace se mění také s teplotou [33]. Pro iontové tenzidy je charakteristické, že hodnota *cmc* se zvyšuje při zvyšování teploty roztoku [2]. Příčinou je degradující účinek tepelného pohybu molekul. Čím výraznější jsou hydrofobní vlastnosti tenzidu, tím slaběji se vliv teploty na hodnotu kritické micelární koncentrace projevuje [32]. Neiontové tenzidy většinou vykazují opačné chování - *cmc* se se zvyšující teplotou snižuje v důsledku přerušení vodíkových vazeb mezi esterovým atomem kyslíku a vodou [31,32,34].

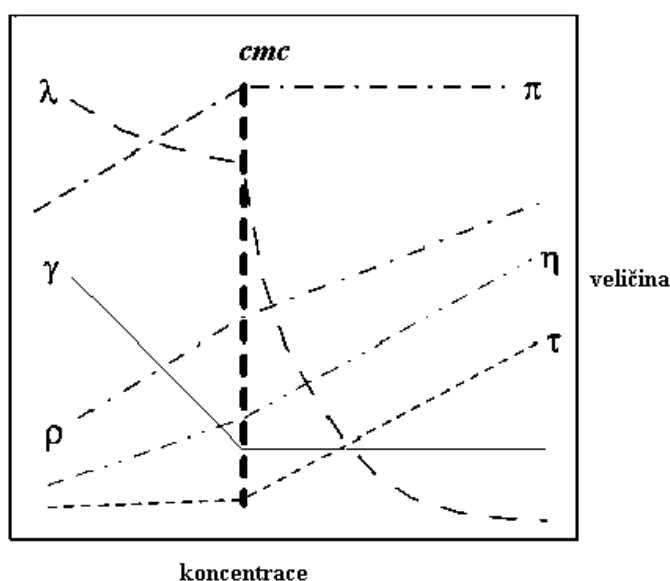
V roztoku směsi tenzidů se kritická micelární koncentrace směsi liší od hodnoty *cmc* předpokládané podle složení. Čím větší je podíl tenzidu s delším uhlovodíkovým řetězcem, tím je hodnota *cmc* směsi tenzidů menší. Lange zkoumal vliv složení směsi alkylsírání sodných s délkou řetězce  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  a  $C_{18}$  na hodnotu *cmc* a zjistil, že hodnota kritické micelární koncentrace je ve směsi nižší než u samostatných homologů [2].

Organická rozpouštědla, cyklodextriny a močovina jsou modifikátory přidávané do roztoků pufrů, aby redukovaly retenční faktory rozpuštěných látek silně vázaných do micel. Metanol a acetonitril (ACN) se využívají ke zdokonalení separací hydrofobních sloučenin, které se vzájemně ovlivňují s micelami a migrují v blízkosti migračního času micel nebo s micelami [35]. Málo polární organické látky, jako jsou např. vyšší mastné alkoholy nebo kyseliny hodnotu *cmc* snižují. Naopak, po přidavku velmi polární organické látky, mezi které se řadí např. dioxan nebo metanol se kritická micelární koncentrace roztoku tenzidu zvyšuje [2].

Tvorba micel je ovlivněna také přítomností elektrolytů, hlavně pufrů, jež se využívají v kapilární elektroforéze. Přidavkem elektrolytu dochází vedle ovlivnění rozměru micel právě k poklesu *cmc* [27]. Na snížení koncentrace, při které se asociují iontové tenzidy, má vliv přídavek protiiontů. Vlastnosti elektrolytu ovlivňují stupeň agregace [2]. Složení a vlastnosti elektrolytů mají vliv hlavně na iontové povrchově aktivní látky; u neiontových látek je jejich vliv minimální [27]. Hodnoty *cmc* závisí i na iontové síle pufru. U iontových látek s rostoucí iontovou silou hodnota kritické micelární koncentrace klesá, naopak u neiontových PAL je *cmc* na iontové síle prakticky nezávislá [27].

## 1.7 Stanovení kritické micelární koncentrace

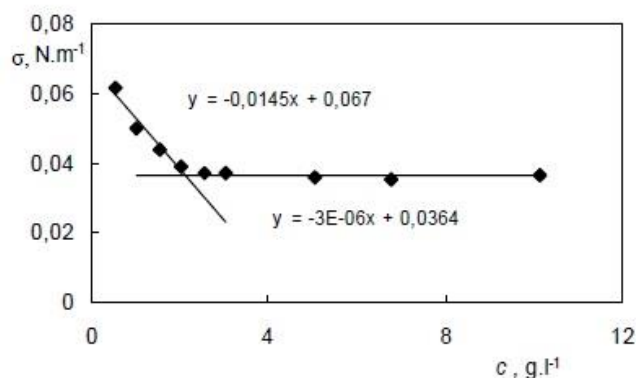
Metody stanovení kritické micelární koncentrace jsou založeny na náhlých změnách fyzikálních vlastností roztoku při tvorbě micel. Při měření je sledována závislost dané fyzikální veličiny na koncentraci tenzidu v roztoku (obr. 4). K určení *cmc* se využívá buď zlomu na křivce v závislosti dané veličiny (např. proudu) na koncentraci tenzidu nebo se využívají spektrální metody, při kterých se monitoruje rozpustnost barviv v roztocích tenzidu. Z elektrochemických metod je možné ke stanovení *cmc* použít např. potenciometrii [32].



**Obrázek 5:** Znárodnění závislostí fyzikálně-chemických veličin na koncentraci koloidu ( $\rho$ -hustota;  $\pi$ -osmotický tlak;  $\eta$ -viskozita;  $\gamma$ -povrchové napětí;  $\lambda$ -molární vodivost;  $\tau$ -turbidita); upraveno podle [36].

### 1.7.1 Měření povrchového napětí

Protože tenzidy jsou látky ovlivňující povrchové napětí, je možné zjišťovat hodnoty *cmc* měření povrchového napětí různě koncentrovaných roztoků. Metoda se dá obecně použít pro tenzidy iontové i neiontové [32,37]. S rostoucí koncentrací tenzidu hodnota povrchového napětí roztoku nejprve klesá až k hodnotě *cmc*, kde je dosaženo minima; v okolí *cmc* dochází ke zpomalení poklesu (obr. 5). Pokud se koncentrace opět zvýší, hodnota povrchového napětí se nezmění nebo mírně stoupne. Při koncentraci, která odpovídá *cmc*, se na závislosti povrchového napětí na koncentraci tenzidu objeví zlom a hodnotu kritické micelární koncentrace je možné vypočítat z průsečíků dvou přímek [32,37,38].

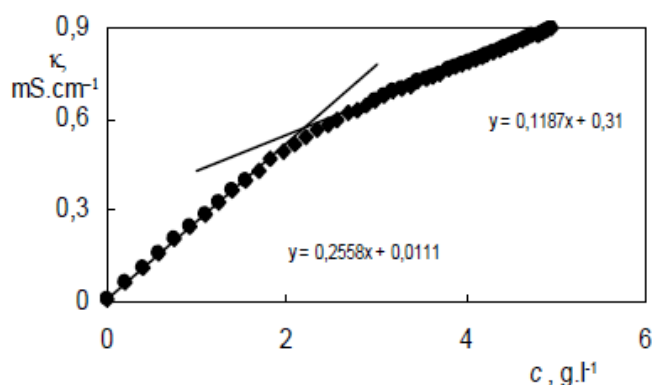


**Obrázek 6:** Závislost povrchového napětí na koncentraci tenzidu SDS; převzato z [37].

## 1.8 Stanovení *cmc* elektroforetickými metodami

### 1.8.1 Měření vodivosti

Metodu měření vodivosti pro stanovení *cmc* z koncentrační závislosti vodivosti je možné použít pro iontové tenzidy. Vodivost roztoku tenzidu stoupá lineárně s rostoucí koncentrací. Závislost vodivosti na koncentraci představují dvě přímky s rozdílnými směrnici. První odpovídá koncentracím pod *cmc*, kdy jsou v roztoku přítomny pouze jednotlivé molekuly tenzidu. Ke změně směrnice dochází v okamžiku, kdy při vyšších koncentracích začnou vznikat micely. Průsečík přímek je potom výslednou hodnotou kritické micelární koncentrace (obr. 6). Jedná se o experimentálně nenáročnou metodu, která umožňuje získat vodivost pro poměrně velké množství koncentrací [32,37].



**Obrázek 7:** Změny vodivosti v závislosti na rostoucí koncentraci tenzidu SDS ve vodě; převzato z [37].



### 1.8.2 Měření viskozity

Při získávání informací o *cmc* povrchově aktivních látek se jako užitečná ukázala i metoda měření absolutních hodnot viskozity, a to hlavně v kapilární elektroforéze pro sledování relativní změny viskozity [39]. Využíváno je Poiseuillova zákona o laminárním proudění kapaliny [40]. Měřením hydrodynamického průtoku se získá hodnota viskozity povrchově aktivních látek v micelárních a monomerních stavech. Pokud je v kapilární elektroforéze dodáván dostatečný tlak, je možné měření viskozity malých molekul, roztoků polymerů i iontových kapalin. Relativní viskozita tenzidů v jednotlivých stavech kolísá, jak prokázali Stanley a kol. [39]. S rostoucí koncentrací tenzidu se zvyšuje migrační čas micel. Iontová síla ani pH, jež se mění díky přidaným elektrolytům, nezpůsobí významnou změnu průběhu závislosti viskozity na koncentraci PAL [27]. Hodnota kritické micelární koncentrace se určuje jako průsečík dvou přímek [39].

### 1.8.3 Metoda založená na měření proudu

Cifuentes a kol. [41] se zabývali studiem vlivu složení elektrolytu na odezvu proudu při vloženém napětí. V kapiláře naplněné roztokem tenzidu o koncentraci nižší než *cmc* závisí intenzita proudu  $I$ , podle Ohmova zákona, na vloženém napětí  $V$  dle vztahu:

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

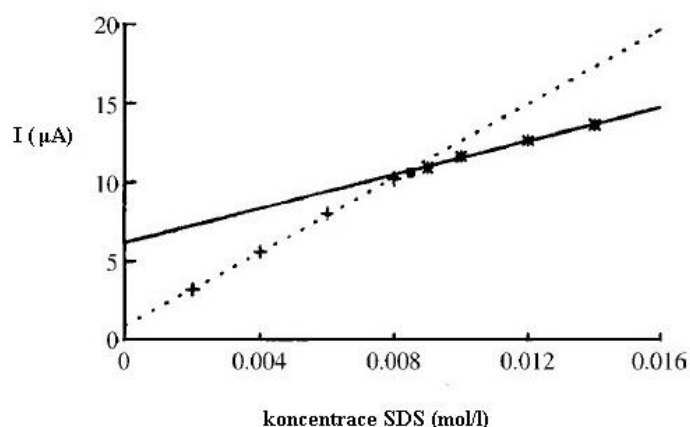
kde  $F$  je Faradayova konstanta;  $d_c$  je vnitřní průměr kapiláry;  $L$  je délka kapiláry;  $\mu_s$  je pohyblivost tenzidu;  $\mu_x$  je pohyblivost protiiontu a  $c_s$  je koncentrace tenzidu v roztoku.

Pro koncentrace tenzidu v roztoku vyšší než *cmc* platí vztah:

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

kde  $\mu_{mic}$  je pohyblivost micel a  $\theta$  je molární zlomek protiiontu uzavřeného v micelách [41-44].

Metoda založená na měření proudu se dá použít pouze pro aniontové a kationtové tenzidy. Vynesáním závislosti intenzity proudu na koncentraci tenzidu se získají dvě přímky odpovídající monomerním a micelárním stavům PAL. Hodnotu  $cmc$  lze vypočítat z rovnic lineární regrese přímk jako x-ovou souřadnici jejich průsečíku. Přesnost metody závisí na rozdílných hodnotách směrnic v oblastech pod a nad hodnotou odpovídající  $cmc$  [43]. Obr. 7 znázorňuje závislost proudu na koncentraci dodecylsírany sodného ve vodě.



**Obrázek 8:** Závislost proudu na koncentraci SDS ve vodě; upraveno podle [43].

#### 1.8.4 Metoda založená na měření retenčního faktoru

Při metodě založené na měření retenčního faktoru je využíván lineární vztah (3) mezi retenčním faktorem rozpuštěné látky a koncentrací povrchově aktivní látky, která vytváří micely:

$$k = Pv(C_T - cmc) \quad (3)$$

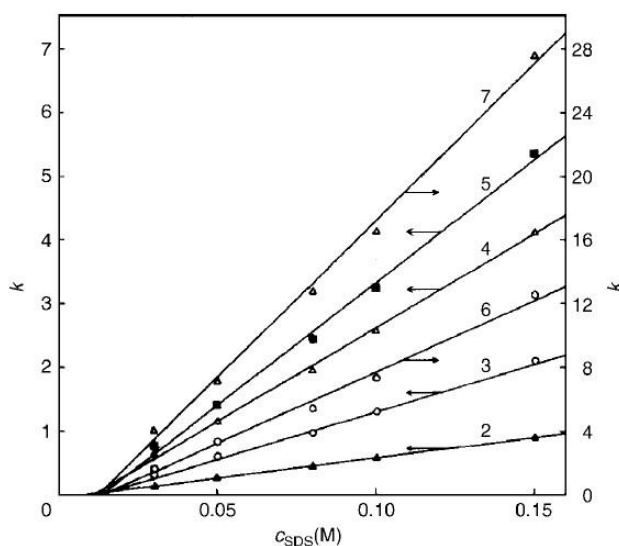
kde  $k$  je rozdělovací faktor látky;  $P$  je rozdělovací koeficient látky mezi micelární a vodnou fází;  $v$  je specifický objem micely tenzidu a  $C_T$  je celková koncentrace PAL [44].

Retenční faktor pro neutrální látky je možné vypočítat dle vztahu:

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0 \left(1 - \frac{t_R}{t_{mic}}\right)} \quad (4)$$

kde  $t_R$  je retenční čas látky;  $t_0$  je migrační čas elektroosmotického toku a  $t_{mic}$  je migrační čas micel. Pro zjištění  $t_0$  se využívají neutrální látky, které neinteragují s micelami, např. thiomochovina [44].

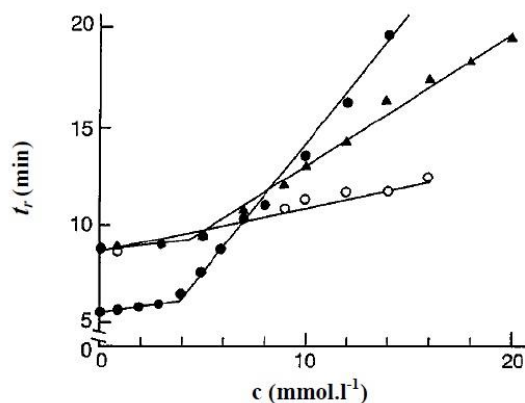
Retenční faktor analytu závisí na celkové koncentraci tenzidu v elektrolytu. Migrační čas micel je možné dopočítat iteračním postupem nebo je možné jej stanovit pomocí barviva Sudan III. Vypočtené retenční faktory pro dané látky se vynesou do grafu v závislosti na koncentraci; výsledkem jsou přímky protínající se v jednom bodě na ose x (obr. 8). Tato metoda nemusí být úplně přesná a spolehlivá kvůli nepřesnostem v určování  $t_0$  a  $t_{mic}$  [43].



**Obrázek 9:** Závislost retenčního faktoru na koncentraci SDS pro neutrální látky; 2- resorcinol, 3- fenol, 4- p-nitroanilin, 5- nitrobenzen, 6- toluen, 7- naftol; převzato z [43].

### 1.8.5 Metoda založená na měření retenčního času

Metoda byla navržena pro stanovení *cmc* aniontových tenzidů pomocí kapilární elektroforézy, a to na základě změn v časech migrace vhodné neutrální látky (např. 2-naftalenmetanolu) při různých koncentracích PAL. Pod hodnotou kritické micelární koncentrace tenzidu v roztoku analyt migruje společně s elektroosmotickým tokem. Nad *cmc* se neutrální látka začleňuje do micel, a proto se doba migrace látky se zvyšující se koncentrací tenzidu zvyšuje [43,45]. Při vyhodnocování (obr. 9) se do grafu vynáší závislost migračního času analytu proti koncentraci PAL a zlom na křivce odpovídá *cmc* [45].



**Obrázek 10:** Závislost migračního času analytu na koncentraci SDS ve 20 mM fosfátovém pufru, pH 7. ○ toluen, ● 2-naftalenmethanol, ▲ naftol; upraveno podle [43].

Vztah mezi retenčním časem a retenčním faktorem je popsán rovnicí [43]:

$$t_R = \frac{t_{eof}(1+k)}{1 + \left(\frac{t_{eof}}{t_{mic}}\right)k} \quad (5)$$

### 1.8.6 Metoda založená na měření pohyblivosti

Metoda původně navržená Jacquierem a Desbènem [46] bere v úvahu interakce mezi micelami aniontového tenzidu a neutrální látkou [43]. Práce pojednává o stanovení *cmc* dodecylsírany sodného pomocí efektivní elektroforetické pohyblivosti neutrální sloučeniny [46]. Efektivní mobilitu analytu v elektrolytu s koncentrací tenzidu nižší než je *cmc* popisuje vztah:

$$\mu_{eff} = \frac{K_{solv}c_t}{1 + K_{solv}c_t} \mu_{solv} \quad (6)$$

kde  $K_{solv}$  je rovnovážná konstanta popisující interakci mezi analytem a monomerem tenzidu;  $c_t$  je celková koncentrace tenzidu a  $\mu_{solv}$  je pohyblivost komplexu analytu s monomerem.

Pokud je koncentrace tenzidu v elektrolytu vyšší než je jeho kritická micelární koncentrace, vypočítá se efektivní mobilita analytu podle vztahu:

(7)

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

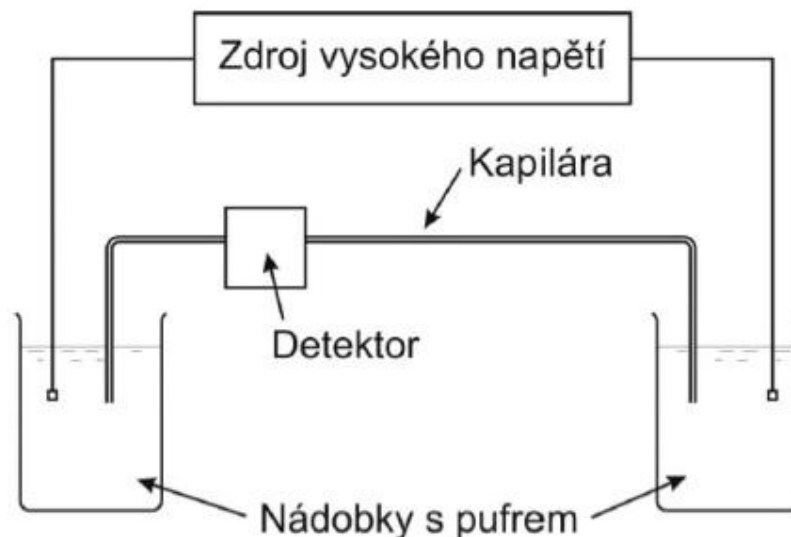
kde  $K_{mic}$  je rovnovážná konstanta popisující interakci mezi analytem a micelou;  $\mu_{mic}$  je pohyblivost micel a  $n$  je agregační číslo tenzidu.

Při proložení závislosti efektivní elektroforetické pohyblivosti analytu na koncentraci PAL jsou na křivce patrné dva zlomy. První zlom odpovídá koncentraci tenzidu, která se nazývá kritická agregační koncentrace (CAC). Při této koncentraci dochází ke shlukování monomerů tenzidů do micel. Čím je koncentrace tenzidu v elektrolytu vyšší, tím se shluky monomerů zvětšují, a to do té doby, dokud nedocílí stabilní formy. K tomu dojde právě při koncentraci odpovídající druhému zlomu na křivce; ta se označuje jako  $c_2$  koncentrace. Hodnota kritické micelární koncentrace odpovídá průsečíku křivky vzniklé proložením bodů ležících pod hodnotou CAC a křivky proložené body ležícími nad koncentrací  $c_2$  [43,47].

