

**Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická**

**Elektroforetické separace fenolických sloučenin pomocí
perfluorovaných karboxylových kyselin**

Bc. Martina Moravcová

**Diplomová práce
2018**

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina Moravcová**
Osobní číslo: **C16546**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Analytická chemie**
Název tématu: **Elektroforetické separace fenolických sloučenin pomocí perfluorovaných karboxylových kyselin**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

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

1. V teoretické části práce popište principy elektromigračních separačních technik, používanou instrumentaci a nejběžnější způsoby detekce včetně spojení s hmotnostní spektrometrií. Popište vlastnosti perfluorovaných kyselin a shrňte jejich využití při elektromigračních separacích. Uveďte příklady analýz vybraných fenolických sloučenin elektromigračními technikami.
2. Proměřte migrační charakteristiky vybraných fenolických sloučenin v těkavých elektrolytech s přídavkem perfluorovaných karboxylových kyselin. Zaměřte se rovněž na stanovení velikosti elektroosmotického toku a pohybu micel. Optimalizujte podmínky analýzy s cílem dosáhnout co nejlepší separace směsi vybraných fenolických sloučenin.
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, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **20. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

PROHLÁŠENÍ

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

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

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

V Pardubicích dne 8. 5. 2018

Bc. Martina Moravcová

PODĚKOVÁNÍ:

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce, doc. Ing. Petru Česlovi, Ph.D. za jeho odbornou pomoc, cenné rady a poskytnuté materiály, které mi pomohly při zpracování diplomové práce. Ráda bych také poděkovala Ing. Janě Váňové, PhD. za cenné rady a energii, kterou mi věnovala během experimentálního měření. V neposlední řadě děkuji své rodině, která mi byla velkou oporou po celou dobu studia.

ANOTACE

Tato diplomová práce je zaměřena na separaci antioxidantů pomocí micelární elektrokinetické chromatografie za použití těkavých pufrů z perfluorovaných karboxylových kyselin. V prvním kroku bylo nutné zjistit elektroosmotický tok a pohyblivost micel, dále byly proměřeny jednotlivé standardy za různých podmínek. Po proměření standardů byly proměřeny nejprve jen směsi kyselin a flavonu, potom i celková směs devatenácti antioxidantů. Při žádné separaci směsi se nepodařilo rozseparovat všechny standardy, jelikož některé standardy mají stejnou pohyblivost a mohou být v jednom píku, tím pádem je v záznamu nebylo možno rozlišit. Nejlepší separace byla v 20 mM PFOA s přídatkem 10 % MeOH, v tomto případě se podařilo rozseparovat čtrnáct píků z devatenácti.

KLÍČOVÁ SLOVA

Perfluorované karboxylové kyseliny, antioxidanty, micelární elektrokinetická chromatografie

TITLE

Electrophoretic separations of phenolic compounds using perfluorinated carboxylic acids

ANNOTATION

This diploma thesis focuses on the separation of antioxidants by micellar electrokinetic chromatography using volatile perfluorinated carboxylic acids. In the first step it was necessary to determine the electroosmotic flow and the mobility of the micelles, then the individual standards were measured under different conditions. After measuring the standards, only the mixtures of acids and flavon were first measured, then the total mixture of nineteen antioxidants. Due to similar mobilities of some standards and co-migration in one peak, it was not possible to separate all compounds in the mixture. The best separation was achieved in 20 mM PFOA with the addition of 10 % MeOH, in this case fourteen peaks from nineteen compounds were separated.

KEYWORDS

Perfluorinated carboxylic acids, antioxidants, micellar electrokinetic chromatography