## 1.9 Elektroforéza

Elektroforéza se řadí mezi separační techniky a umožňuje kvalitativní i kvantitativní analýzu vzorku. Princip metody spočívá v rozdílné pohyblivosti nabitých částic v elektrickém poli. Elektrické pole se vytváří vkládáním konstantního stejnosměrného napětí mezi dvě elektrody. Ve většině případů se jako vodivé prostředí používá vodný tlumivý roztok, tzv. základní elektrolyt (background electrolyte, BGE). Při separaci putují částice směrem k elektrodě s opačnou polaritou [48,49].

Kapilární elektroforéza (CE) se provádí v kapiláře s vnitřním průměrem 25 – 100  $\mu\text{m}$ , která je naplněna základním elektrolytem. O směru pohybu kapaliny v kapiláře rozhoduje elektroosmotický tok. Vzorek se dávkuje do kapiláry tlakem nebo napětím. Během analýzy se oba konce kapiláry nacházejí v elektrolytu, ve kterém jsou zároveň umístěny elektrody, na které je vloženo vysoké napětí (schéma přístroje pro CE je uvedeno na obr. 10). K detekci často slouží např. fotometrické detektory [50].



**Obrázek 11:** Schéma zařízení pro kapilární elektroforézu; převzato z [48].

### 1.9.1 Elektroforetická pohyblivost

Elektroforetická pohyblivost (mobilita) charakterizuje rychlost pohybu částic v elektrickém poli o jednotkové intenzitě. Pohyblivost iontu v roztoku je ovlivňována interakcí mezi ionty a závisí především na jeho náboji a velikosti a na viskozitě prostředí. V kapiláře se mnohem pomaleji pohybují částice s malým nábojem a velkým poloměrem než částice s malým poloměrem a velkým nábojem, jak vyplývá ze vztahu:

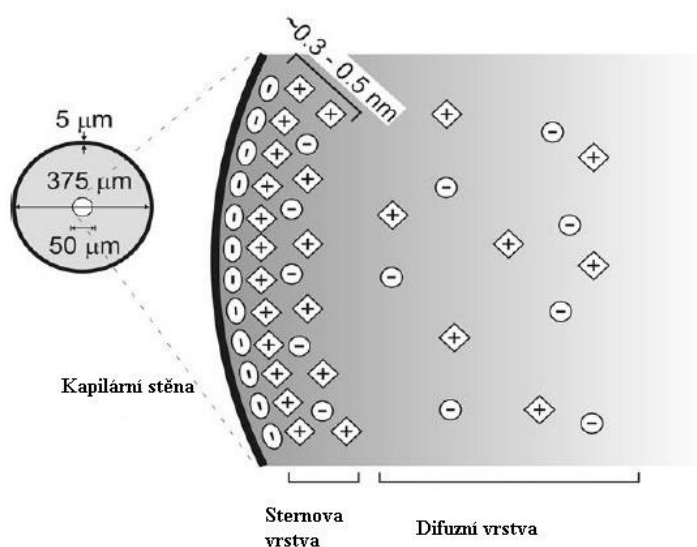
$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad (8)$$

kde  $\mu$  je elektroforetická pohyblivost částic,  $v$  je elektroforetická rychlost,  $E$  je intenzita elektrického pole,  $q$  je velikost náboje;  $\eta$  je dynamická viskozita separačního prostředí a  $r$  je hydrodynamický poloměr iontu [48,51,52].

### 1.9.2 Elektroosmotický tok

Elektroosmotický tok (EOF) vzniká na rozhraní vnitřní stěny křemenné kapiláry a kapalné fáze (obr. 11). Na vnitřním povrchu kapiláry dochází k disociaci silanolových skupin v prostředí neutrálního až alkalického pufru. Povrch kapiláry se tak nabíjí záporně. Pro zachování elektroneutality je negativní náboj kompenzován kovovými kationty základního

elektrolytu za vzniku stabilní elektrické dvojvrstvy. Nepohyblivá část dvojvrstvy se nazývá Sternova vrstva; pohyblivá vrstva se nachází blíž ke středu kapiláry a je označována jako difúzní. Po vložení napětí na elektrody vzniká v kapiláře stejnosměrné elektrické pole a dochází k pohybu vzniklé difúzní vrstvy směrem ke katodě. Elektroosmotický tok v kapiláře s sebou strhává veškerý obsah kapiláry včetně aniontů. Nabité částice se pohybují rychleji nebo pomaleji než EOF v závislosti na jejich elektroforetické pohyblivosti. Pohyblivost neutrálních částic je dána přímo pohyblivostí elektroosmotického toku [48,50].



**Obrázek 12:** Vznik elektroosmotického toku; převzato ze [48].

### 1.9.3 Kapilární zónová elektroforéza

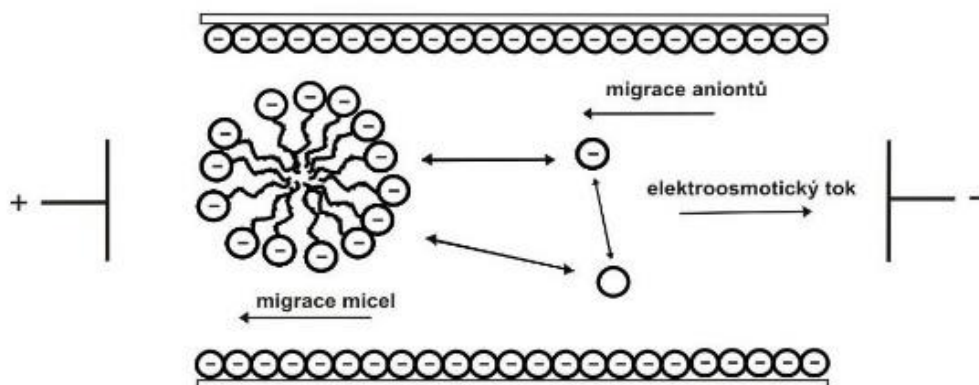
Pomocí kapilární zónové elektroforézy je možné analyzovat pouze látky s elektrickým nábojem, jelikož separace jednotlivých složek vzorku je dosaženo vlivem rozdílné rychlosti pohybu nabitých částic v elektrickém poli. Do kapiláry se základním elektrolytem, který je separačním prostředím, je nadávkován vzorek ve formě úzké ohraničené zóny; nedochází k ovlivnění vlastností elektrolytu (složení, pH). Jako elektrolyt se používá pufr, neboť pH separačního prostředí je pro separaci látek důležitým faktorem, mimo jiné ovlivňuje pohyblivost elektroosmotického toku, který se podílí na pohybu analyzovaných látek separační kapilárou. Elektroosmotický tok vzniklý v kapiláře po vložení napětí unáší kladné i záporné ionty k detektoru [48,53]. Příklady komerčních systémů pro kapilární zónovou elektroforézu jsou uvedeny na obrázku 12.



**Obrázek 13:** Příklady komerčních systémů pro kapilární zónovou elektroforézu; převzato z [48].

### 1.9.4 Micelární elektrokinetická chromatografie

MEKC byla původně vyvinuta k separaci nenabitých sloučenin, které se nedělí pomocí kapilární zónové elektroforézy. Slouží k analýze neutrálních molekul hydrofobní a hydrofilní povahy. Separační mechanismus je založen na odlišné distribuci neutrálních analytů mezi vodnou a micelární fází. Separace je prováděna v základním elektrolytu o vysokém pH, který obsahuje povrchově aktivní látku o koncentraci vyšší než je její hodnota kritické micelární koncentrace. Nejčastěji se používá aniontový tenzid SDS. Micely vytváří v pracovním elektrolytu tzv. pseudostacionární fázi. Micely SDS mají záporný náboj, a proto migrují opačným směrem než elektroosmotický tok (obr. 13). V MEKC dochází k retenci analytů obdobně jako v HPLC. Jednotlivé složky mají rozdílné rozdělovací koeficienty; to je příčinou jejich separace. Mezi hodnotami  $t_0$  – migrační čas neutrálního inertu, který není zadržován pseudostacionární fází a  $t_{mic}$  – migrační čas micel, se vždy nachází retenční čas neutrální složky. Retenční časy analytů se prodlužují se zvyšující se distribuční konstantou látky mezi pseudostacionární fází a vodnou fází [48,54-57].



**Obrázek 14:** Mechanismus MEKC při použití aniontového tenzidu; převzato z [58].



### **1.9.5 Spojení micelární elektrokinetické chromatografie a hmotnostní spektrometrie**

V elektromigračních separačních technikách se nejčastěji využívá UV-VIS detekce. Ta je ale málo citlivá vzhledem k malému vnitřnímu průměru separačních kapilár a velmi nízkým dávkovaným objemům vzorku. Citlivější detekci s možností strukturní identifikace separovaných analytů poskytuje hmotnostní spektrometrie (MS) [59]. Hmotnostní spektrometrie je kompatibilní s kapilární elektroforézou s ohledem na množství vzorku a je jedním z neúčinnějších způsobů detekce pro získání strukturních informací o separovaných analytech [60].

Spojení micelární elektrokinetické chromatografie a hmotnostní spektrometrie je vhodné pro přímou identifikaci molekul analytu; umožňuje zvýšení selektivity a potvrzuje výsledky analýz a určení struktury v režimu MS/MS. Přímé spojení MEKC-MS může být ale kvůli působení přebytku netěkavých povrchově aktivních látek tvořících micely nebezpečné; důsledkem je ztráta citlivosti a znečištění iontového zdroje [61]. Spojení MEKC-MS je umožněno izolací zón v kapiláře v MEKC a následným přenosem přes další kapiláru do hmotnostního spektrometru [62].

On-line spojení kapilárních elektromigračních metod s hmotnostně spektrometrickou detekcí je mocným analytickým nástrojem, který umožňuje vysoce citlivou a selektivní kvalitativní a kvantitativní analýzu velkého množství látek [63].

V CE je nezbytné při vytváření separačního okruhu zajistit vodivé spojení mezi oběma konci kapiláry. To je v případě přímé detekce na koloně jednoduché - oba konce kapiláry jsou ponořeny v roztoku elektrolytu v nádobkách, do kterých je přiváděno napětí. MS detekce je v kapilární elektroforéze zařazena až za kolonou (post-column), což znamená, že detektor je umístěn až za ústím separační kapiláry. Pro spojení CE metod s MS detekcí je nejčastěji využívána ionizace elektrosprejem a je potřeba mít vhodné rozhraní, které uzavře separační okruh na konci kapiláry, dovolí aplikaci napětí a zachová vysokou separační účinnost. Lze rozlišit tři základní typy konstrukcí rozhraní: bez přídavné kapaliny (sheathless), kapalinový spoj (liquid-junction interface) a rozhraní s přídavnou kapalinou (sheath-flow) [63].

Nejrozšířenějším způsobem spojení CE/MS je rozhraní s přídavným tokem kapaliny. Je nejčastěji využíváno pro komerčně dostupné CE/MS systémy. Separací kapilára je umístěna

v další kapiláře, na kterou je vkládáno sprejovací napětí a již proudí přídavná kapalina, prostřednictvím které se uzavírá separační okruh. Obě kapiláry ústí v iontovém zdroji, kde dochází také k mísení přídavné kapaliny a eluentu a k uzavření separačního okruhu. Jako přídavná kapalina se nejčastěji používá 2-propanol nebo 60 - 80% methanol s průtokem 1 – 3  $\mu\text{l}/\text{min}$  a s elektrolytem, kterým je nejčastěji 1 - 3% kyselina mravenčí nebo octová či hydroxid amonný. Přídavná kapalina i elektrolyt musí být dostatečně odvzdušněny, aby se zabránilo vzniku bublinek, které by přerušily elektrický obvod v CE. Nevýhodou použití tohoto rozhraní je nižší citlivost, výhodou je výrazně lepší opakovatelnost měření [48,63,64].

Princip spojení CE a ESI-MS pomocí kapalinového spoje je jednoduchý. Separační kapilára je přerušena v komůrce se sprejovací kapalinou, která je pod tlakem. V grafitovém zásobníku s pufrem je umístěna anoda, na kterou je vloženo vysoké napětí (30 kV). Na katodickou oblast separační kapiláry je přivedeno sprejovací napětí  $\pm 3$  kV prostřednictvím sprejovací kapaliny. Zvýšený vstupní tlak do separačního prostředí zamezuje zpětnému toku kapilárou. Ideální uspořádání je takové, kdy je zajištěna stejná hodnota tlaku na vstupu i v komůrce. Vyšší vstupní tlak zkracuje dobu analýzy, ale snižuje separační účinnost. Toto rozhraní je robustní, jednoduché s relativně vysokým poměrem měřeného signálu k šumu [63].

Rozhraní bez přídavné kapaliny nevyužívá k vytvoření separačního okruhu žádné další elektrolyty a nedochází tak k zředování separovaných zón, jako u předchozích typů rozhraní. Separační kapilára ústí do sprejovací kapiláry iontového zdroje. Sprejovací kapilára z nerezové oceli slouží jako katoda a zároveň jako iontový zdroj. Výhodou je vysoká citlivost a opakovatelnost migračních časů jednotlivých analytů. Nevýhodou je nízký průtok elektrolytu v CE (desítky až stovky  $\text{nl}/\text{min}$ ) a tím i nestabilita iontového zdroje (ESI). Nejčastějším materiálem používaným pro tento typ rozhraní je zlato [63].

U některých rozhraní používaných ve spojení s ionizací pomocí elektrospreje (ESI) je možné pracovat při velmi nízkých koncentracích tenzidů, aniž by došlo ke značnému snížení citlivosti nebo účinnosti detekce (např. pro SDS do 20 mM v pracovním elektrolytu). Nízké koncentrace tenzidů ale nevedou k dosažení potřebné selektivity separace a je nutné zvýšit jejich koncentraci [59]. Ionizace pomocí elektrospreje je nejčastěji používaný iontový zdroj pro spojení kapilární elektroforézy a hmotnostní spektrometrie. Výhodou ESI je snadná obsluha a údržba vzhledem k tomu, že ionizace probíhá za atmosférického tlaku. ESI je měkká ionizační technika, takže získaná spektra jsou jednoduchá [62]. Pro MEKC ve spojení

s ESI ionizací je problémem přítomnost vysokých koncentrací tenzidů v základním elektrolytu, ten je řešen využíváním techniky částečného plnění, případně použitím polymerních tenzidů, které mají nízkou hodnotu *cmc* a vytváří micely již při nízkých hodnotách koncentrace; ty se během ionizace nerozpadají na monomerní jednotky, jež snižují účinnost separace. Obecný princip techniky částečného plnění je založen na plnění kapiláry pracovním elektrolytem, který obsahuje netěkavou složku (např. tenzid) do části z celkové délky kapiláry. Následně je vloženo napětí, při kterém dochází k separaci. Do iontového zdroje se tak při separaci netěkavá složka elektrolytu nedostane [59].

Při použití ionizačních technik pracujících za atmosférického tlaku, konkrétně fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI) a chemické ionizace za atmosférického tlaku (APCI), je možné v elektrolytu použít netěkavé tenzidy bez nutnosti zabránění jejich vstupu do iontového zdroje [59].

Při použití MALDI (ionizace laserem za účasti matrice) se povrchově aktivní látky koncentrují v blízkosti povrchové vrstvy matrice. Vysoké koncentrace PAL mají negativní vliv na analýzu pomocí MALDI-MS. Možnost off-line spojení MEKC-MALDI-MS k analýze malých neutrálních a nabitých molekul se stále zkoumá [60].

Volba typu a koncentrace povrchově aktivní látky přidávané do roztoku v MEKC je důležitá, protože povrchově aktivní látky jsou netěkavé a v mnoha případech mohou způsobit silné pozadí iontů v hmotnostních spektrech, jak bylo pozorováno u SDS [62].

## 2 Experimentální část

### 2.1 Použité chemikálie

Acetonitril	Honeywell, Německo
Amoniak-vodný roztok 25-29% p.a.	Penta, Praha, ČR
Deionizovaná voda	
Hydroxid sodný	Penta, Praha, ČR
Thiomočovina	Lachema, Brno, ČR
Pufry ke kalibraci pH metru (pH 7 a 9)	Metrohm, Herisan, Švýcarsko
Tenzidy	
<i>I</i> -undecylsírán sodný	Alfa Aesar, Haverhill, MA, USA
Dodecylsírán sodný	Sigma-Aldrich, Německo
<i>n</i> - tridecylsírán sodný	Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
Mravenčan amonný	Sigma-Aldrich, Německo
Octan amonný	Sigma-Aldrich, Německo
Alkylbenzeny	
Metylbenzen	Lachner, Neratovice, ČR
Etylbenzen	Sigma-Aldrich, Německo
Propylbenzen	Sigma-Aldrich, Německo
Butylbenzen	Sigma-Aldrich, Německo

Pentylbenzen

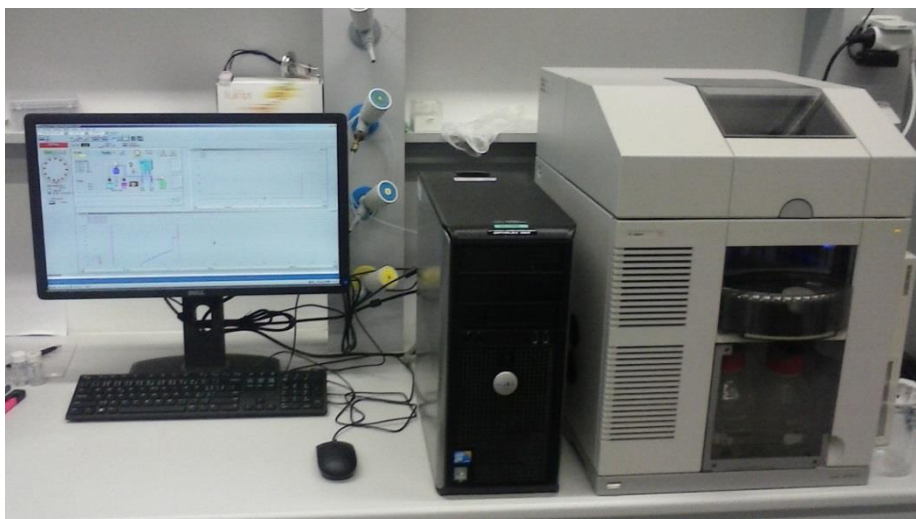
Sigma-Aldrich, Německo

Hexylbenzen

Sigma-Aldrich, Německo

## 2.2 Použité přístroje a vybavení

Měření byla provedena pomocí kapilární elektroforézy Agilent <sup>3D</sup>CE (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Zařízení zahrnuje autosampler, zdroj napětí, kapiláru (Agilent Technologies) a UV/Vis detektor s diodovým polem; vše propojeno s počítačem (obr. 14). Pomocí pH metru 827 Metrohm, Herisan pH lab (Švýcarsko) byla měřena hodnota pH pufrů. K navažování tensidů a ostatních chemikálií sloužily analytické váhy Sartorius, Extend, Německo. Dále bylo použito běžné laboratorní vybavení.



**Obrázek 15:** Zařízení použité k měření.

## 2.3 Použité programy pro vyhodnocení a zpracování dat

ChemStation - online pro nastavení podmínek analýz; offline pro vyhodnocování dat

Microsoft Office Excel 2010

Microsoft Office Word 2010

OriginLab Graphing and Analysis

## **2.4 Pracovní postup**

### **2.4.1 Příprava kapiláry**

K analýzám byla připravena a následně použita křemenná separační kapilára opatřená polyimidovým povlakem, s vnitřním průměrem 50  $\mu\text{m}$  a celkovou délkou 50 cm; její efektivní délka byla upravena na 42 cm. Ve vzdálenosti stanovené jako efektivní délka kapiláry bylo zapalovačem vytvořeno detekční okénko, kapilára byla umístěna do kazety a konce kapiláry byly rovněž opáleny. Takto připravená kapilára byla před začátkem měření promyta 0,1 M NaOH po dobu 15 minut a dále deionizovanou vodou po dobu 10 minut. Kapilára byla rovněž před začátkem každé série měření promývána 10 minut 0,1 M hydroxidem sodným a 10 minut deionizovanou vodou.

### **2.4.2 Postup přípravy základního elektrolytu**

Pro analýzy byly připraveny 2 typy pufrů lišící se složením, koncentrací a hodnotou pH. Jako pufrы byly použity octan amonný a mravenčan amonný o koncentraci 25 mM a 50 mM o pH 8 nebo 9. Na analytických vahách bylo vždy naváženo takové množství octanu nebo mravenčanu amonného, aby roztok odpovídal požadované koncentraci a v odměrné baňce byl doplněn deionizovanou vodou po rysku. pH pufrů bylo vždy upraveno na hodnotu 8 nebo 9 vodným roztokem amoniaku (25-29% p.a.) na kalibrovaném pH metru. Po provedení zkušebních měření byl z uvedených pufrů vybrán 50 mM octan amonný o pH 9, který byl použit ke všem dalším měřením. Používán byl také 50 mM octan amonný s přidavkem 5, 10, 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu.