OBSAH

ÚVOD	12
1 TEORETICKÁ ČÁST	13
1.1 KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA	13
1.1.1 Elektroforetická mobilita.....	13
1.1.2 Elektroosmotický tok	14
1.1.3 Možnosti detekce v kapilární elektroforéze	15
1.2 KAPILÁRNÍ ZÓNOVÁ ELEKTROFORÉZA	16
1.3 MICELÁRNÍ ELEKTROKINETICKÁ CHROMATOGRFIE	17
1.4 HĚMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE	18
1.4.1 Spojení MEKC s MS.....	19
1.5 PERFLUOROVANÉ KARBOXYLOVÉ KYSELINY	21
1.5.1 Charakteristika perfluorovaných karboxylových kyselin.....	21
1.5.2 Výroba.....	22
1.5.3 Perfluorooktanová kyselina.....	22
1.5.4 Perfluoroheptanová kyselina	23
1.6 ANTIOXIDANTY	23
1.6.1 Mechanismus působení antioxidantů	24
1.6.2 Nemoci způsobené nedostatkem antioxidantů	24
1.6.3 Analýzy antioxidantů pomocí MEKC	25
2 PRAKTICKÁ ČÁST	27
2.1 SEZNAM CHEMIKÁLIÍ	27
2.2 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	31
2.3 PRACOVNÍ POSTUP	31
2.3.1 Křemenná kapilára	31
2.3.2 Příprava elektrolytu	32
2.3.3 Příprava standardů a vzorku	32
2.3.4 Podmínky měření	32
3 VÝSLEDKY A DISKUZE	33
3.1 ELEKTROOSMOTICKÝ TOK A POHYBLIVOST MICEL	33
3.1.1 Elektroosmotický tok	33
3.1.2 Pohyblivost micel.....	34
3.2 PERFLUOROHEPTANOVÁ KYSELINA	35

3.2.1	Fenolické kyseliny.....	35
3.2.2	Směs fenolických kyselin.....	36
3.2.3	Flavony.....	38
3.2.4	Směs flavonů.....	39
3.2.5	Celková směs fenolických kyselin a flavonů	41
3.3	PERFLUOROOKTANOVÁ KYSELINA	43
3.3.1	Fenolické kyseliny.....	43
3.3.2	Směs fenolických kyselin.....	43
3.3.3	Flavony.....	46
3.3.4	Směs flavonů.....	46
3.3.5	Celková směs fenolických kyselin a flavonů	49
4	ZÁVĚR	51
5	POUŽITÁ LITERATURA.....	52
	PŘÍLOHA 1.....	56
	PŘÍLOHA 2.....	69
	PŘÍLOHA 3.....	88

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Charakteristika vybraných PFCA.....	21
Tabulka 2: Reaktivní kyslíkové formy.....	23
Tabulka 3: Příklady separací antioxidantů.....	26
Tabulka 4: Migrační časy pro thiomocovinu v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % ACN a 10 % MeOH (průměrná hodnota ze tří měření).....	33
Tabulka 5: Migrační časy pro thiomocovinu v elektrolytu PFOA s přídavkem 10 % ACN a 10 % MeOH (průměrná hodnota ze tří měření).....	34
Tabulka 6: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA.....	36
Tabulka 7: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s příměsí 10 % ACN.....	37
Tabulka 8: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % MeOH.....	38
Tabulka 9: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA.....	39
Tabulka 10: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % ACN.....	40
Tabulka 11: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % MeOH.....	40
Tabulka 12: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět kyselin v elektrolytu PFOA.....	44
Tabulka 13: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět kyselin v elektrolytu PFOA s přídavkem 10 % ACN.....	45
Tabulka 14: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět flavonů v elektrolytu PFOA s přídavkem 10 % MeOH.....	45
Tabulka 15: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA.....	47
Tabulka 16: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA s přídavkem 10 % ACN.....	48
Tabulka 17: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA s přídavkem 10 % MeOH.....	48

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Elektroosmotický tok v kapiláře.....	14
Obrázek 2: Schéma přístroje pro CZE.....	16
Obrázek 3: Dělení látek do zón v CZE.....	17
Obrázek 4: Micely.....	17
Obrázek 5: Tok analytu kapilárou v MEKC.....	18
Obrázek 6: Schéma hmotnostního spektrometru.....	18
Obrázek 7: Schéma CE-ESI-MS.....	20
Obrázek 8: Obecný strukturální vzorec PFCA.....	21
Obrázek 9: Vliv koncentrace boraxu na separaci.....	25
Obrázek 10: Vliv pH na separaci.....	25
Obrázek 11: Vliv ACN na separaci.....	26

Obrázek 12: Elektroforéza Agilent CE 7100.....	31
Obrázek 13: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpA s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	41
Obrázek 14: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpAs přidavkem 10 % ACN s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	42
Obrázek 15: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpAs přidavkem 10 % MeOH s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	42
Obrázek 16: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	49
Obrázek 17: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s přidavkem 10 % ACN s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	50
Obrázek 18: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s přidavkem 10 % MeOH s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.....	50