### **2.4.3 Postup přípravy roztoků tenzidů**

Byly připraveny zásobní roztoky 1-undecylsírany a dodecylsírany sodného, ze kterých byla následně připravena kalibrační řada roztoků vždy v dostatečně širokém rozmezí koncentrací v oblasti nad a pod předpokládanou hodnotou *cmc* daného tenzidu. Zásobní roztoky a roztoky kalibrační řady tenzidů byly doplňovány v odměrné baňce po rysku vodou

nebo základním elektrolytem. Roztoky *n*-tridecylsíranu sodného byly připraveny navážením vypočteného množství látky do odměrné baňky a doplněním po rysku požadovaným rozpouštědlem.

#### **2.4.4 Stanovení kritické micelární koncentrace**

Všechna měření byla provedena pomocí kapilární elektroforézy a kritická micelární koncentrace byla stanovena metodou založenou na měření proudu, metodou založenou na měření retenčního času a metodou založenou na měření retenčního faktoru.

##### **2.4.4.1 Metoda založená na měření proudu**

Průběh analýzy:

- 5 minut promývání kapiláry základním elektrolytem tlakem 1 Bar
- měření proudu po dobu 5 minut při vloženém napětí 20 kV
- teplota 25 °C nebo 30 °C.

Z naměřených hodnot proudu byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Hodnota kritické micelární koncentrace pro jednotlivé tenzidy byla vypočítána z průsečíků rovnic regrese přímek získaných ze závislosti průměrné hodnoty proudu na koncentraci tenzidu v elektrolytu. Výsledná hodnota kritické micelární koncentrace je uvedena jako interval koncentrace tenzidu.

##### **2.4.4.2 Metoda založená na retenčním modelu**

Pro tuto metodu byl připraven zásobní roztok směsi alkybenzenů v acetonitrilu (metylbenzen - hexylbenzen) o koncentraci 5 g/l. K analýze byla směs alkybenzenů naředěna vodou na koncentraci 120 mg/l. Připraven byl také 50 mM zásobní roztok thiomčoviny, jejíž výsledná koncentrace ve směsi s alkybenzeny, použitá pro analýzu, byla 0,5 mM. Pomocí

thiomočoviny byl určen migrační čas elektroosmotického toku. Touto metodou byl měřen retenční čas alkylbenzenů v závislosti na koncentraci roztoku tenzidu. Z retenčních časů alkylbenzenů byl spočítán migrační čas micel, následně byl vypočítán retenční faktor,  $k$ , a ze závislosti migračního/retenčního času, popř. retenčního faktoru alkylbenzenů na koncentraci tenzidu v roztoku byla určena hodnota kritické micelární koncentrace.

Průběh analýzy:

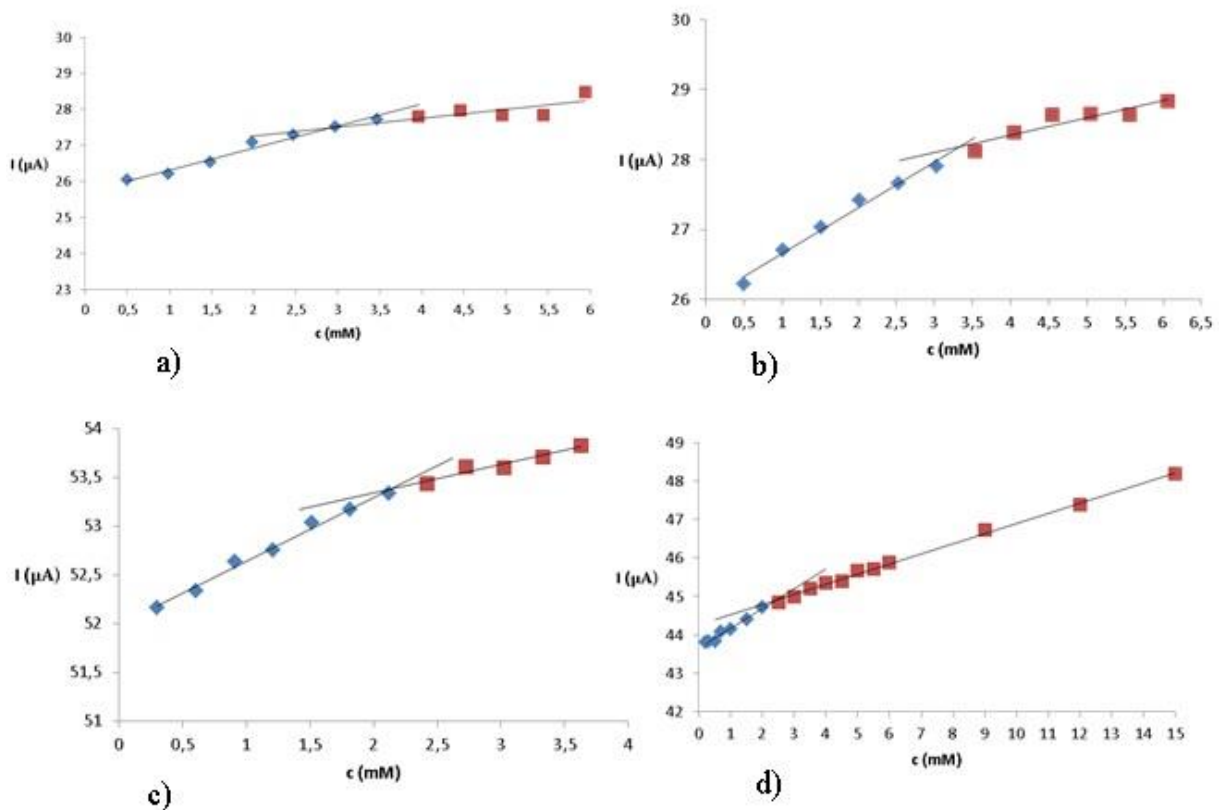
- 3 minuty promývání kapiláry základním elektrolytem tlakem 1 Bar
- dávkování směsi alkylbenzenů tlakem 50 mBar/10 s
- vložené napětí mělo hodnotu 20 kV
- detekce při 214 nm
- teplota 25 °C nebo 30 °C.



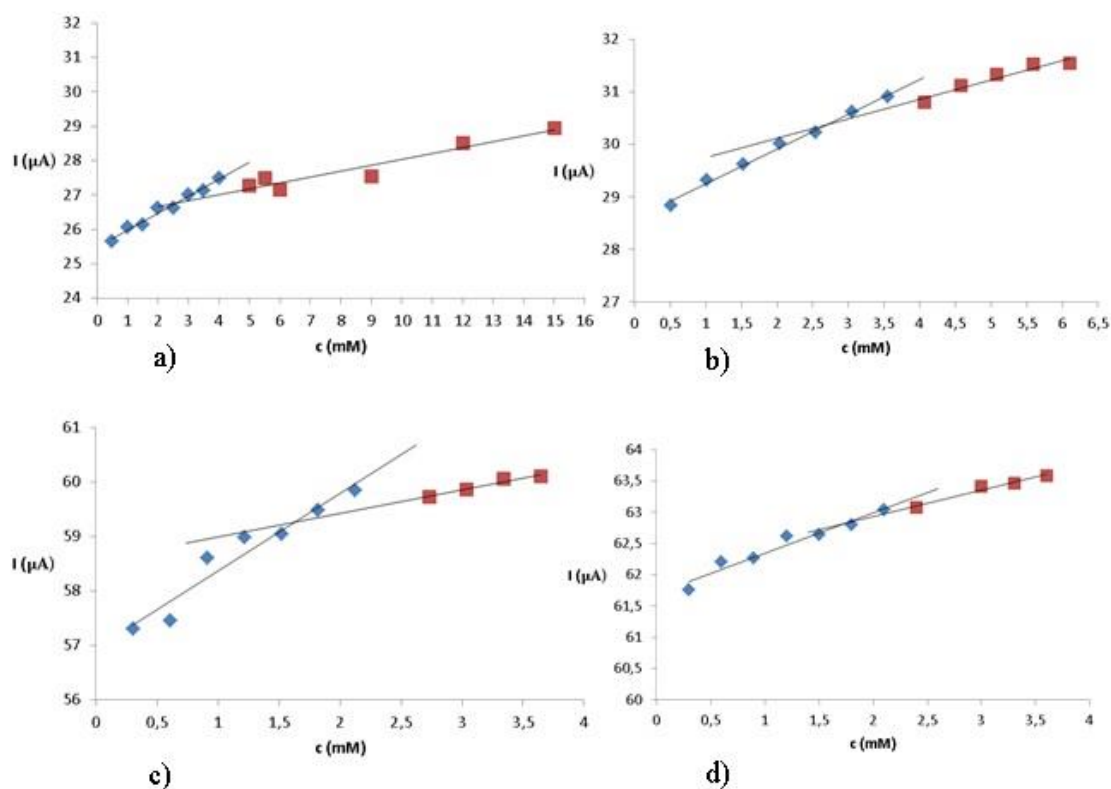
## 3 Výsledky a diskuze

### 3.1 Stanovení kritické micelární koncentrace

Pro stanovení kritické micelární koncentrace jednotlivých tenzidů byly vyzkoušeny dva typy pufrů – octan amonný a mravenčan amonný lišící se koncentrací a pH, a to u tenzidu SDS metodou založenou na měření proudu. Obrázky 15 a 16 znázorňují experimentálně stanovenou závislost proudu na koncentraci SDS v jednotlivých pufrch. Rozmezí hodnot kritické micelární koncentrace bylo stanoveno tak, že se k průměrným hodnotám proudu přičetla nebo se od průměrných hodnot proudu naopak odečetla hodnota směrodatné odchylky proudu. Vypočítané hodnoty proudu se vynesly do grafu v závislosti na koncentraci SDS. Ze získaných rovnic regrese se opět vypočítaly hodnoty  $cmc$  a z těchto hodnot byla určena směrodatná odchylka stanovené kritické micelární koncentrace SDS. Kompletní výsledky kritických micelárních koncentrací SDS pro testované elektrolyty shrnuje tabulka 1.



**Obrázek 16:** Závislost proudu na koncentraci SDS v: a) 25,3 mM octanu amonném, pH 8; b) 25 mM octanu amonném, pH 9,1; c) 49,8 mM octanu amonném, pH 8; d) 50 mM octanu amonném, pH 9. Modře označené body přísluší koncentracím SDS v submicelární oblasti a červené v micelární oblasti.



**Obrázek 17:** Závislost proudu na koncentraci SDS v: a) 25 mM mravenčanu amonném, pH 8; b) 25 mM mravenčanu amonném, pH 9; c) 41,8 mM mravenčanu amonném, pH 8,1; d) 50 mM mravenčanu amonném, pH 9. Modře označené body přísluší koncentracím SDS v submicelární oblasti a červené v micelární oblasti.

**Tabulka 1:** Stanovené hodnoty  $cmc$  SDS v jednotlivých pufrch metodou založenou na měření proudu.

pufr	pH	koncentrace (mM)	$cmc$ stanovená u SDS (mM)
mravenčan amonný	8	25,0	$2,60 \pm 0,29$
		48,1	$1,63 \pm 0,62$
	9	25,0	$2,71 \pm 0,18$
		50,0	$1,74 \pm 0,04$
octan amonný	8	25,2	$2,92 \pm 0,04$
		49,8	$2,13 \pm 0,12$
	9	25,3	$3,33 \pm 0,08$
		50,0	$2,43 \pm 0,17$

### 3.1.1 Undecylsírán sodný

Jako první byla stanovena hodnota kritické micelární koncentrace u tohoto tenzidu ve vodě. Tabulka 1 v příloze 1 shrnuje průměrné hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *I*-undecylsírán sodný ve vodě. Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci *I*-undecylsírán sodného. Z rovnic lineární regrese přímek bylo vypočteno rozmezí hodnot *cmc* jako  $x - ové$  souřadnice průsečíků přímek (obr. 1, příloha 1). Hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *I*-undecylsírán sodný v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 jsou uvedeny v tabulce 2 (příloha 1); grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 2 (příloha 1). Hodnota *cmc* byla vypočítána způsobem popsáním výše. *Cmc* *I*-undecylsírán sodného byla v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 stanovena také z naměřených retenčních časů alkybenzenů. Retenční časy alkybenzenů jsou uvedeny v tabulce 3 (příloha 1); grafický záznam závislosti retenčních časů je uveden na obrázku 3 (příloha 1). V tabulce 4 (příloha 1) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek *I*-undecylsírán sodného v 50,3 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 4 (příloha 1). V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkybenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 5 (příloha 1); grafický záznam závislosti retenčních časů uvádí obrázek 5 (příloha 1). V tabulce 6 (příloha 1) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *I*-undecylsírán sodný v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 6 (příloha 1). Hodnotu *cmc* z tohoto záznamu nebylo možné odečíst; na křivce není patrný žádný zlom. V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkybenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 7 (příloha 1); grafický záznam závislosti retenčních časů uvádí obrázek 7 (příloha 1). V tabulce 8 (příloha 1) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *I*-undecylsírán sodný v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 8 (příloha 1). Hodnotu *cmc* z tohoto záznamu nebylo možné odečíst; na křivce není patrný žádný zlom. V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkybenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 9 (příloha 1); grafický záznam závislosti retenčních časů uvádí obrázek 9 (příloha 1).

### 3.1.2 Dodecylsírán sodný

Hodnota kritické micelární koncentrace byla u SDS stanovena ve vodě, v 50 mM octanu amonném o pH 9 i v 50 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5, 10, 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu. Tabulka 1 v příloze 2 shrnuje průměrné hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro SDS ve vodě. Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci SDS. Z rovnic lineární regrese přímek bylo vypočteno rozmezí hodnot *cmc* jako x – ové souřadnice průsečíků přímek (obr. 1, příloha 2). Hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 jsou uvedeny v tabulce 2 (příloha 2); grafické znázornění proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 2 (příloha 2). Hodnota *cmc* byla vypočítána způsobem popsaným výše. *Cmc* SDS byla ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 stanovena také z naměřených retenčních časů alkylbenzenů. Retenční časy alkylbenzenů jsou uvedeny v tabulce 3 (příloha 2); grafický záznam závislostí retenčních časů je uveden na obrázku 3 (příloha 2). Dále byly z retenčních časů alkylbenzenů vypočítány pohyblivosti micel SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 a následně retenční faktor alkylbenzenů (tabulka 4, příloha 2). Grafický záznam závislosti retenčního faktoru na koncentraci je zobrazen na obrázku 4 (příloha 2). V tabulce 5 (příloha 2) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je na obrázku 5 (příloha 2). V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkylbenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 6 (příloha 2); grafický záznam závislostí retenčních časů uvádí obrázek 6 (příloha 2). Z retenčních časů alkylbenzenů byly vypočítány také pohyblivosti micel SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu a následně retenční faktor alkylbenzenů (tabulka 7, příloha 2). Grafický záznam závislosti retenčního faktoru na koncentraci je zobrazen na obrázku 7 (příloha 2). V tabulce 8 (příloha 2) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu. Grafický záznam závislosti proudu na koncentraci je na obrázku 8 (příloha 2). V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkylbenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 9 (příloha 2); grafický záznam závislostí retenčních časů uvádí obrázek 9 (tabulka 2). Vypočítány byly z retenčních časů alkylbenzenů také pohyblivosti micel SDS a následně retenční faktor alkylbenzenů (tabulka 10, příloha 2). Grafický záznam závislosti koncentrace na retenčním faktoru je zobrazen na

obrázku 10 (příloha 2). V tabulce 11 (příloha 2) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je na obrázku 11 (příloha 2). Hodnotu *cmc* z tohoto záznamu nebylo možné odečíst; na křivce není patrný žádný zlom. V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkylbenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 12 (příloha 2); grafický záznam závislosti retenčních časů uvádí obrázek 12 (příloha 2). V tabulce 13 (příloha 2) jsou uvedené hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro SDS v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu. Grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je na obrázku 13 (příloha 2). Hodnotu *cmc* nebylo možné z tohoto záznamu odečíst; na křivce není viditelný žádný zlom. V tomto pufru byla také stanovena *cmc* z naměřených retenčních časů alkylbenzenů. Jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce 14 (příloha 2); grafický záznam závislosti retenčních časů uvádí obrázek 14 (tabulka 2).

### 3.1.3 Tridecylsírán sodný

Jako první byla stanovena hodnota kritické micelární koncentrace u tohoto tenzidu ve vodě. Tabulka 1 v příloze 3 shrnuje průměrné hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *n*-tridecylsírán sodný ve vodě. Ze získaných hodnot proudu byl vypočítán průměr a byla vynesena závislost průměru proudu  $\pm$  směrodatná odchylka na koncentraci *n*-tridecylsírán sodného. Z rovnic lineární regrese přímek bylo vypočteno rozmezí hodnot *cmc* jako *x*-ové souřadnice průsečíků přímek (obr. 1, příloha 3). Hodnoty proudu a směrodatných odchylek pro *n*-tridecylsírán sodný v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 jsou uvedeny v tabulce 2 (příloha 3); grafické znázornění závislosti proudu na koncentraci je uvedeno na obrázku 2 (příloha 3). Hodnotu *cmc* nebylo možné v tomto případě určit, neboť na křivce není žádný patrný zlom, a to kvůli tomu, že proud při měření lineárně nestoupá se zvyšující se koncentrací *n*-tridecylsírán sodného v pufru, ale nepravidelně kolísá. Metoda založená na měření proudu nebyla pro zjištění kritické micelární koncentrace tohoto tenzidu dále používána. V 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu byla kritická micelární koncentrace stanovena z retenčních časů alkylbenzenů. Retenční časy jsou uvedeny v tabulce 3 (příloha 3). Grafický záznam závislosti retenčních časů je na obrázku 3 (příloha 3). Vypočítány byly z retenčních časů alkylbenzenů také pohyblivosti micel

*n*-tridecylsíranu sodného a následně retenční faktor alkylbenzenů (tabulka 4, příloha 3). Grafický záznam závislosti koncentrace *n*-tridecylsíranu sodného na retenčním faktoru je zobrazen na obrázku 4 (příloha 3). Ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu byla kritická micelární koncentrace stanovena z retenčních časů alkylbenzenů. Retenční časy jsou uvedeny v tabulce 5 (příloha 3). Grafický záznam závislosti retenčních časů je na obrázku 5 (příloha 3). Ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu byla kritická micelární koncentrace stanovena z retenčních časů alkylbenzenů. Retenční časy jsou uvedeny v tabulce 6 (příloha 3). Grafický záznam závislosti retenčních časů je na obrázku 6 (příloha 3). Ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu byla kritická micelární koncentrace stanovena z retenčních časů alkylbenzenů. Retenční časy jsou uvedeny v tabulce 7 (příloha 3). Grafický záznam závislosti retenčních časů je na obrázku 7 (příloha 3).

### 3.1.4 Porovnání stanovení kritické micelární koncentrace

S klesajícím počtem uhlíků v řetězci se kritická micelární koncentrace tenzidů zvyšuje. U *1*-undecylsíranu sodného byla *cmc* stanovena ve vodě, v 50 mM octanu amonném o pH 9 a v 50 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5, 10 a 15 % (v/v) acetonitrilu. Hodnoty *cmc* stanovené jednotlivými metodami shrnuje tabulka 2. Ve vodě byla hodnota *cmc* stanovena metodou založenou na měření proudu. Protože *1*-undecylsíran sodný má o jeden uhlík kratší řetězec než SDS jsou hodnoty jeho kritické micelární koncentrace vyšší než u SDS. Čím vyšší je přidavek acetonitrilu v pufru, tím se hodnota kritické micelární koncentrace tohoto tenzidu zvyšuje.