SEZNAM ROVNIC

Rovnice 1: Hnací síla.....	13
Rovnice 2: Třecí síla.....	13
Rovnice 3: Ustálený stav hnací a třecí síly.....	13
Rovnice 4: Rychlost pohybu částice v el. poli.....	14
Rovnice 5: Elektroforetická pohyblivost.....	14
Rovnice 6: Rychlost EOF.....	15
Rovnice 7: Pohyblivost EOF.....	15
Rovnice 8: Výroba PFOA.....	22
Rovnice 9: Mechanismus působení antioxidantů.....	24
Rovnice 10: Výpočet zdánlivé pohyblivosti.....	33

SEZNAM ZKRATEK

ACN	Acetonitril
APCI	Chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	Fotoionizace za atmosférického tlaku
BGE	Základní elektrolyt
CE	Kapilární elektroforéza
CI	Chemická ionizace
CMC	Kritická micelární koncentrace
CZE	Kapilární zónová elektroforéza
ECF	Elektrochemické fluorování
EI	Elektronová ionizace
EOF	Elektroosmotický tok
EPA	Organizace pro ochranu životního prostředí
ESI	Ionizace elektrosprejem
FT-ICR	Iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném plazmatu
MALDI	Desorpce a ionizace laserem za účasti matrice
MEKC	Micelární elektrokinetická chromatografie
MS	Hmotnostní spektrometrie
PFCA	Perfluorované karboxylové kyseliny
PFHpA	Perfluoroheptanová kyselina
PFOA	Perfluorooktanová kyselina
SDS	Dodecylsírán sodný
TOF	Analyzátor doby letu
UV-VIS	Spektrometrická detekce v ultrafialové a viditelné oblasti

ÚVOD

Antioxidanty jsou přírodní látky, které se vyskytují v potravě. Mají příznivý vliv na lidské zdraví, jelikož zabráňují nežádoucím oxidacím a tím tvorbě volných radikálů v organismu. Oxidace probíhají v těle díky látkám, které se nám dostávají každodenně do organismu např. znečištěný vzduch, voda nebo karcinogenní látky. Cílem této práce je najít vhodné podmínky pro micelární elektrokinetickou chromatografickou separaci antioxidantů, které by bylo možné aplikovat pro spojení s hmotnostní spektrometrií. Z toho důvodu bylo testováno separační prostředí na bázi těkavých látek a byly testovány dvě perfluorované kyseliny. Perfluorované karboxylové kyseliny patří do skupiny organických polutantů, které vznikají antropogenní činností člověka.

Tato diplomová práce navazuje na práci z roku 2017, která se zabývala stanovením kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin [1]. Z různých antioxidantů bylo vybráno pět skupin, ve kterých je dohromady dvacet zástupců těchto látek. Pro separaci byla náhodně namíchána směs standardů z flavonů a kyselin, pro kterou jsem se snažila zjistit nejvhodnější podmínky separace (změny koncentrace kyseliny, přidání organických látek) tak, aby došlo k rozseparování co možná nejvyššího počtu antioxidantů ve směsi.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Kapilární elektroforéza

Pod pojmem elektroforéza rozumíme soubor separačních metod, které k dělení látek využívají rozdílnou mobilitu částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Elektrické pole se vytváří vložením konstantního stejnosměrného napětí mezi elektrody.

Kapilární elektroforéza (CE) se řadí mezi elektromigrační separační techniky. Tyto techniky umožňují separaci látek, které nesou náboj. K separaci látek dochází nejčastěji uvnitř křemenné kapiláry potažené polyimidem na základě rozdílné pohyblivosti ve stejnosměrném elektrickém poli. Kapilára je naplněna základním elektrolytem (BGE) – většinou pufrem – a po nadávkování vzorku se kationty pohybují k záporné elektrodě (katodě) a anionty ke kladné elektrodě (anodě), přičemž neutrální částice se samy o sobě nepohybují k žádné z elektrod, ale jsou unášeny kapilárou rychlostí elektroosmotického toku. V CE se objevují dva transportní jevy, a to elektroforetická mobilita (pohyblivost) a elektroosmotický tok [2,3].

Hlavní výhodou kapilárních separačních technik je malá spotřeba činidel a vzorku, dále pak krátká doba separace a vysoká účinnost [2,3].

1.1.1 Elektroforetická mobilita

V kapiláře na každou nabitou částici o určitém náboji Q v elektrickém poli o intenzitě E působí dvě síly, a to elektrická hnací síla (pohyb vpřed) a odpor prostředí (brzdící síla). Hnací síla (F_E) v rovnici (1) je úměrná celkovému náboji Q a intenzitě elektrického pole E , zatímco třecí brzdící síla (F_F) v rovnici (2) je přímo úměrná poloměru částice r a její rychlosti v [3]:

$$F_E = QE \quad (1)$$

$$F_F = 6\pi\eta rv \quad (2)$$

kde η je dynamická viskozita separačního prostředí.

Jsou-li tyto dvě opačné síly v ustáleném stavu, pak pro velikost obou sil platí, že $F_E = F_F$ a z toho vyplývá:

$$QE = 6\pi\eta rv \quad (3)$$

Úpravou rovnice (3) získáme vztah pro výpočet rychlosti pohybu částice v elektrickém poli (rovnice (4)) a z té lze dopočítat efektivní elektroforetickou pohyblivost daného iontu μ_{eff} dle rovnice (5):

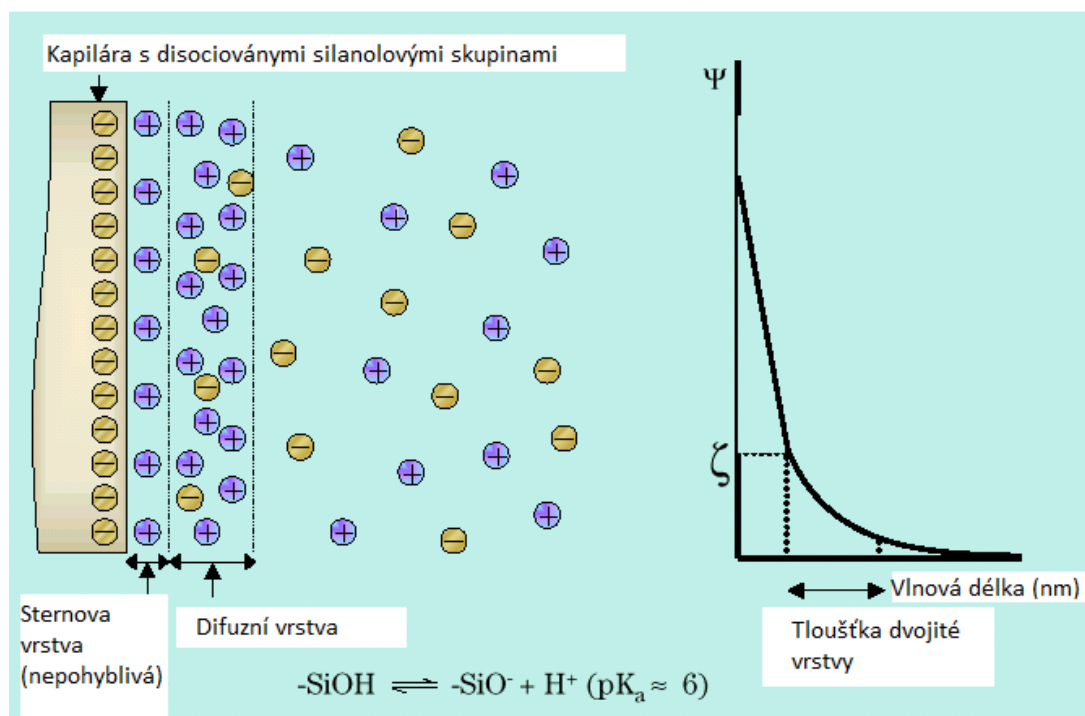
$$v = \frac{Q}{6\pi\eta r} E \quad (4)$$

$$\mu_{eff} = \frac{Q}{6\pi\eta r} \quad (5)$$

Elektroforetická mobilita je pro vybraný iont a daný pufr při dané teplotě konstantou [3].