U dodecylsíranu sodného byla stanovena *cmc* ve vodě, v 50 mM octanu amonném o pH 9 a v 50 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5, 10, 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu. Hodnoty *cmc* stanovené jednotlivými metodami jsou uvedeny v tabulce 3. Hodnota *cmc* pro SDS ve vodě je podstatně vyšší než v pufru jak bez, tak i s přidavkem acetonitrilu. Ve vodě byla hodnota *cmc* stanovena metodou založenou na měření proudu. V 50 mM octanu amonném o pH 9 byla kritická micelární koncentrace určena jak z metody založené na měření proudu, tak z retenčních časů alkylbenzenů. Následně byla určena pohyblivost micel SDS a hodnota *cmc* byla vypočítána i z retenčního faktoru alkylbenzenů. V 50 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu nebylo možné hodnotu *cmc* SDS určit ani z metody

založené na měření proudu ani z retenčního faktoru. U metody založené na měření proudu není v těchto případech na křivkách patrný žádný zlom, který by odpovídal kritické micelární koncentraci, a to kvůli zvyšující se koncentraci acetonitrilu v pufru. U metody založené na retenčním faktoru se nepodařilo vypočítat pohyblivost micel, tudíž nebylo možné následně vypočítat retenční faktor. U metody založené na měření retenčních časů alkybenzenů (metylbenzen - hexylbenzen) je patrné, že s rostoucí koncentrací SDS se prodlužuje retenční čas alkybenzenů. S rostoucí koncentrací SDS se také zvyšuje pohyblivost micel SDS a zvyšuje se retenční faktor alkybenzenů. U tohoto tenzidu byla také provedena analýza rozptylu (ANOVA) hodnot *cmc* získaných jednotlivými metodami. Analýza byla provedena u SDS v 50 mM octanu amonném o pH 9; výsledky jsou uvedeny v tabulce 4. Vzhledem k tomu, že na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  byly nalezeny statisticky významné rozdíly ( $\alpha > p$ ) mezi výsledky kritické micelární koncentrace dodecylsírany sodného v 50 mM octanu amonném o pH 9 bez přídavku acetonitrilu a s přídavkem 5 % (v/v) acetonitrilu získaných různými metodami, byl proveden Tukeyův test pro mnohonásobné porovnání. Byly mezi sebou porovnány jednotlivé metody, které byly použity pro stanovení kritické micelární koncentrace. Statisticky významné rozdíly byly nalezeny mezi hodnotami *cmc* SDS v 50 mM octanu amonném o pH 9 bez přídavku acetonitrilu získanými pomocí metody založené na měření proudu a metody založené na měření retenčního faktoru. V 50 mM octanovém pufru o pH 9 s přídavkem 5 % (v/v) acetonitrilu byly statisticky významné rozdíly získány mezi hodnotami získanými metodou založenou na měření proudu a metodou založenou na měření retenčního faktoru a mezi metodou založenou na měření retenčního času a metodou založenou na měření retenčního faktoru. Grafické znázornění výsledků stanovení *cmc* SDS je uvedeno na obrázku 17. Uvedené skutečnosti odpovídají tomu, že metoda založená na měření retenčního faktoru je závislá na správném určení migračního času micel a nemusí tedy poskytovat vždy správné výsledky. U metody založené na retenčním čase a částečně také u metody proudu dochází ke zvyšování směrodatné odchylky s rostoucí koncentrací acetonitrilu.

S rostoucím počtem uhlíků v řetězci se kritická micelární koncentrace tenzidů snižuje. U *n*-tridecylsírany sodného byla *cmc* stanovena ve vodě a v 50 mM octanu amonném s přídavkem 5, 10, 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu. Hodnoty kritické micelární koncentrace stanovené jednotlivými metodami shrnuje tabulka 5. Ve vodě byla stanovena hodnota *cmc* u tohoto tenzidu metodou založenou na měření proudu. Protože má *n*-tridecylsírany sodný o jeden uhlík delší řetězec než SDS, je hodnota *cmc* tohoto tenzidu nižší než u dodecylsírany

sodného. V octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5, 10, 15 % (v/v) acetonitrilu se hodnota kritické micelární koncentrace výrazně nemění. Naopak, přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu v pufru se hodnota *cmc* opět zvyšuje.

**Tabulka 2:** Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace *I*-undecylsíranu sodného.

<i>I</i> -undecylsíran sodný	ACN (% v/v)	<i>cmc</i> (mM) z proudu	<i>cmc</i> (mM) z migračních časů alkybenzenů
voda	0	8,35 ± 0,01	-
50,1 mM octan amonný, pH 9	0	3,87 ± 0,01	4,58 ± 1,09
50,3 mM octan amonný, pH 9	5	5,31 ± 0,02	5,32 ± 0,57
50,4 mM octan amonný, pH 9	10	*	6,63 ± 0,39
50,2 mM octan amonný, pH 9	15	*	7,42 ± 0,32

\* z výsledků stanovení nebylo možné odečíst *cmc* ; - stanovení nebylo provedeno

**Tabulka 3:** Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace SDS.

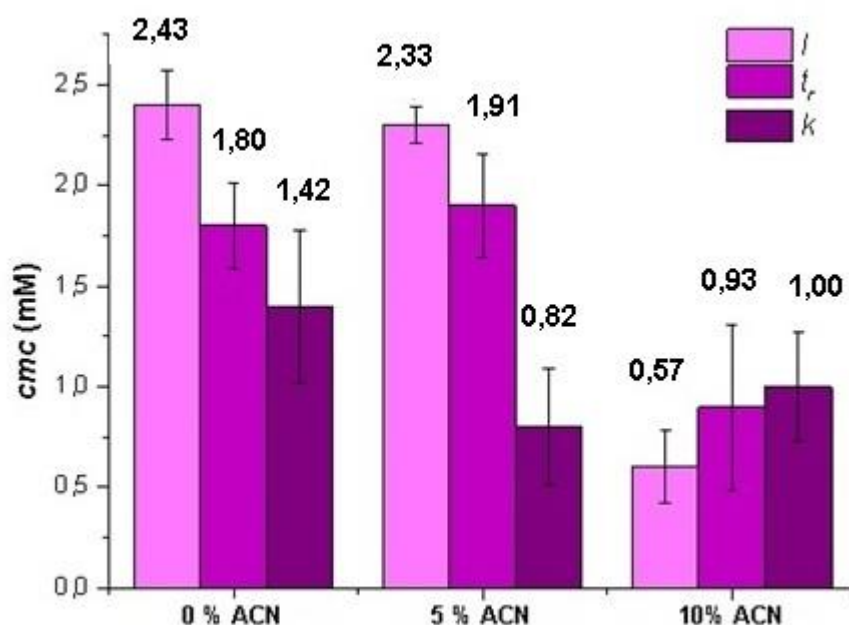
SDS	ACN (% v/v)	<i>cmc</i> (mM) z proudu	<i>cmc</i> (mM) z migračních časů alkybenzenů	<i>cmc</i> (mM) z retenčního faktoru
voda	0	6,55 ± 0,01	-	-
49,7 mM octan amonný, pH 9	0	2,43 ± 0,17	1,80 ± 0,22	1,42 ± 0,38
50,1 mM octan amonný, pH 9	5	2,33 ± 0,09	1,91 ± 0,27	0,82 ± 0,29
50,6 mM octan amonný, pH 9	10	0,57 ± 0,18	0,93 ± 0,44	1,00 ± 0,27
50,6 mM octan amonný, pH 9	15	*	2,21 ± 0,13	*
50,4 mM octan amonný, pH 9	20	*	3,46 ± 0,51	*

\* z výsledků stanovení nebylo možné odečíst *cmc* ; - stanovení nebylo provedeno



**Tabulka 4:** Analýza rozptylu (ANOVA) hodnot *cmc* pro SDS získaných jednotlivými metodami a výsledek Tukeyova testu. Stanovení *cmc* bylo provedeno v 50 mM octnanu amonném o pH 9.

<i>cmc</i> (mM) metoda založená na měření				ANOVA			Tukeyův test
% v/v ACN	proud ( <i>I</i> )	retenční čas ( <i>t<sub>r</sub></i> )	retenční faktor ( <i>k</i> )	$\alpha$	p	statisticky významný rozdíl	významný rozdíl mezi metodami
0	2,43 ± 0,17	1,80 ± 0,22	1,42 ± 0,38	0,05	0,011	ano	<i>I/k</i>
5	2,33 ± 0,09	1,91 ± 0,27	0,82 ± 0,29		5,33·10 <sup>-4</sup>	ano	<i>I/k; t<sub>r</sub>/k</i>
10	0,57 ± 0,18	0,93 ± 0,44	1,00 ± 0,27		0,311	ne	



**Obrázek 18:** Grafické znázornění výsledků *cmc* SDS v 50 mM octnanu amonném, pH 9 v závislosti na koncentraci ACN v základním elektrolytu získané jednotlivými metodami.

**Tabulka 5:** Zjištěné hodnoty kritické micelární koncentrace *n*-tridecylsírany sodného.

<i>n</i> -tridecylsírany sodný	ACN (% v/v)	<i>cmc</i> (mM) z proudu	<i>cmc</i> (mM) z migračních časů alkybenzenů	<i>cmc</i> (mM) z retenčního faktoru
voda	0	3,26 ± 0,01	-	-
50,1 mM octan amonný, pH 9	0	*	-	-
50,2 mM octan amonný, pH 9	5	-	0,93 ± 0,06	0,92 ± 0,12
49,9 mM octan amonný, pH 9	10	-	0,98 ± 0,04	*
49,7 mM octan amonný, pH 9	15	-	0,81 ± 0,03	*
49,9 mM octan amonný, pH 9	20	-	1,25 ± 0,09	*

\* z výsledků stanovení nebylo možné odečíst *cmc* ; - stanovení nebylo provedeno

## 4 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá stanovením kritické micelární koncentrace aniontových tenzidů alkylsíránů sodných v prostředí těkavých elektrolytů pomocí kapilární elektroforézy. Byla stanovena kritická micelární koncentrace vybraných aniontových tenzidů ve vodě, v 50 mM octanu amonném o pH 9 a v 50 mM octanu amonném o pH 9 s přídavkem 5, 10, 15 a 20 % (v/v) acetonitrilu. Stanovení bylo provedeno metodou založenou na měření proudu v závislosti na koncentraci alkylsíránů sodných, metodou založenou na měření retenčního času a metodou založenou na měření retenčního faktoru. Ze získaných dat je patrné, že hodnota kritické micelární koncentrace závisí na počtu uhlíků v řetězci. Čím vyšší je počet uhlíků, tím je hodnota *cmc* nižší. Na kritickou micelární koncentraci má významný vliv také přídavek acetonitrilu. Výsledky stanovení pomocí různých metod byly pro dodecylsírán sodný porovnány pomocí analýzy rozptylu. Byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi *cmc* určenou metodou proudu a retenčního faktoru v elektrolytu bez a s přídavkem 5 % (v/v) acetonitrilu a dále mezi metodou založenou na retenčním čase a faktoru alkylbenzenů v elektrolytu s 5 % (v/v) acetonitrilu. Z porovnání stanovených hodnot *cmc* vyplývá, že s rostoucí koncentrací acetonitrilu vzrůstá nejen hodnota kritické micelární koncentrace, ale i směrodatná odchylka měření. Výsledky prezentované v diplomové práci mohou sloužit pro optimalizaci separačních podmínek v micelární elektrokinetické chromatografii.

## 5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] LANGOVÁ, L: *Využití kapilární elektroforézy pro stanovení tenzidů ve vodách*. Diplomová práce (2009), Brno, 99 s.
- [2] BLAŽEJ, A. a kol. *Tenzidy*. Vyd. 1. Bratislava: Alfa, 1977, 481 s. ISBN 63-173-77.
- [3] ROSEN, M. J., KUNJAPPU, J. T. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 4<sup>th</sup>ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley, 2012. ISBN 978-0-470-54194-4.
- [4] JANOŠCOVÁ, P: *Kationické tenzidy jako hydrolytické micelární katalyzátory*. Diplomová práce (2009), Hradec Králové, 46 s.
- [5] MYERS, D. *Surfactant science and technology*. 3<sup>rd</sup> ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley, 2006. ISBN 04-716-8024-9.
- [6] KIZLINK, J. *Technologie chemických látek: chemický průmysl, koroze, konstrukční materiály, technické plyny, anorganické a organické produkty, dřevo, zpracování uhlí, výroba paliv, petrochemie, pesticidy, tenzidy, plasty a kaučuk, různé přísady, katalyzátory, výbušniny, biotechnologie, doprava*. Vyd. 3., přeprac. a dopl. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2005. ISBN 80-214-2913-5.
- [7] PITTER, P. *Hydrochemie*. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [8] CHALABALA, M. *Technologie léků: galenika*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2001. ISBN 80-726-2128-9.
- [9] SVOBODOVÁ, B: *Stanovení tenzidů v půdě odebrané z požářišť*. Diplomová práce (2011), Brno, 56 s.
- [10] POLZEROVÁ, E. *Analytika povrchově aktivních látek používaných v kosmetice*. Bakalářská práce (2012), Zlín, 49 s.
- [11] PICHLER, J. *Chemická technologie základních organických látek*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 1992. 102 s. ISBN 80-210-0553-X.
- [12] SOUKUPOVÁ, A. *Zhodnocení metod pro stanovení tenzidů*. Bakalářská práce (2009), Brno, 42 s.

- [13] LANGMAIER, F., MLÁDEK, M., RADIL, M. *Pomocné přípravky kožedělného průmyslu: vysokoškolská příručka*. Vyd.1. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985. ISBN 04-831-85.
- [14] Markéta Zajícová. *Hodnocení obsahu tenzidů ve vodách*. Bakalářská práce (2009), Brno, 2009, 45 s.
- [15] WIKISKRIPTA.EU. *Wikiskripta.eu* [online]. 2016 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: [http://www.wikiskripta.eu/index.php/Dodecyls%C3%ADran\\_sodn%C3%BD](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Dodecyls%C3%ADran_sodn%C3%BD)
- [16] 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. ISBN 80-214-2013-8.
- [17] MACHAŇOVÁ, D. *Předúprava textilií*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2007. ISBN 80-708-3971-6.
- [18] OTSUKA, K., TERABE, S. *Journal of Chromatography A*, 875 (2000) 163-178.
- [19] ČESLA, P., FISCHER, J. Některé možnosti aplikace tenzidů v kapalinové chromatografii a v elektromigračních separačních technikách; Vybrané aplikace tenzidů v kapilární elektroforéze. In: *XLII. Seminář o tenzidech a detergentech: Sborník přednášek*. Univerzita Pardubice: Česká společnost chemická, 2009, s. 37-51. ISBN 978-80-7395-211-2.
- [20] RUIZ-ÁNGEL, M. J.,CARDA-BROCH, S., TORRES-LAPASIÓ, J. R., GARCÍA-ÁLVAREZ-COQUE, M.C. *Journal of Chromatography A*, 121 (2009) 1798-1814.
- [21] FISCHER, J., JANDERA, P. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 681 (1996) 3-19.
- [22] PAPPAS, T. J.,GAYTON-ELY, M., HOLLAND, L. A. *Electrophoresis* 26 (2005) 719-734.
- [23] RASMUSSEN, H. T.,GOEBEL, L. K., M. MCNAIR, H. *Journal of Chromatography A* 517 (1990) 549-555.

- [24] ARANAS, A. T., M. GUIDOTE, A., QUIRINO, J. P. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 394 (2009) 175-185.
- [25] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [26] PHARMINFO.CZ *Pharminfo.cz-farmaceutická wiki* [online] 2016 [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: <https://www.pharminfo.cz/technologie/tenzidy>
- [27] STRNADOVÁ, H., KVÍTEK, L. *Chemické listy* 103 (2009) 315-319.
- [28] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 4. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. ISBN 80-708-0475-0.
- [29] SCHRAMM, L. L., STASIUK, E. N., MARANGONI, D. G. *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C: Phys. Chem* 99 (2003), 3-48.
- [30] KVÍTEK, L., PANÁČEK, A. *Základy koloidní chemie* [online]. Olomouc, 2007, 52 s. Dostupné z: <http://fch.upol.cz/wp-content/uploads/2015/07/Kolonoidni-chemie-text.pdf>
- [31] SCHICK, M. J. *Nonionic surfactants: physical chemistry*. New York: M. Dekker, 1987. ISBN 08-247-7530-9.
- [32] SYROVÁTKOVÁ, J. *Vyhodnocení vlivu elektrolytů na CMC pomocí iontově-selektivní elektrody*. Diplomová práce (2010), Hradec Králové, 59 s.
- [33] CHEN, L-J., LIN, S-Y., HUANG, Ch-Ch., CHEN, E-M. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 135 (1998) 175-181.
- [34] CROSS, J., J. SINGER, E. *Cationic surfactants: analytical and biological evaluation*. New York: M. Dekker, 1994. ISBN 08-247-9177-0.
- [35] LÍPOVÁ, M. *Využití micelární elektrokinetické chromatografie v analýze léčiv*. Rigorózní práce (2009), Hradec Králové, 75 s.
- [36] <https://www.muni.cz/> [online]. [cit. 2017-03-18]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/jaro2007/C4680/um/2407143/micely11c.pdf>

- [37] MULLEROVÁ, M., ŠVÁB, M., DOS SANTOS, M. M. *Chemické listy* 101 (2007) 509-514 .
- [38] HOLMBERG, K. *Surfactants and polymers in aqueous solution*. 2<sup>nd</sup> ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley, 2003. ISBN 04-714-9883-1.
- [39] STANLEY, F.E., WARNER, A. M., SCHNEIDERMAN, E., STALCUP, A. M. *Journal of Chromatography A* 1216 (2009) 8431-8434.
- [40] BELLO, M. S., REZZONICO, R., RIGHETTI, P. G. *Journal of Chromatography A* 659 (1994) 199-204.
- [41] CIFUENTES, A., BERNAL, J. L., DIEZ-MASA, J. C. *Analytical Chemistry* 69 (1997) 4271-4274.
- [42] LIN, Ch-E. *Journal of Chromatography A* 1037 (2004) 467-478.
- [43] Determination of Critical Micelle Concentrations by Capillary Electrokinetic Techniques. LE SAUX, Thomas, Anne VARENNE a Pierre GAREIL. *Electrokinetic chromatography: theory, instrumentation, and applications*. Hoboken, New Jersey: John Wiley, 2006, s. 33-54. ISBN 0-470-87102-4.
- [44] FUGUET, E., RÀFOLS, C., ROSÉS, M., BOSCH, E. *Analytica Chimica Acta* 548 (2005) 95-100.
- [45] NAKAMURA, H., SANO, A., MATSUURA, K. *Analytical Sciences* 14 (1998) 379-382.
- [46] JACQUIER, J.C., DESBÈNE, P. L. *Journal of Chromatography A* 718 (1995) 167-175.
- [47] LIN, Ch-E., CHEN, M-J., HUANG, H-Ch., CHEN, H-W. *Journal of Chromatography A* 924 (2001) 83-91.
- [48] SMETANOVÁ, Z. *Analýza glykosylovaných proteinů kapilární elektroforézou*. Bakalářská práce (2015), Pardubice, 41 s.
- [49] DOLEŽALOVÁ, V. *Elektroforéza na různých nosičích a imuno elektroforéza*. Brno: Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, 1966.

- [50] PAZOUREK, J. Moderní elektroforetické analytické metody. <http://faf.vfu.cz/> [online]. 2003. Dostupné z: <https://faf.vfu.cz/pub-files/ustavy/ustav-chemickych-leciv/vyuka-predmetu/analyticka-chemie-i-ii/separacni-metody---elektroforeza.pdf>
- [51] KAŠIČKA, V. *Chemické listy* 91 (1997) 320-329.
- [52] FOLTOVÁ, K. *Kapilární elektroforéza jako nástroj pro metabolomické studie*. Diplomová práce (2012), Brno, 61 s.
- [53] OPEKAR, F. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0553-8.
- [54] NĚMEC, T. *Využití metody EMMA při studiu enzymů*. Diplomová práce (2006), Brno, 61 s.
- [55] ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [56] CHURÁČEK, J.. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
- [57] HIROYUKI, N., TERABE, S. *Journal of Chromatography A* 735 (1996) 735 3-27.
- [58] <http://ach.upol.cz/user-files/files/stanoveni-organofosforovych-pesticidu-ve-vode-a-pude-micelarni-elektrokinetickou-chromatografii.pdf> [online]. [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/files/stanoveni-organofosforovych-pesticidu-ve-vode-a-pude-micelarni-elektrokinetickou-chromatografii.pdf>
- [59] ŠVIDRNOCHO, M. *Spojení elektrokinetické chromatografie s hmotnostní spektrometrií v toxikologické a klinické analýze*. Disertační práce (2006), Olomouc, 186 s.
- [60] YANG, L., LEE, Ch. S. *Journal of Chromatography A* 780 (1997) 207-218.
- [61] LAMOREE, M.H., TJADEN, U. R., VAN DER GREEF, J. *Journal of Chromatography A* 712 (1995) 219-225.