1.1.2 Elektroosmotický tok

Elektroosmotický tok (EOF) vzniká ionizací silanolových skupin (-SiOH) na vnitřní straně křemenné kapiláry. Vnitřní stěna kapiláry získává záporný náboj (v závislosti na pH prostředí) a díky elektrostatickému působení se ionty v kapiláře orientují tak, aby se k sobě co nejvíce přiblížily částice s opačným nábojem. Díky tomu vzniká útvar, který se nazývá elektrická dvojvrstva. Na obr. 1 je znázorněná tvorba nepohyblivé Sternovy a pohyblivé difuzní vrstvy. Po vložení vnějšího napětí se ionty v difuzní vrstvě začnou pohybovat k záporně nabitě elektrodě, zatímco ionty ve Sternově vrstvě jsou pevně vázány na povrchu kapiláry. Rozdíl potenciálů mezi vnitřní a vnější hranicí difuzní vrstvy se nazývá zeta potenciál (ζ). V kapiláře se díky působení stejnosměrného pole uvádí do pohybu nejen difuzní vrstva, ale díky vnitřnímu tření i veškerý roztok v kapiláře. EOF nese všechny ionty stejnou rychlostí, avšak spolu se samotnou migrační rychlostí látek ovlivňuje i dobu analýzy a účinnost separace [3-6].



Obrázek 1: Elektroosmotický tok v kapiláře [7].

EOF závisí na pH základního elektrolytu, díky vyšším hodnotám pH dochází k disociaci silanolových skupin. Při $\text{pH} > 9$ je disociace největší, a proto je v takovém případě elektroosmotický tok nejsilnější. Rychlost EOF lze spočítat dle rovnice (6) a pohyblivost EOF dle rovnice (7). Při separaci má EOF vliv na migrační časy analyzovaných látek. Kapilára má na povrchu záporný náboj a tento záporný náboj přitahuje kationty které putují ke katodě. Pokud je mobilita EOF větší než mobilita aniontů, lze zároveň stanovit kationty i anionty [3].

$$v_{EOF} = \frac{l_d}{t_M} = \mu E_{EOF} = \mu_{EOF} \frac{U}{l_t} \quad (6)$$

$$\mu_{EOF} = \frac{\varepsilon \zeta}{4\pi\eta r} \quad (7)$$

kde l_d je délka kapiláry k detektoru, l_t je celková délka kapiláry, U je napětí a t_M je migrační čas látky.

1.1.3 Možnosti detekce v kapilární elektroforéze

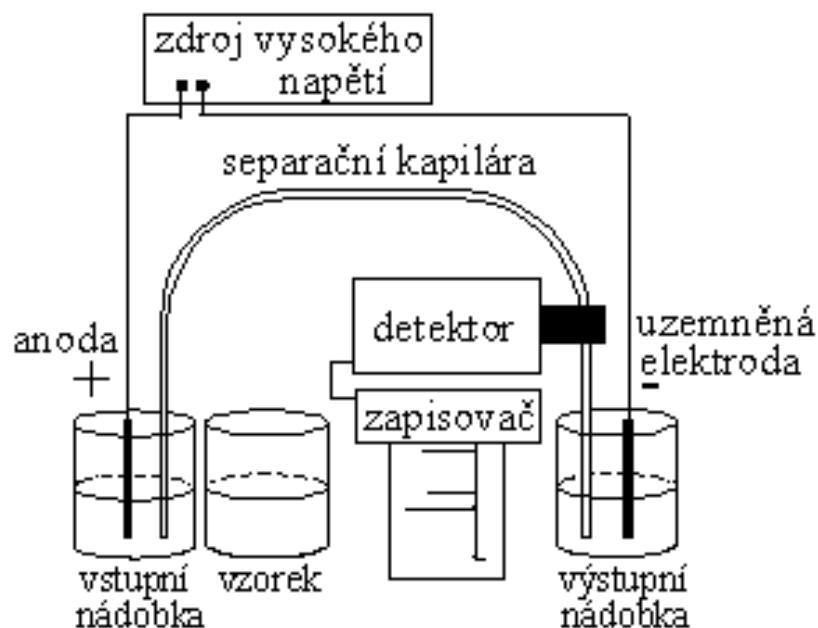
V kapilární elektroforéze lze využít velké množství detekčních technik, které lze na základě pozorovaných jevů rozdělit do tří skupin. V první skupině jsou detektory, které využívají elektrochemické detekce a lze je rozdělit do tří kategorií – potenciometrické, vodivostní a amperometrické. Druhou skupinu reprezentují detektory, které využívají měření spekter, např. Ramanova a hmotnostní spektrometrie, fluorescence a nejvíce využívaná UV-VIS detekce. V poslední skupině jsou další optické techniky, např. měření rozptylu světla [8,9].

Detekce může probíhat buď on-line nebo off-line. On-line detekce využívá přímého spojení detektoru s CE. V případě on-line spojení CE s UV-VIS můžeme využít přímou nebo nepřímou detekci. Přímá detekce se používá pro analyty, které absorbují záření v UV-VIS oblasti, je volen BGE s nízkou nebo žádnou absorbancí v dané oblasti, a díky rozdílu v absorbanci analytu oproti základnímu elektrolytu se generují pozitivní píky. Nepřímá UV-VIS detekce se využívá pro stanovení látek neabsorbujících v dané oblasti, používají se elektrolyty s vysokou absorbancí a na záznamu z detektoru pozorujeme negativní píky, které odpovídají zóně vzorku. Off-line spojení umožňuje oddělení separace a následné detekce v čase. Výhodou je, že detekce může být prováděna na odlišném místě než separace [8-10].

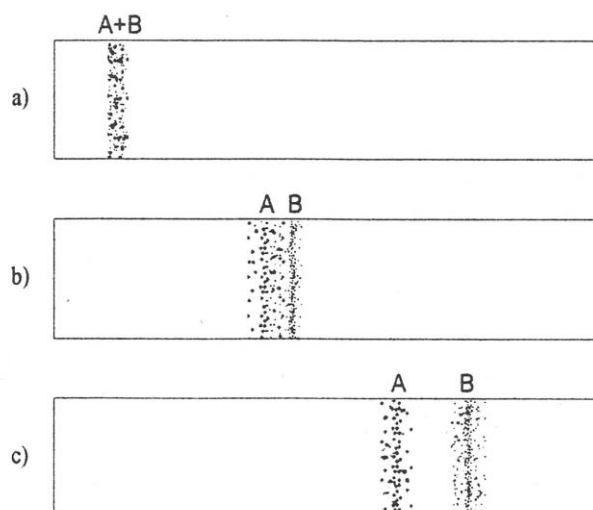
1.2 Kapilární zónová elektroforéza

Kapilární zónová elektroforéza (CZE) se využívá pro dělení a stanovení iontů, které se liší tvarem (velikostí), nábojem nebo molekulovou hmotností, naopak není vhodná pro látky bez náboje. Vzorek se pohybuje kapilárou v prostředí základního elektrolytu, který vede elektrický proud. Složení tohoto elektrolytu je konstantní v celé kapiláře a s časem se nemění, díky této vlastnosti vede konstantní proud. Pro účinnou separaci je nutné, aby efektivní mobility a tím i migrační rychlosti látek byly různé. Těchto podmínek lze docílit vhodnou volbou složení základního elektrolytu [3,8].

Schéma přístroje pro kapilární zónovou elektroforézu je uvedeno na obr. 2. Během separace je kapilára z taveného křemene naplněna základním elektrolytem. Do naplněné kapiláry se dávkuje vzorek a po vložení napětí začne kapilárou protékat elektrický proud. Při průtoku proudu dochází k tomu, že jednotlivé látky, které jsou ve vzorku obsaženy, se začnou pohybovat různými rychlostmi v závislosti na jejich náboji a velikosti a tím dochází k jejich rozdělení do zón, viz obr. 3. Vzorek je detekován většinou pomocí UV-VIS detektoru, v posledních letech se využívá i spojení s hmotnostním detektorem. Vzniklý elektroforegram (záznam z detektoru) poskytuje přesné informace o kvalitativním a kvantitativním složení vzorku [3,11].



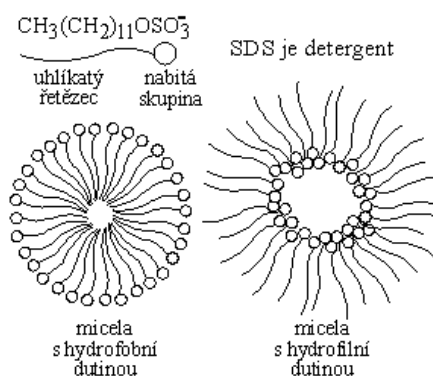
Obrázek 2: Schéma přístroje pro CZE [12].