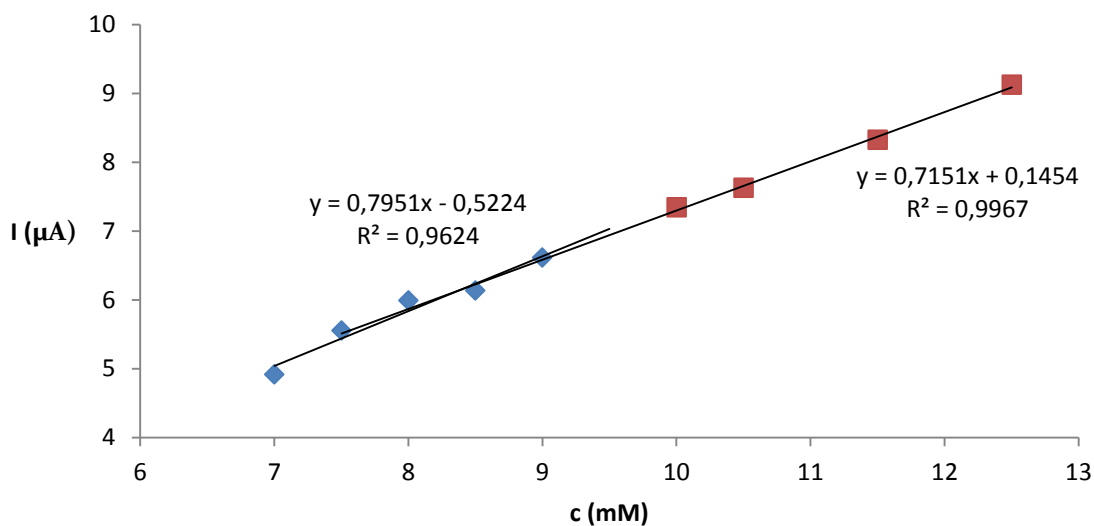


- [62] OZAKI, H., ITOU, N., TERABE, S., TAKADA, Y., SAKAIRI, M., KOIZUMI, H. *Journal of Chromatography A* 716 (1995) 69-79.
- [63] NORKOVÁ, R., JAKLOVÁ-DYTRTOVÁ, J., KAŠIČKA, V. *Chemické listy* 107 (2013) 949-955.
- [64] HOLČAPEK, Michal, ed. *Spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS): sborník přednášek kurzu HPLC/MS pořádaného Spektroskopickou společností Jana Marka Marci a Univerzitou Pardubice 5.-7.11.2001, Kongresová hala Univerzity Pardubice*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2001. ISBN 80-719-4390-8.

# **PŘÍLOHOVÁ ČÁST**

**Příloha 1****Undecylsírán sodný****Tabulka 1:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci 1-undecylsíránu sodného ve vodě.

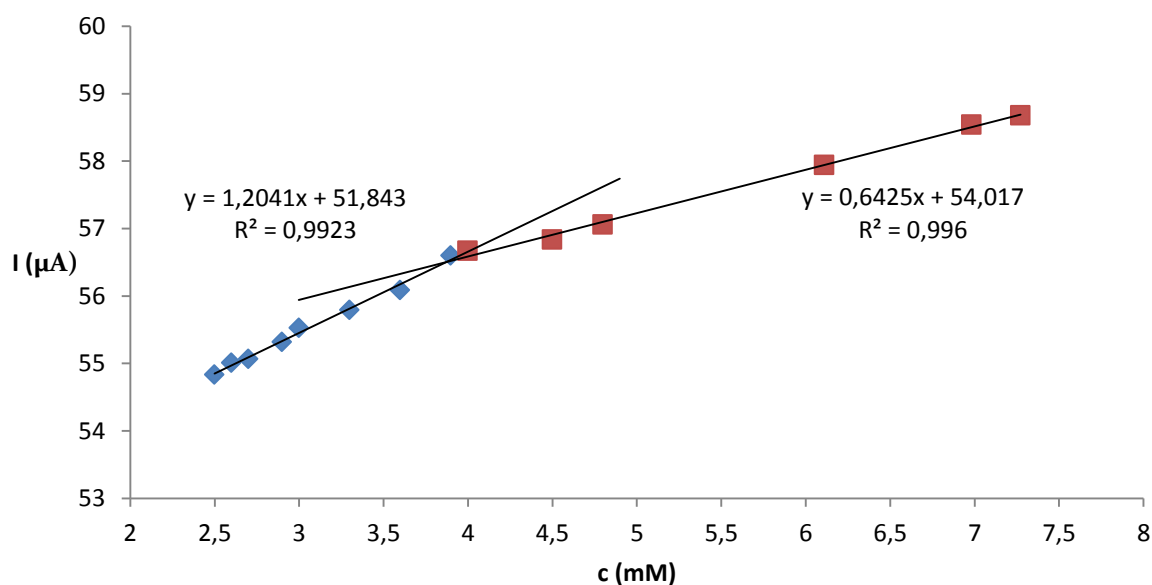
<b>c (mM)</b>	<b>proud (<math>\mu</math>A)</b>	<b>směrodatná odchylka (<math>\mu</math>A)</b>
7,0	4,92	0,04
7,5	5,55	0,03
8,0	5,99	0,03
8,5	6,13	0,06
9,0	6,61	0,04
10,0	7,34	0,04
10,5	7,63	0,04
11,5	8,32	0,04
12,5	9,12	0,04

**Obrázek 1:** Závislost proudu na koncentraci 1-undecylsíránu sodného ve vodě.

**Tabulka 2:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.

c (mM)	proud ( $\mu\text{A}$ )	směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
2,5	54,83	0,27
2,6	55,01	0,25
2,7	55,06	0,25
2,9	55,32	0,22
3,0	55,53	0,27
3,3	55,79	0,26
3,6	56,09	0,25
3,9	56,60	0,27
4,0	56,67	0,24
4,5	56,84	0,24
4,8	57,07	0,22
6,1	57,94	0,57
7,0	58,54	0,21
7,3	58,68	0,61

**Obrázek 2:** Závislost proudu na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.

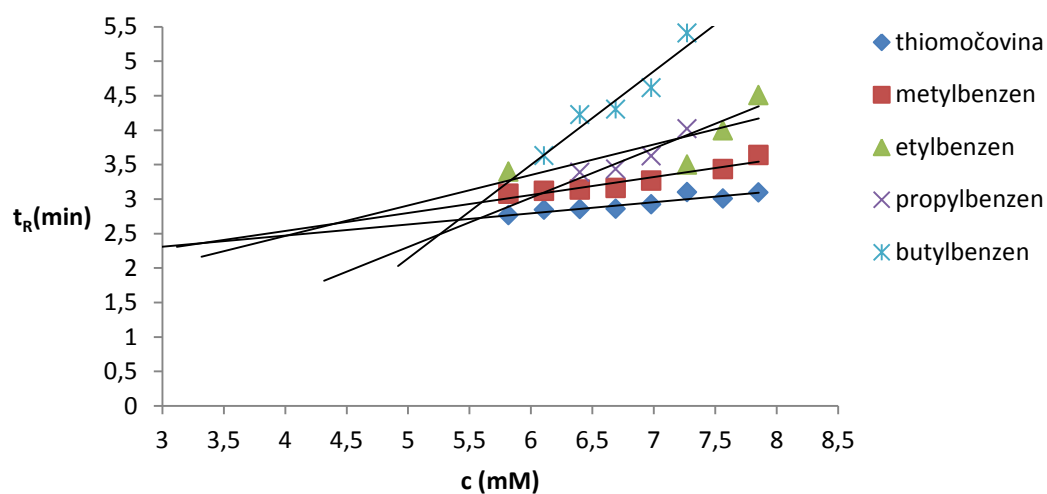


**Tabulka 3:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>thiomočovina</b> <b>(min)</b>	<b>metylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>etylbenzen</b> <b>(min)</b>
5,8	2,766	3,077	3,396
6,1	2,842	3,120	nerozdělen
6,4	2,852	3,137	nerozdělen
6,7	2,856	3,162	nerozdělen
7,0	2,924	3,267	nerozdělen
7,3	3,098	nerozdělen	3,499
7,6	3,008	3,435	3,995
7,9	3,096	3,638	4,508
rovnice regrese	$y = 0,1615x + 1,8263$	$y = 0,2608x + 1,4956$	$y = 0,4422x + 0,6983$
$R^2$	0,8574	0,903	0,6125

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>propylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>butylbenzen</b> <b>(min)</b>
5,8	nerozdělen	nerozdělen
6,1	nerozdělen	3,628
6,4	3,389	4,225
6,7	3,434	4,300
7,0	3,626	4,614
7,3	4,018	5,408
7,6	nerozdělen	nerozdělen
7,9	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 0,7148x - 1,2689$	$y = 1,3577x - 4,6477$
$R^2$	0,8722	0,9215

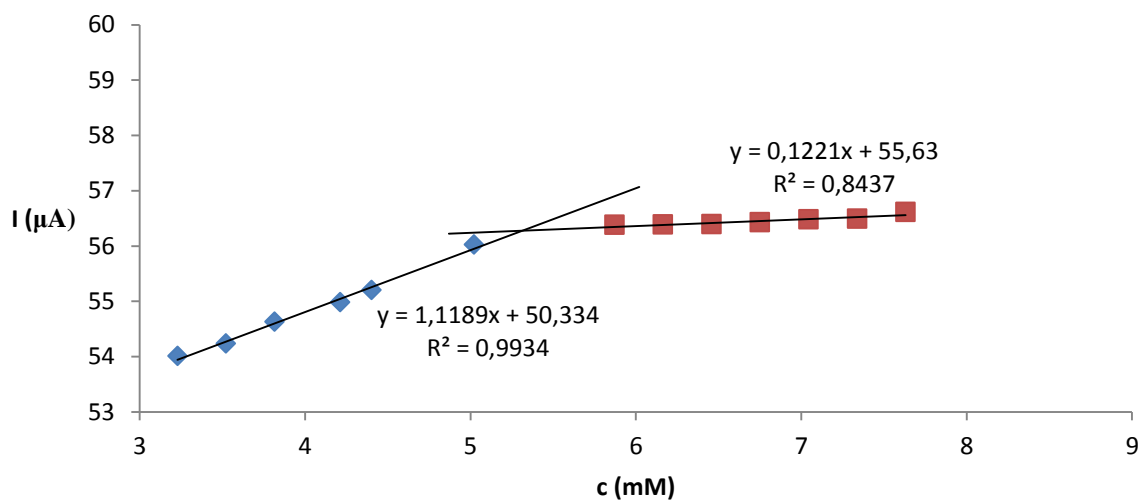
**Obrázek 3:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.



**Tabulka 4:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,3 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>proud</b> <b>(<math>\mu</math>A)</b>	<b>směrodatná</b> <b>odchylka (<math>\mu</math>A)</b>
3,2	54,01	0,27
3,5	54,24	0,28
3,8	54,63	0,28
4,2	54,98	0,27
4,4	55,20	0,28
5,0	56,02	0,24
5,9	56,38	0,26
6,2	56,39	0,23
6,5	56,39	0,24
6,8	56,43	0,21
7,0	56,48	0,17
7,3	56,49	0,20
7,6	56,62	0,22

**Obrázek 4:** Závislost proudu na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,3 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

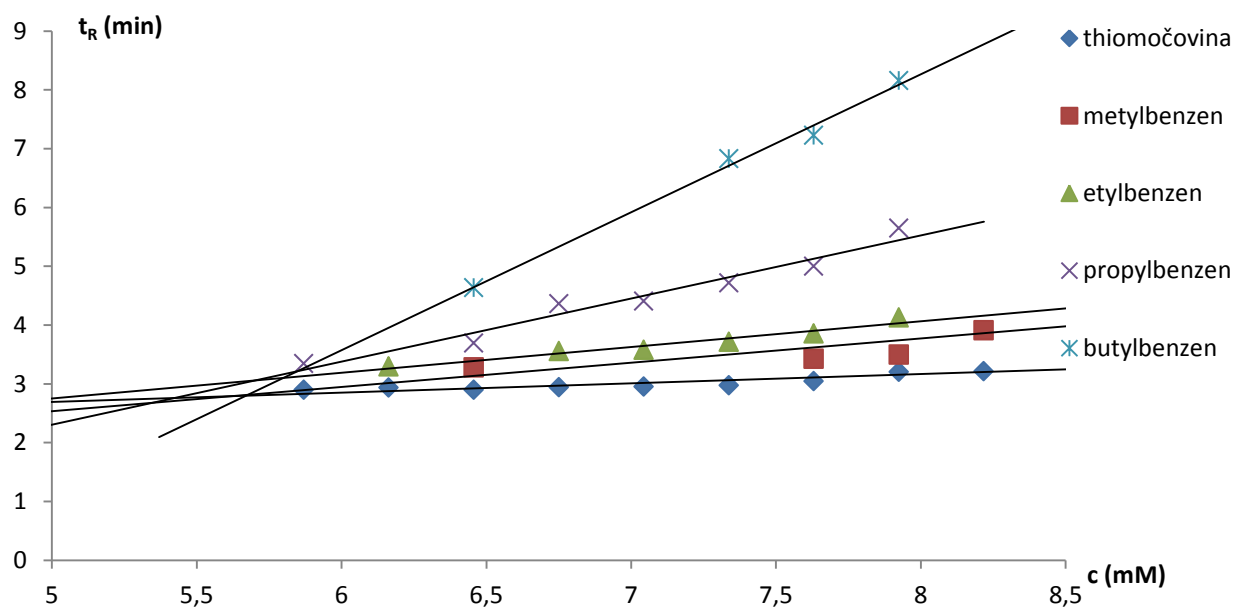


**Tabulka 5:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,3 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)
5,9	2,900	nerozdělen	nerozdělen
6,2	2,937	nerozdělen	3,294
6,5	2,898	3,281	nerozdělen
6,8	2,939	nerozdělen	3,558
7,0	2,951	nerozdělen	3,580
7,3	2,972	nerozdělen	3,715
7,6	3,034	3,428	3,856
7,9	3,200	3,499	4,130
8,2	3,212	3,909	nerozdělen
8,5	3,334	4,227	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 0,1587x + 1,8977$	$y = 0,421x + 0,4715$	$y = 0,438x + 0,561$
$R^2$	0,8335	0,7062	0,9447

c (mM)	propylbenzen (min)	butylbenzen (min)
5,9	3,344	nerozdělen
6,2	nerozdělen	nerozdělen
6,5	3,691	4,633
6,8	4,362	nerozdělen
7,0	4,408	nerozdělen
7,3	4,718	6,831
7,6	4,999	7,225
7,9	5,646	8,158
8,2	nerozdělen	nerozdělen
8,5	8,592	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 1,0739x - 3,0669$	$y = 2,3466x - 10,506$
$R^2$	0,9586	0,9925

**Obrázek 5:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,3 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

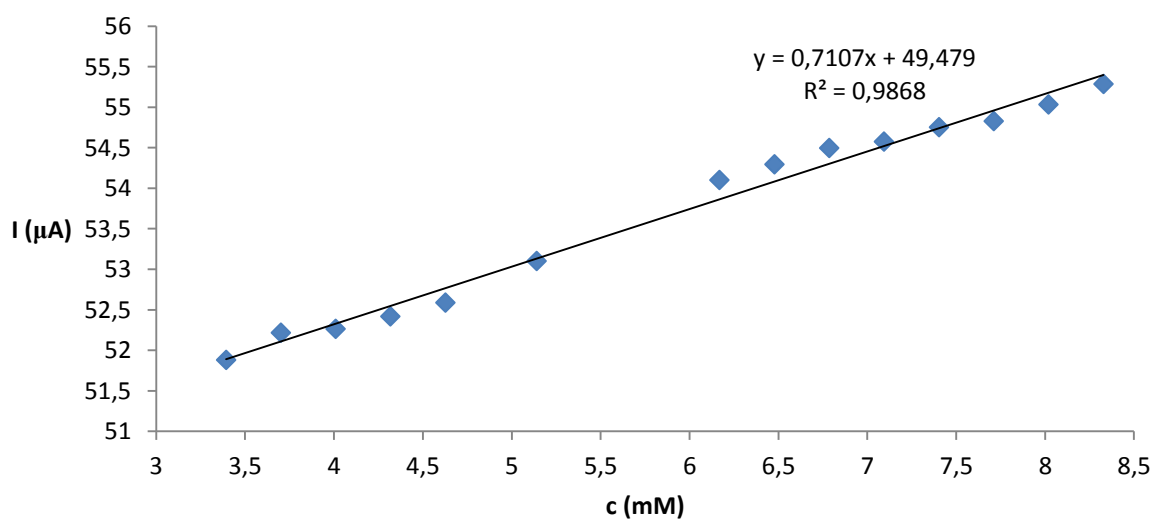




**Tabulka 6:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	proud ( $\mu$ A)	směrodatná odchylka ( $\mu$ A)
3,4	51,88	0,22
3,7	52,21	0,23
4,0	52,26	0,23
4,3	52,42	0,23
4,6	52,59	0,22
5,1	53,10	0,19
6,2	54,09	0,22
6,5	54,30	0,21
6,8	54,50	0,24
7,1	54,58	0,20
7,4	54,75	0,19
7,7	54,83	0,18
8,0	55,03	0,22
8,3	55,29	0,21

**Obrázek 6:** Závislost proudu na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



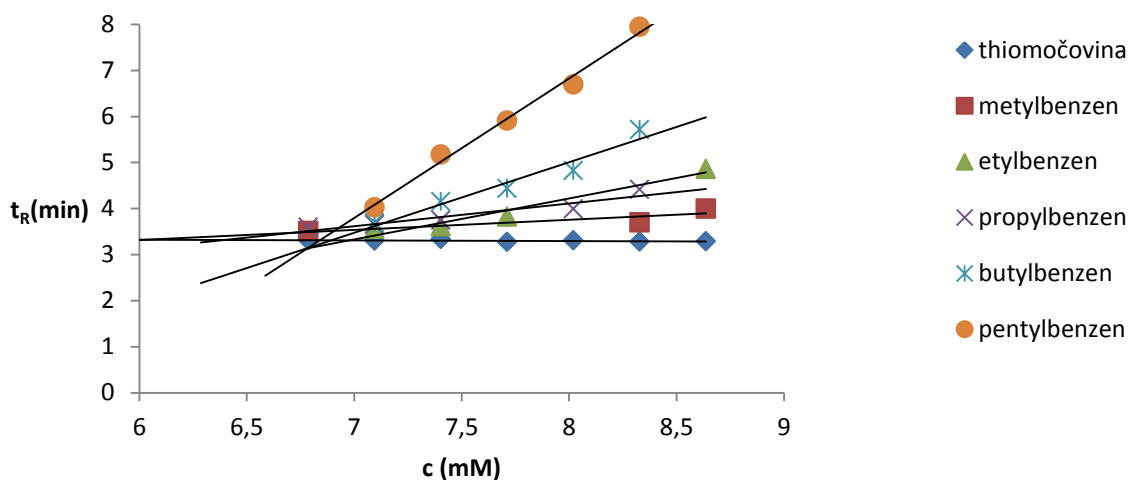
**Tabulka 7:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>thiomočovina</b> <b>(min)</b>	<b>metylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>etylbenzen</b> <b>(min)</b>
6,8	3,312	3,511	nerozdělen
7,1	3,304	nerozdělen	3,560
7,4	3,338	nerozdělen	3,615
7,7	3,273	nerozdělen	3,824
8,0	3,310	nerozdělen	nerozdělen
8,3	3,283	3,700	nerozdělen
8,6	3,293	4,001	4,861
rovnice regrese	$y = -0,0147x + 3,4152$	$y = 0,2189x + 2,0044$	$y = 0,8911x - 2,9064$
$R^2$	0,7097	0,7713	0,9535

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>propylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>butylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>pentylbenzen</b> <b>(min)</b>
6,8	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
7,1	3,596	3,691	4,028
7,4	3,650	4,153	5,176
7,7	3,745	4,437	5,913
8,0	nerozdělen	4,826	6,694
8,3	3,993	5,719	7,945
8,6	4,413	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 0,4946x + 0,157$	$y = 1,5331x - 7,257$	$y = 3,0318x - 17,249$
$R^2$	0,8924	0,9517	0,9907

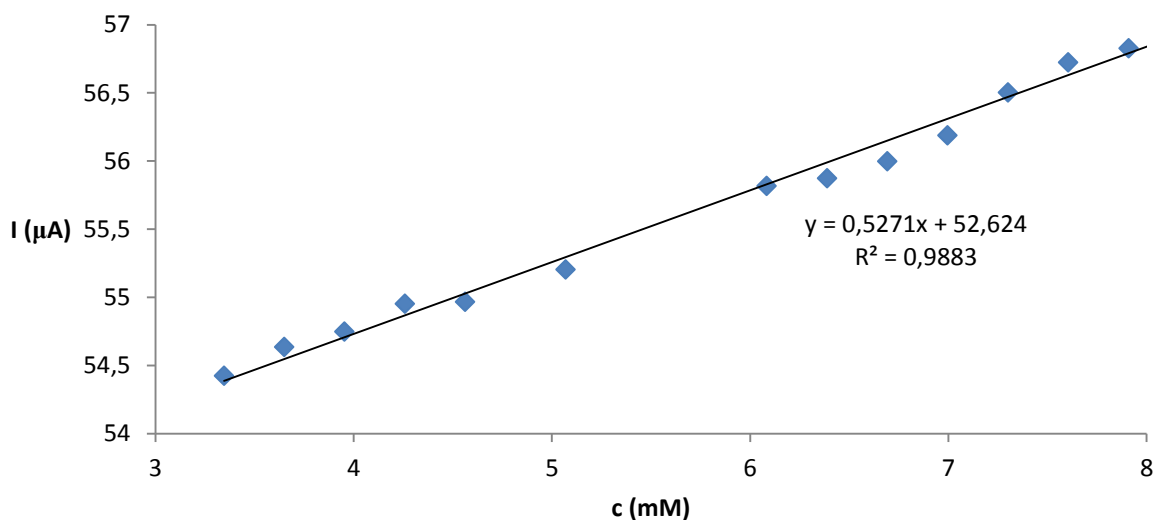
**Obrázek 7:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 8:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>proud</b> <b>(<math>\mu</math>A)</b>	<b>směrodatná</b> <b>odchylka (<math>\mu</math>A)</b>
3,3	54,42	0,28
3,7	54,63	0,28
3,9	54,75	0,27
4,3	54,95	0,27
4,6	54,97	0,28
5,1	55,20	0,28
6,1	55,82	0,25
6,4	55,87	0,26
6,7	55,99	0,27
6,7	56,19	0,24
7,3	56,50	0,23
7,6	56,72	0,24
7,9	56,83	0,26
8,2	57,12	0,21

**Obrázek 8:** Závislost proudu na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

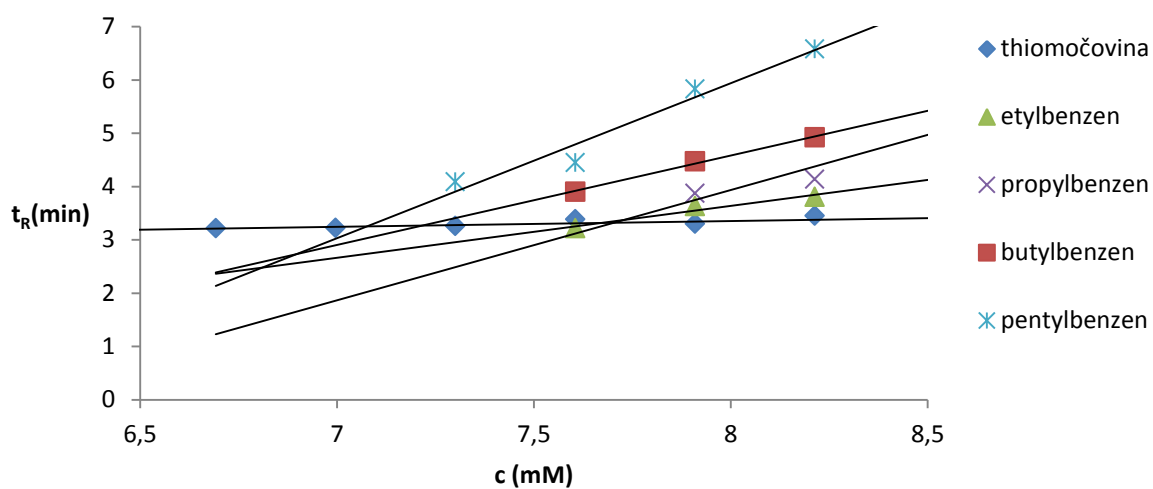


**Tabulka 9:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
6,7	3,213	nerozdělen	nerozdělen
6,9	3,223	nerozdělen	nerozdělen
7,3	3,256	nerozdělen	nerozdělen
7,6	3,383	3,217	nerozdělen
7,9	3,299	3,626	3,868
8,2	3,446	3,801	4,133
8,5	3,359	4,148	5,128
rovnice regrese	$y = 0,1088x + 2,4836$	$y = 0,9757x - 4,1672$	$y = 2,071x - 12,634$
$R^2$	0,6639	0,9795	0,8994

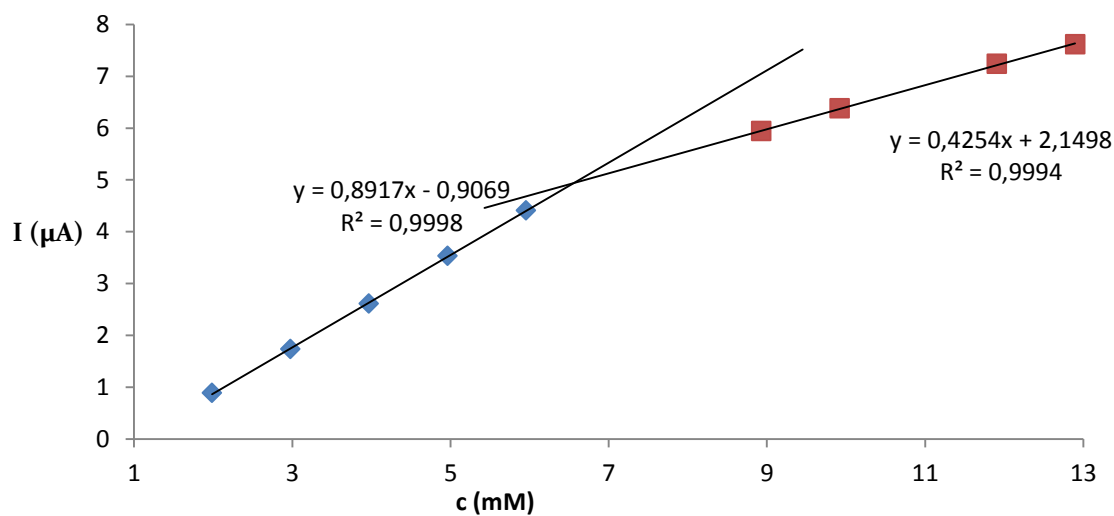
c (mM)	butylbenzen (min)	pentylbenzen (min)
6,7	nerozdělen	nerozdělen
6,9	nerozdělen	nerozdělen
7,3	nerozdělen	4,088
7,6	3,900	4,443
7,9	4,468	5,827
8,2	4,922	6,576
8,5	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 1,6798x - 8,856$	$y = 2,9086x - 17,329$
$R^2$	0,9959	0,9567

**Obrázek 9:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci 1-undecylsírany sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.



**Příloha 2****Dodecylsírán sodný****Tabulka 1:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS ve vodě.

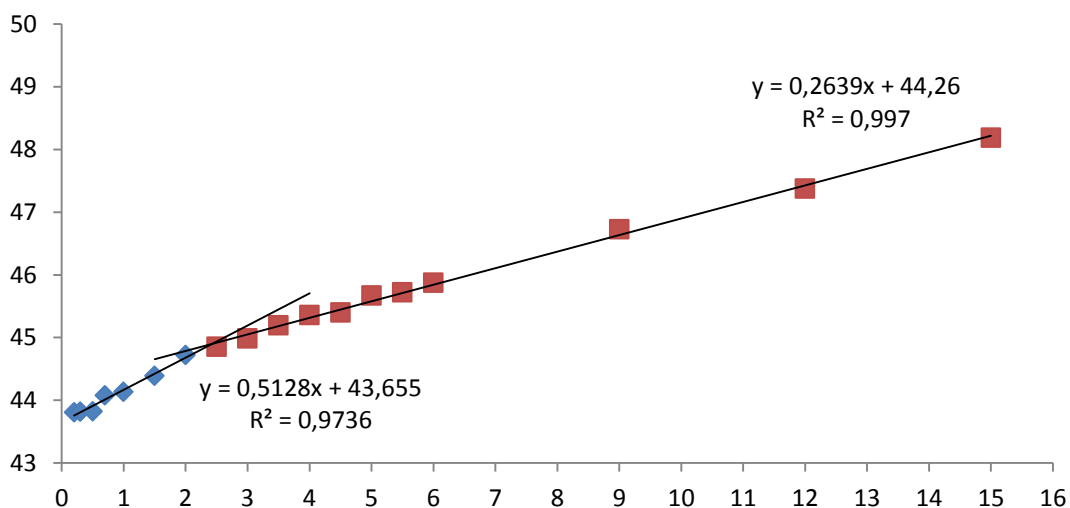
<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>proud</b> <b>(<math>\mu</math>A)</b>	<b>směrodatná</b> <b>odchylka (<math>\mu</math>A)</b>
1,9	0,88	0,02
2,9	1,73	0,01
3,9	2,61	0,02
4,9	3,53	0,02
5,9	4,41	0,02
8,9	5,94	0,05
9,9	6,38	0,04
11,9	7,24	0,02
12,9	7,62	0,03

**Obrázek 1:** Závislost proudu na koncentraci SDS ve vodě.

**Tabulka 2:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9.

c (mM)	proud ( $\mu\text{A}$ )	směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,2	43,81	0,21
0,3	43,82	0,40
0,5	43,82	0,17
0,7	44,08	0,15
1,0	44,13	0,18
1,5	44,39	0,16
2	44,72	0,20
2,5	44,85	0,16
3,0	44,99	0,16
3,5	45,19	0,17
4,0	45,36	0,17
4,5	45,40	0,16
5,0	45,67	0,15
5,5	45,72	0,16
6,0	46,72	0,16
9,0	47,38	0,18
12,0	48,19	0,16
15,0	48,19	0,18

**Obrázek 2:** Závislost proudu na koncentraci SDS v 49,7 mM octanu amonném o pH 9.



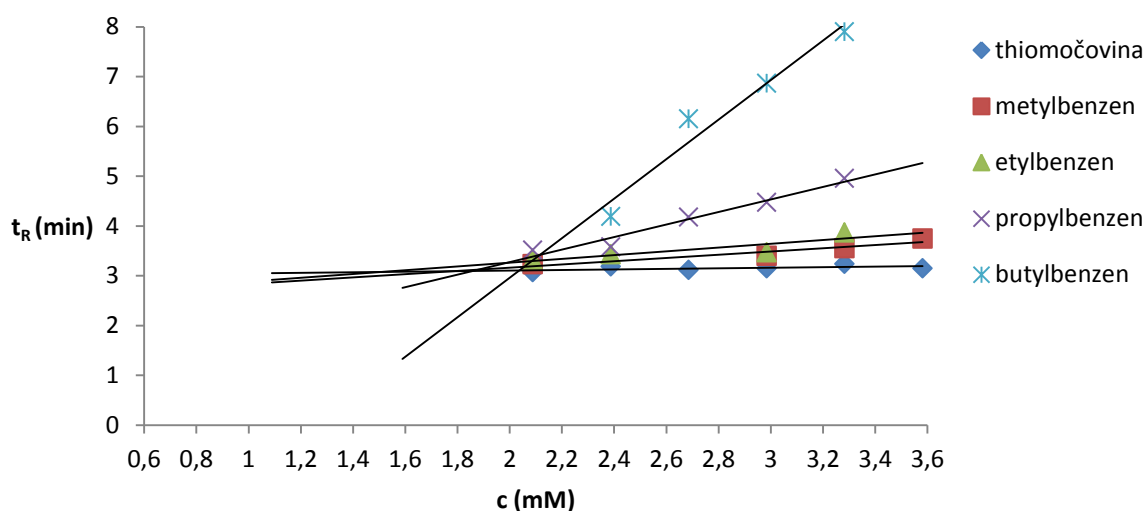
**Tabulka 3:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>thiomočovina</b> <b>(min)</b>	<b>metylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>etylbenzen</b> <b>(min)</b>
2,1	3,070	3,226	3,322
2,4	3,184	nerozdělen	3,427
2,7	3,112	nerozdělen	nerozdělen
3,0	3,143	3,397	3,468
3,3	3,238	3,550	3,867
3,6	3,147	3,744	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 0,0553x + 2,9921$	$y = 0,3255x + 2,5078$	$y = 0,379x + 2,5031$
$R^2$	0,2842	0,9049	0,7482

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>propylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>butylbenzen</b> <b>(min)</b>
2,1	3,511	nerozdělen
2,4	3,579	4,189
2,7	4,176	6,150
3,0	4,467	6,860
3,3	4,949	7,900
3,6	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 1,2612x + 0,7488$	$y = 3,9683x - 4,9761$
$R^2$	0,9618	0,9541



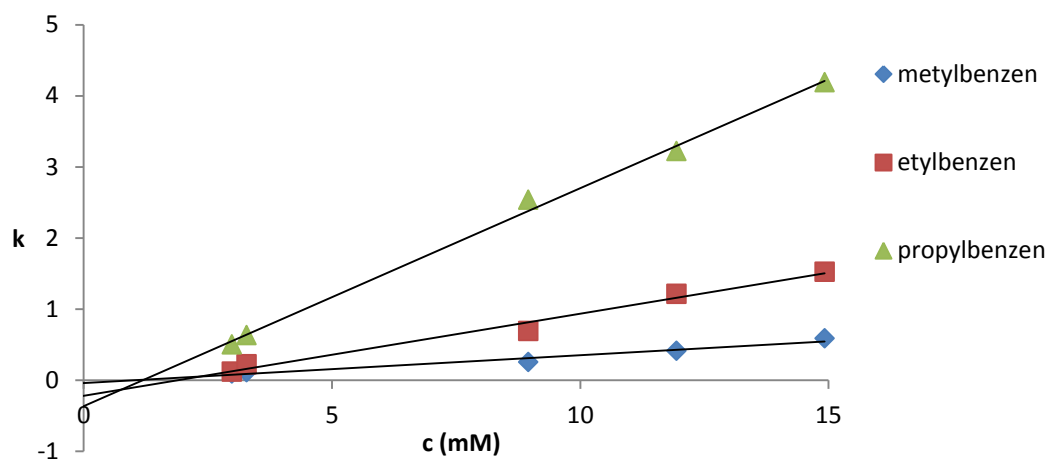
**Obrázek 3:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9.



**Tabulka 4:** Vypočítané hodnoty pohyblivosti micel SDS a retenčního faktoru alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9.

c SDS (mM)	$t_{mic}$ (min)	alkylbenzeny		
		metylbenzen k	etylbenzen k	propylbenzen k
2,9	27,62	0,092	0,118	0,503
3,3	29,74	0,109	0,223	0,634
8,9	33,54	0,254	0,692	2,537
11,9	34,04	0,412	1,216	3,224
14,9	34,58	0,588	1,527	4,190
rovnice regrese		$y=0,0392x-0,0039$	$y=0,1154x-0,2162$	$y=0,3066x-0,3631$
$R^2$		0,9664	0,9848	0,9969

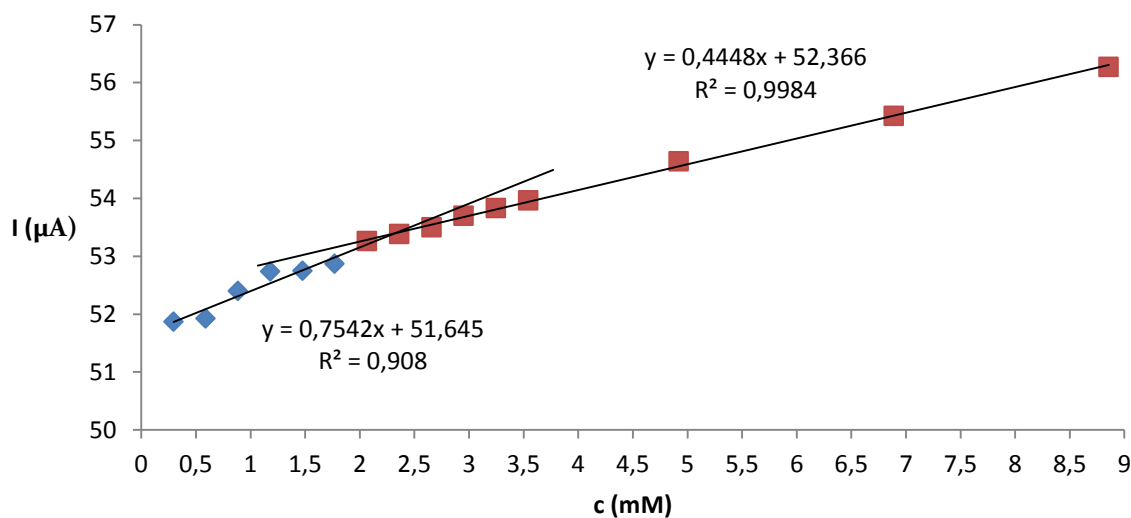
**Obrázek 4:** Závislost retenčního faktoru alkylbenzenů na koncentraci SDS v 49,7 mM octanu amonném o pH 9.



**Tabulka 5:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	proud ( $\mu$ A)	směrodatná odchylka ( $\mu$ A)
0,3	51,90	0,24
0,6	51,93	0,26
0,9	52,40	0,49
1,2	52,74	0,24
1,5	52,75	0,26
1,8	52,90	0,24
2,1	53,30	0,25
2,4	53,40	0,23
2,7	53,50	0,24
3,0	53,70	0,20
3,3	53,83	0,25
3,6	53,96	0,19
5,0	54,64	0,22
7,0	55,42	0,22
9,0	56,27	0,20

**Obrázek 5:** Závislost proudu na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

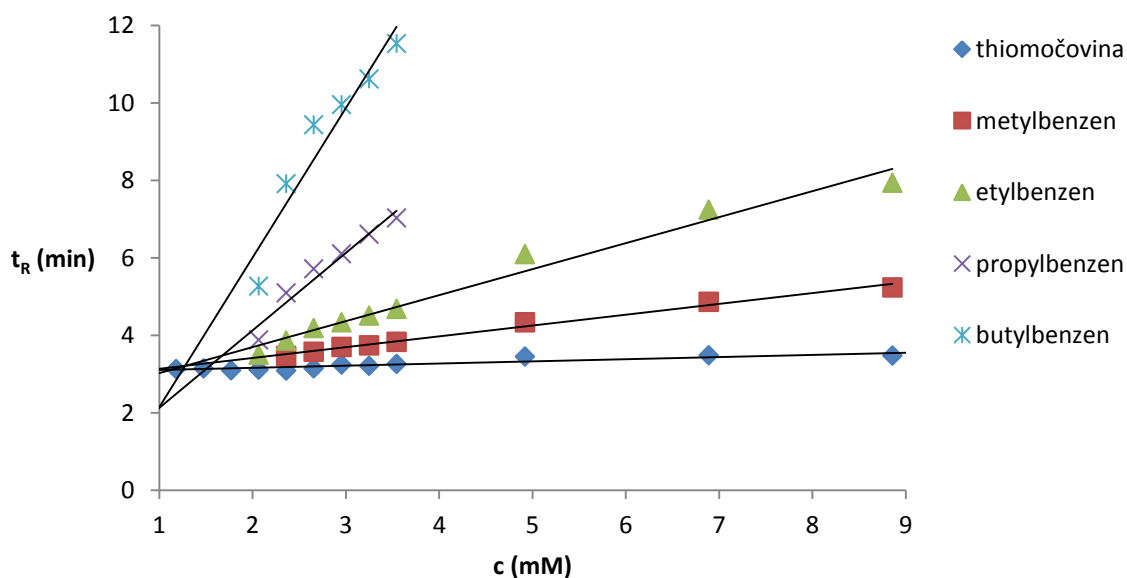


**Tabulka 6:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)
2,1	3,110	nerozdělen	3,497
2,4	3,092	3,465	3,866
2,7	3,143	3,573	4,183
3,0	3,242	3,703	4,336
3,3	3,212	3,742	4,510
3,6	3,263	3,830	4,681
5,0	3,449	4,339	6,092
7,0	3,485	4,860	7,239
9,0	3,478	5,236	7,940
rovnice regrese	$y = 0,0553x + 3,0513$	$y = 0,279x + 2,8578$	$y = 0,6708x + 2,3545$
$R^2$	0,8404	0,9894	0,9768

<b>koncentrace (mM)</b>	<b>propylbenzen (min)</b>	<b>butylbenzen (min)</b>
2,1	3,885	5,270
2,4	5,092	7,915
2,7	5,716	9,429
3,0	6,100	9,950
3,3	6,606	10,609
3,6	7,026	11,527
5,0	nerozdělen	nerozdělen
7,0	nerozdělen	nerozdělen
9,0	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese $y = 1,9964x + 0,1377$ $y = 3,8598x - 1,7101$		
$R^2$	0,9509	0,9066

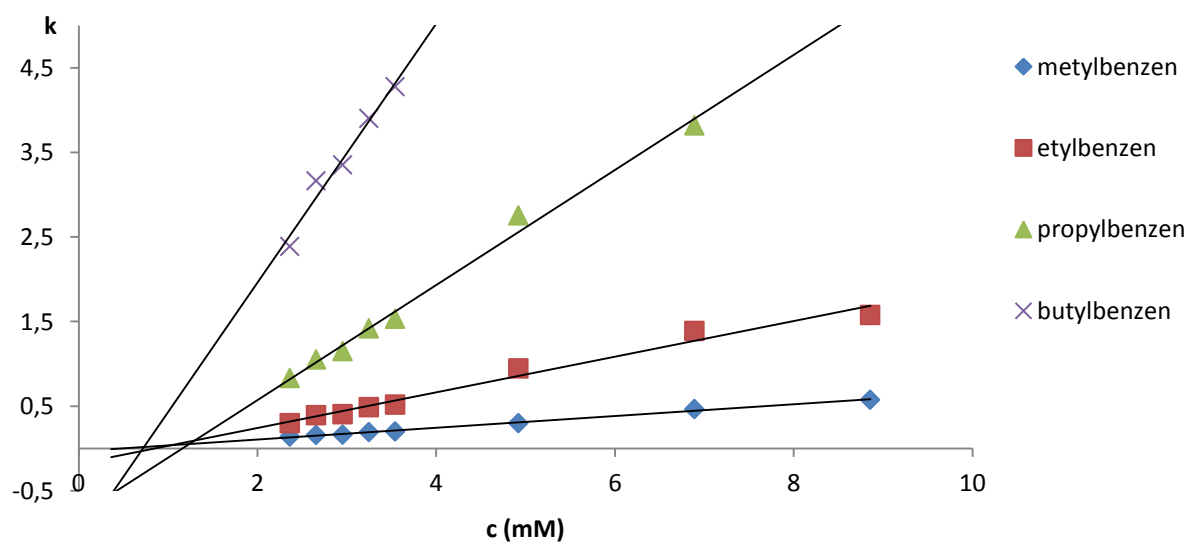
**Obrázek 6:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 7:** Vypočítané hodnoty pohyblivosti micel SDS a retenčního faktoru v závislosti na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	t <sub>mic</sub> (min)	metylbenzen	etylbenzen	propylbenzen	butylbenzen
		k	k	k	k
2,4	22,82	0,142	0,301	0,832	2,388
2,7	25,61	0,159	0,396	1,054	3,165
2,9	25,99	0,166	0,405	1,152	3,352
3,2	25,87	0,193	0,489	1,419	3,904
3,5	28,25	0,201	0,521	1,535	4,278
4,9	31,73	0,299	0,948	2,757	-
6,9	32,09	0,465	1,391	3,819	-
8,9	42,10	0,577	1,581	-	-
rovnice regrese		y=0,0696x-0,033	y=0,2105x-0,1781	y=0,6802x-0,79	y=1,5305x-1,1012
R <sup>2</sup>		0,9953	0,9778	0,9917	0,9701

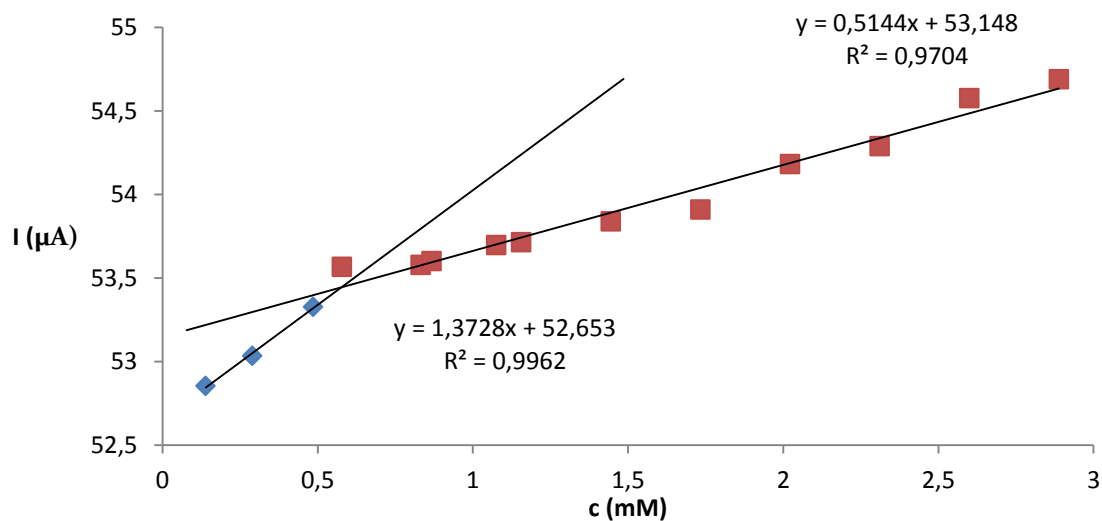
**Obrázek 7:** Závislost retenčního faktoru na koncentraci SDS v 50,1 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 8:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	proud ( $\mu\text{A}$ )	směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,1	52,85	0,14
0,3	53,03	0,58
0,5	53,33	0,17
0,6	53,57	0,29
0,8	53,58	0,14
0,9	53,60	0,30
1,1	53,70	0,14
1,2	53,71	0,20
1,4	53,84	0,32
1,7	53,91	0,33
2,0	54,18	0,34
2,3	54,29	0,21
2,6	54,58	0,39
2,9	54,69	0,41

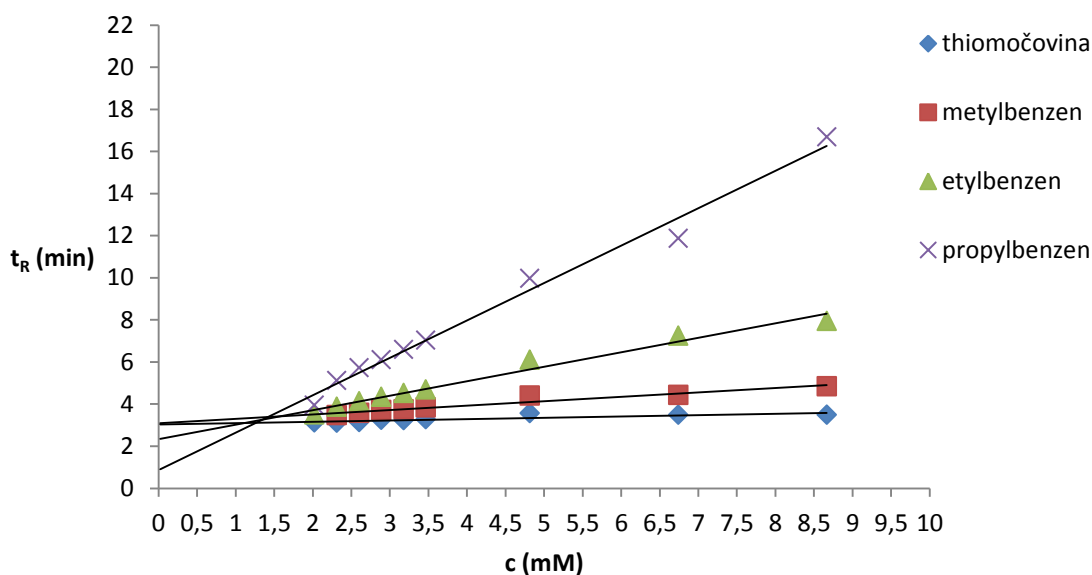
**Obrázek 8:** Závislost proudu na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 9:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
2,0	3,121	nerozdělen	3,493	3,937
2,3	3,095	3,464	3,866	5,114
2,6	3,134	3,572	4,124	5,716
2,9	3,236	3,703	4,336	6,101
3,2	3,218	3,724	4,510	6,583
3,5	3,276	3,831	4,687	7,030
4,8	3,561	4,399	6,091	9,956
6,7	3,477	4,422	7,239	11,857
8,9	3,479	4,383	7,940	16,683
rovnice regrese	$y = 0,0643x + 3,0264$	$y = 0,209x + 3,0907$	$y = 0,6879x + 2,3389$	$y = 1,7765x + 0,8671$
$R^2$	0,6938	0,9305	0,977	0,9863

**Obrázek 9:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



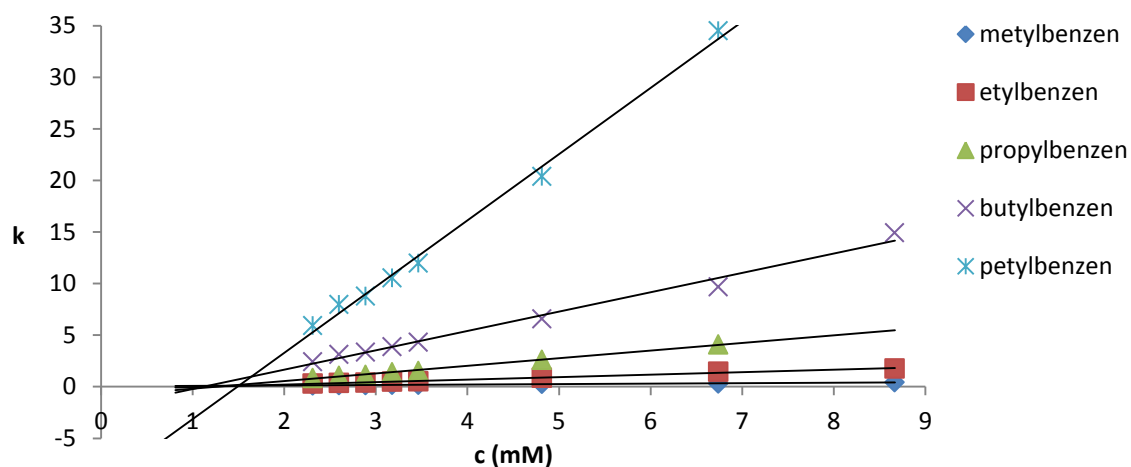
**Tabulka 10:** Vypočítané hodnoty pohyblivosti micel SDS a retenčního faktoru alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>t<sub>mic</sub></b> <b>(min)</b>	<b>metylbenzen</b>	<b>etylbenzen</b>	<b>propylbenzen</b>
		<b>k</b>	<b>k</b>	<b>k</b>
2,3	22,19	0,139	0,302	0,848
2,6	26,45	0,159	0,374	1,051
2,9	26,17	0,165	0,407	1,155
3,2	25,97	0,186	0,486	1,401
3,5	27,99	0,192	0,517	1,530
4,8	31,62	0,265	0,879	2,621
6,7	28,92	0,309	1,443	4,085
8,7	27,92	0,446	1,777	-
rovnice regrese		$y = 0,0452x + 0,0365$	$y = 0,2424x - 0,2768$	$y = 0,7394x - 0,9333$
<b>R<sup>2</sup></b>		0,9794	0,9939	0,9972

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>t<sub>mic</sub></b> <b>(min)</b>	<b>butylbenzen</b>	<b>pentylbenzen</b>
		<b>k</b>	<b>k</b>
2,3	22,19	2,421	5,929
2,6	26,45	3,121	7,959
2,9	26,17	3,348	8,772
3,2	25,97	3,883	10,537
3,5	27,99	4,326	11,981
4,8	31,62	6,580	20,372
6,7	28,92	9,673	34,518
8,7	27,92	14,927	-
rovnice regrese		$y = 1,8786x - 2,1052$	$y = 6,4223x - 9,5573$
<b>R<sup>2</sup></b>		0,9873	0,9944



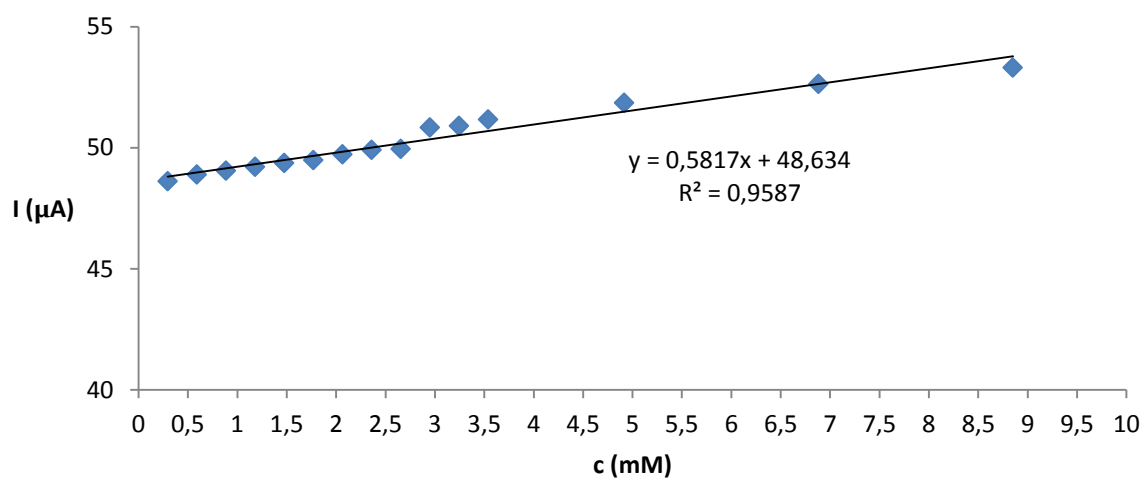
**Obrázek 10:** Závislost retenčního faktoru alkylbenzenů na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 11:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	proud ( $\mu\text{A}$ )	směrodatná odchylka ( $\mu\text{A}$ )
0,3	48,62	0,41
0,6	48,90	0,21
0,8	49,05	0,13
1,2	49,21	0,29
1,5	49,39	0,29
1,8	49,48	0,3
2,0	49,73	0,3
2,4	49,91	0,33
2,7	49,95	0,34
3,0	50,84	0,58
3,3	50,90	0,7
3,5	51,17	0,33
4,9	51,85	0,37
6,9	52,64	0,27
8,9	53,30	0,32

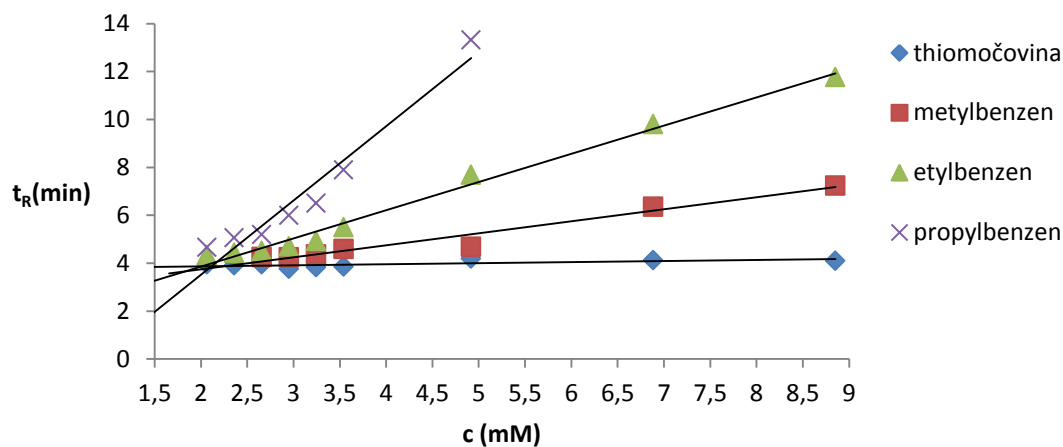
**Obrázek 11:** Závislost proudu na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 12:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
2,0	3,952	nerozdělen	4,337	4,668
2,4	3,907	nerozdělen	4,433	5,058
2,7	3,950	4,267	4,516	5,193
3,0	3,771	4,242	4,698	5,994
3,3	3,835	4,371	4,931	6,500
3,5	3,858	4,597	5,500	7,891
4,9	4,199	4,691	7,696	13,324
6,9	4,129	6,363	9,808	nerozdělen
8,9	4,107	7,235	11,775	nerozdělen
rovnice regrese	$y=0,04838x+3,7853$	$y=0,5002x+2,7485$	$y=1,1776x+1,5078$	$y=3,1031x-2,688$
$R^2$	0,4759	0,9598	0,9886	0,946

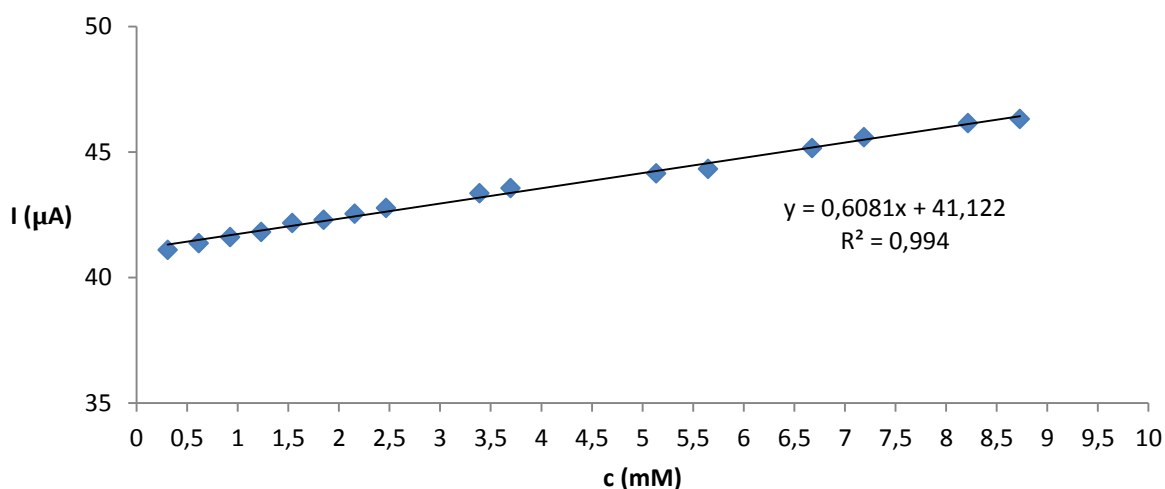
**Obrázek 12:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci SDS v 50,6 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 13:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci SDS v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	proud (μA)	směrodatná odchylka (μA)
0,3	41,10	0,19
0,6	41,34	0,16
0,9	41,61	0,17
1,2	41,82	0,16
1,5	42,17	0,18
1,9	42,29	0,21
2,2	42,54	0,17
2,5	42,77	0,17
3,4	43,36	0,30
3,7	43,56	0,19
5,1	44,15	0,27
5,7	44,33	0,26
6,8	45,16	0,16
7,2	45,60	0,20
8,2	46,15	0,40
8,7	46,32	0,14

**Obrázek 13:** Závislost proudu na koncentraci SDS v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.

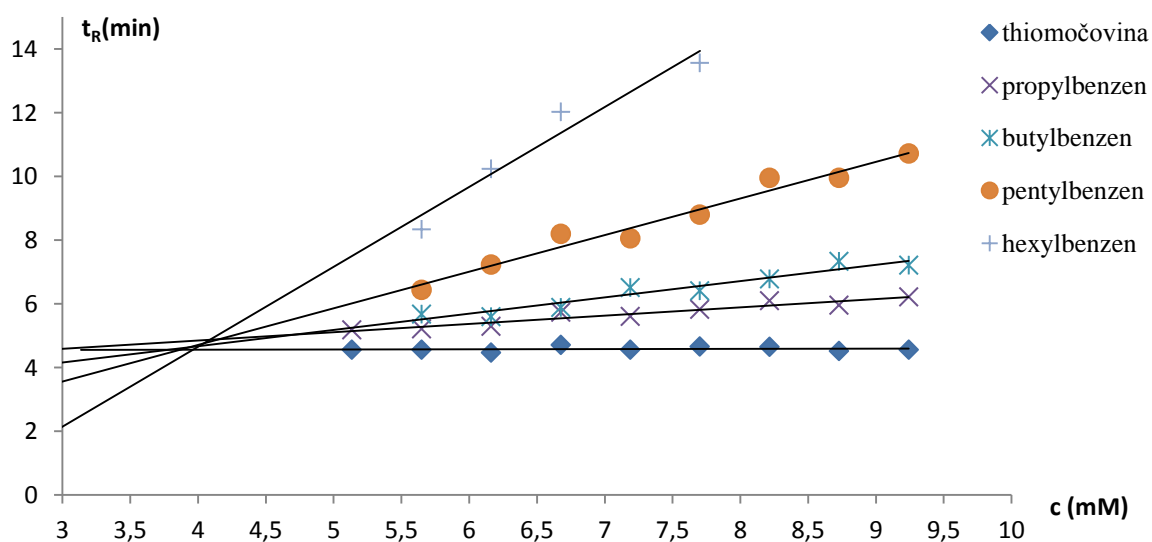


**Tabulka 14:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci SDS v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	propylbenzen (min)	butylbenzen (min)
5,1	4,560	5,188	5,68
5,7	4,557	5,210	5,591
6,2	4,468	5,297	5,887
6,7	4,708	5,739	6,513
7,2	4,560	5,604	6,410
7,7	4,657	5,823	6,779
8,2	4,653	6,096	7,337
8,7	4,521	5,954	7,214
9,2	4,564	6,219	7,63
rovnice regrese	$y = 0,0074x + 4,5301$	$y = 0,2609x + 3,8056$	$y = 0,511x + 2,6217$
$R^2$	0,619	0,9141	0,9246

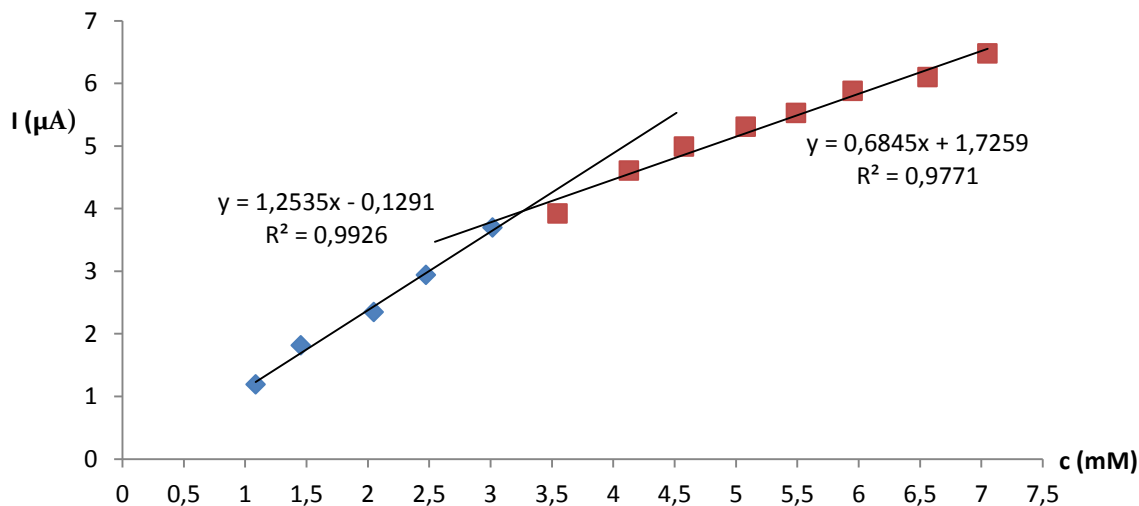
c (mM)	pentylbenzen (min)	hexylbenzen (min)
5,1	nerozdělen	nerozdělen
5,7	6,443	8,335
6,2	7,236	10,234
6,7	8,195	12,023
7,2	8,056	nerozdělen
7,7	8,804	13,565
8,2	9,952	nerozdělen
8,7	9,956	nerozdělen
9,2	10,715	nerozdělen
rovnice regrese	$y=1,1481x+0,121$	$y=2,5073x-5,3758$
$R^2$	0,9658	0,9474

**Obrázek 14:** Závislost retenčních časů alkybenzenů na koncentraci SDS v 50,4 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.



**Příloha 3****Tridecylsírán sodný****Tabulka 1:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsíránu sodného ve vodě.

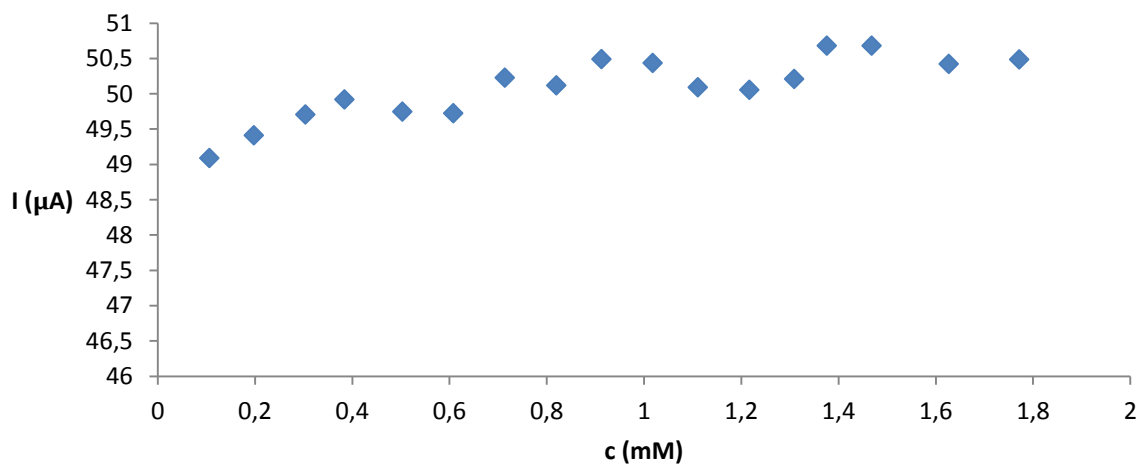
<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>proud</b> <b>(<math>\mu</math>A)</b>	<b>směrodatná</b> <b>odchylka (<math>\mu</math>A)</b>
1,1	1,19	0,06
1,5	1,81	0,04
2,1	2,35	0,03
2,5	2,94	0,03
3,0	3,70	0,03
3,5	3,92	0,03
4,1	4,61	0,04
4,6	4,99	0,03
5,1	5,31	0,04
5,5	5,53	0,07
6,0	5,88	0,04
6,6	6,10	0,05
7,1	6,48	0,12

**Obrázek 1:** Závislost proudu na koncentraci *n*-tridecylsíránu sodného ve vodě.

**Tabulka 2:** Naměřené hodnoty proudu a směrodatných odchylek v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.

c (mM)	proud ( $\mu$ A)	směrodatná odchylka ( $\mu$ A)
0,1	49,09	0,30
0,2	49,41	0,23
0,3	47,70	0,23
0,4	49,92	0,25
0,5	49,75	0,24
0,6	49,72	0,23
0,7	50,23	0,23
0,8	50,12	0,24
0,9	50,49	0,24
1,0	50,43	0,23
1,1	50,08	0,25
1,2	50,05	0,25
1,3	50,21	0,25
1,4	50,68	0,26
1,5	50,67	0,24
1,6	50,42	0,27
1,8	50,49	0,25

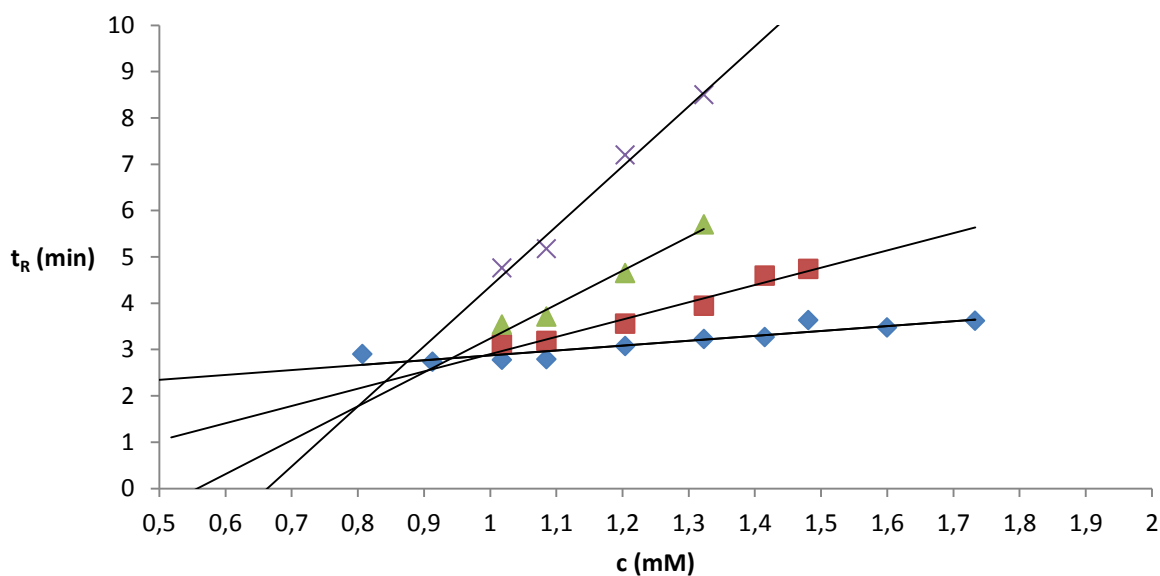
**Obrázek 2:** Závislost proudu na koncentraci *n*-tridecylsírany sodného v 50,1 mM octanu amonném o pH 9.



**Tabulka 3:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomčovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
0,8	2,983	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
0,9	2,727	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
1,0	2,772	3,104	3,532	4,753
1,1	2,783	3,179	3,702	5,168
1,2	3,072	3,550	4,647	7,196
1,3	3,221	3,938	5,693	8,497
1,4	3,259	4,592	nerozdělen	nerozdělen
1,5	3,625	4,736	nerozdělen	nerozdělen
1,6	3,472	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
1,7	3,612	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y=1,0521x+1,8202$	$y=3,7351x-0,8352$	$y=7,3185x-4,08$	$y=12,957x-8,594$
R <sup>2</sup>	0,8486	0,9661	0,9776	0,9837

**Obrázek 3:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

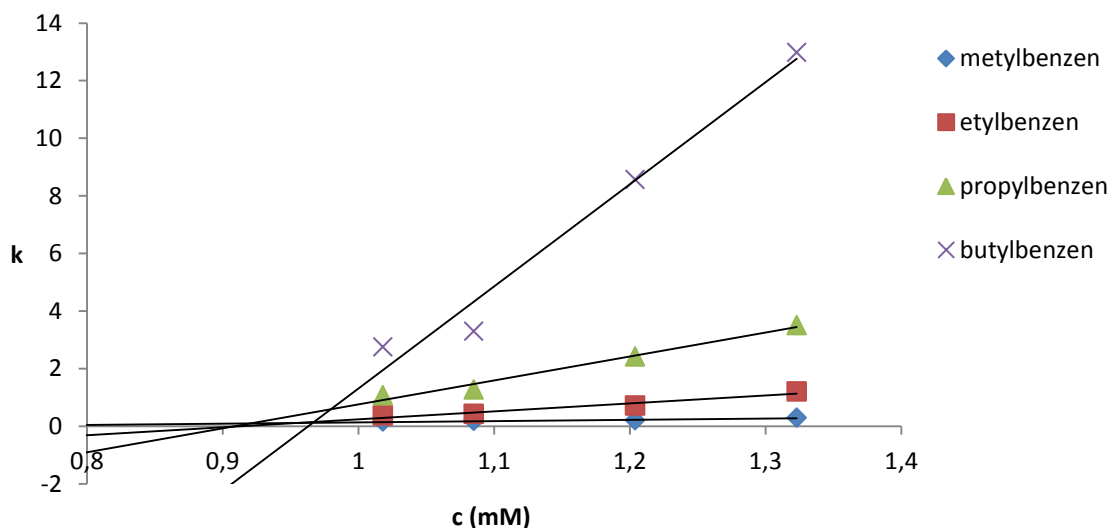




**Tabulka 4:** Vypočítané hodnoty pohyblivosti micel *n*-tridecylsírany sodného a retenčního faktoru alkylbenzenů v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsírany sodného v 50,2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	t <sub>mic</sub> (min)	metylbenzen	etylbenzen	propylbenzen	butylbenzen
		k	k	k	k
1,0	14,20	0,153	0,365	1,074	2,753
1,1	15,90	0,178	0,430	1,269	3,291
1,2	16,20	0,199	0,719	2,415	8,564
1,3	15,80	0,297	1,199	3,509	12,979
rovnice regrese		$y = 0,4434x - 0,307$	$y = 2,7617x - 2,518$	$y = 8,3139x - 7,5$	$y = 35,448x - 34,13$
R <sup>2</sup>		0,9036	0,9555	0,9813	0,9748

**Obrázek 4:** Závislost retenčního faktoru alkylbenzenů na koncentraci *n*-tridecylsírany sodného v 50, 2 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 5 % (v/v) acetonitrilu.

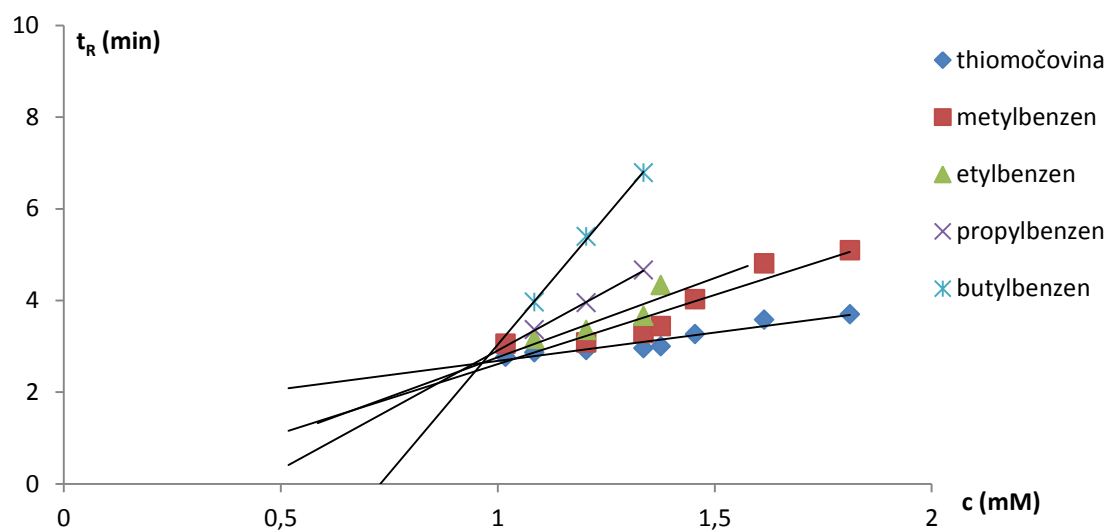


**Tabulka 5:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsírany sodného ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>thiomočovina</b> <b>(min)</b>	<b>metylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>etylbenzen</b> <b>(min)</b>
1,0	2,768	3,052	nerozdělen
1,1	2,869	nerozdělen	3,158
1,2	2,912	3,080	3,354
1,3	2,958	3,283	3,659
1,4	3,001	3,441	4,337
1,5	3,263	4,027	nerozdělen
1,6	3,557	4,807	nerozdělen
1,7	3,694	5,095	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 1,2365x - 1,4455$	$y = 3,0173x - 0,4043$	$y = 3,455x - 0,6934$
$R^2$	0,9145	0,8809	0,7896

<b>c</b> <b>(mM)</b>	<b>propylbenzen</b> <b>(min)</b>	<b>butylbenzen</b> <b>(min)</b>
1,0	nerozdělen	nerozdělen
1,1	3,362	3,959
1,2	3,946	5,392
1,3	4,662	6,78
1,4	nerozdělen	nerozdělen
1,5	nerozdělen	nerozdělen
1,6	nerozdělen	nerozdělen
1,7	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 5,1837x - 2,2737$	$y = 11,226x - 8,1876$
$R^2$	0,9992	0,9985

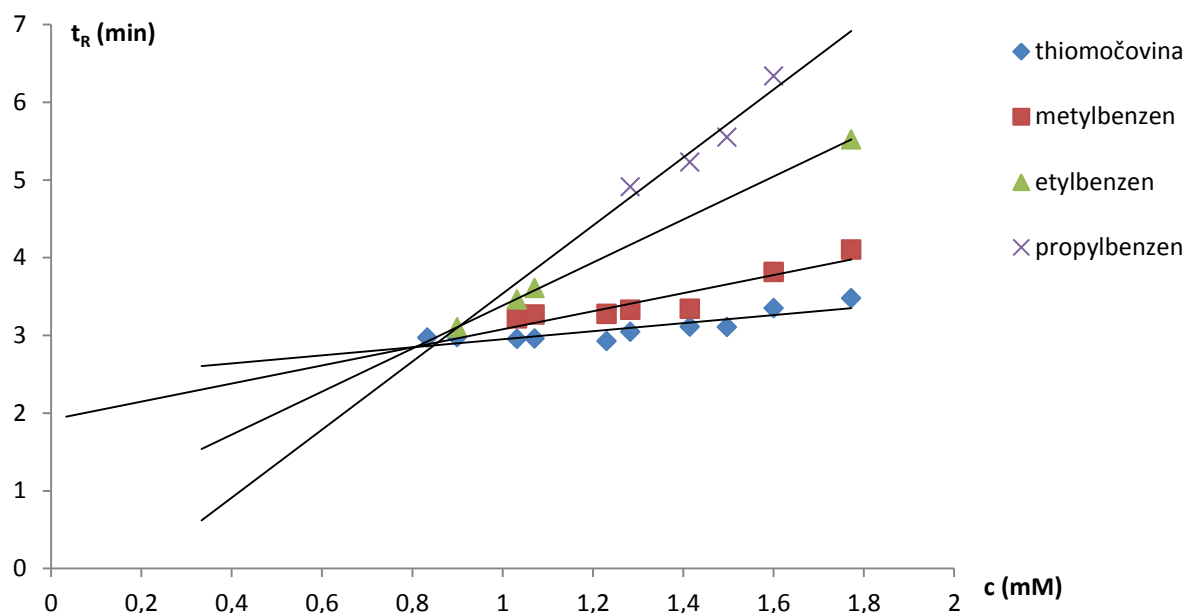
**Obrázek 5:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 10 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 6:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
0,8	2,971	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
0,9	2,973	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
1,0	2,954	3,216	nerozdělen	4,192
1,1	2,957	3,267	nerozdělen	4,607
1,2	2,923	3,276	nerozdělen	5,046
1,3	3,044	nerozdělen	4,910	nerozdělen
1,4	3,111	3,340	5,226	nerozdělen
1,5	3,106	3,337	5,55	nerozdělen
1,6	3,349	3,816	6,336	nerozdělen
1,8	3,475	4,101	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 0,5182x + 2,4317$	$y = 1,1639x + 1,914$	$y = 2,7696x + 0,6168$	$y = 4,3787x - 0,839$
$R^2$	0,7451	0,8587	0,9998	0,9202

**Obrázek 6:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného ve 49,7 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 15 % (v/v) acetonitrilu.



**Tabulka 7:** Retenční časy alkylbenzenů v závislosti na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.

c (mM)	thiomočovina (min)	metylbenzen (min)	etylbenzen (min)	propylbenzen (min)
1,3	3,171	nerozdělen	3,413	nerozdělen
1,4	3,325	nerozdělen	nerozdělen	nerozdělen
1,5	3,282	nerozdělen	3,442	3,552
1,6	3,193	3,394	3,467	3,653
1,7	3,162	nerozdělen	3,531	3,850
1,8	3,208	3,473	3,654	4,103
1,9	3,343	3,623	3,916	4,668
rovnice regrese	$y=0,0567x+3,1485$	$y=0,5249x+2,546$	$y=0,6545x+2,4856$	$y=2,0242x+0,4637$
$R^2$	0,7356	0,8452	0,783	0,8875

c (mM)	butylbenzen (min)	pentylbenzen (min)
1,3	nerozdělen	nerozdělen
1,4	3,651	3,893
1,5	3,718	4,183
1,6	4,131	nerozdělen
1,7	4,688	nerozdělen
1,8	nerozdělen	5,908
1,9	nerozdělen	nerozdělen
rovnice regrese	$y = 3,3464x - 1,1647$	$y = 4,509x - 2,496$
$R^2$	0,9965	0,9972

**Obrázek 7:** Závislost retenčních časů alkylbenzenů na koncentraci *n*-tridecylsíranu sodného ve 49,9 mM octanu amonném o pH 9 s přidavkem 20 % (v/v) acetonitrilu.