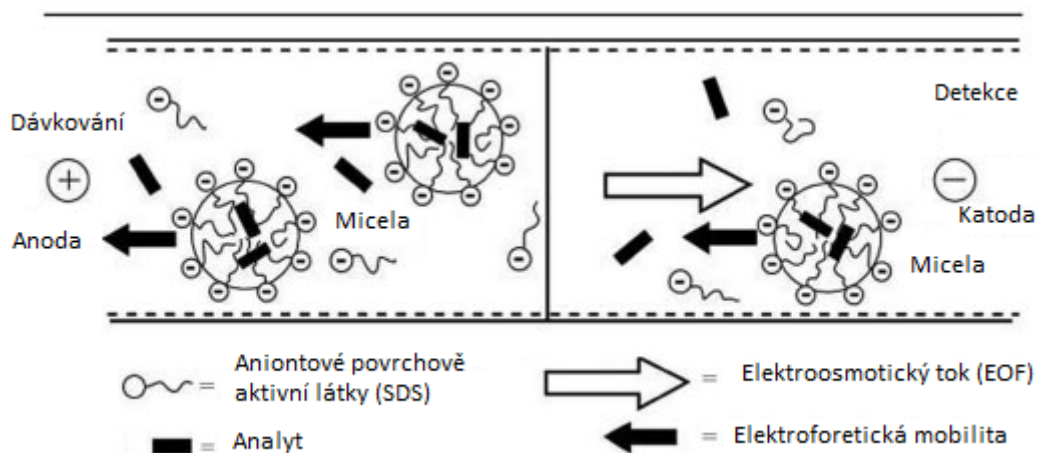
Obrázek 3: Dělení látek do zón v CZE [11].

1.3 Micelární elektrokinetická chromatografie

Micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC) je elektromigrační metoda, která kombinuje princip elektroforézy a chromatografie. Tato metoda byla vyvinuta zejména pro analýzu neutrálních molekul [13]. Neutrální analyty interagují s micelami a na základě jejich rozdílného rozdělovacího koeficientu mezi micelami a vodnou fází dochází k jejich separaci. Micely (obr. 4) vznikají v roztoku elektrolytu přidáním vhodné povrchově aktivní látky (tenzidu) o koncentraci vyšší, než je jejich kritická micelární koncentrace (CMC). Jako povrchově aktivní látka se v MEKC nejčastěji používá aniontový tenzid dodecylsíran sodný (SDS), jehož micely mají záporný povrchový náboj, a proto putují směrem k anodě rychlostí v_{mic} . Navzdory tomu, že aniontové micely SDS migrují kapilárou směrem ke kladné elektrodě (anodě), díky EOF, který způsobuje pohyb veškeré kapaliny v kapiláře směrem ke katodě, dochází za předpokladu $v_{EOF} > v_{mic}$ k výslednému pohybu micel směrem k detektoru (katodě), viz obr. 5 [3,14,15].



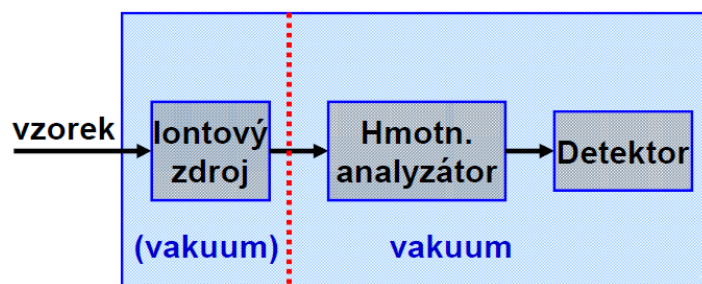
Obrázek 4: Micely [16].



Obrázek 5: Tok analytu kapilárou v MEKC [17].

1.4 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) se řadí mezi spektrální analytické techniky, tato technika vyniká především svou citlivostí a množstvím informací, které lze získat o struktuře látek. Vzorek je umístěn do iontového zdroje, kde dochází k převedení neutrálních molekul na ionty (ionizace). Poté ionty vstupují do hmotnostního analyzátoru, kde se za vysokého vakua rozdělí podle poměru m/z (hmotnost/náboj) a v posledním kroku ionty vstupují do detektoru. V detektoru dochází k zaznamenání iontů a určení četnosti jejich výskytu. Celé schéma je znázorněno na obr. 6 [18-20].



Obrázek 6: Schéma hmotnostního spektrometru [18].

Ionizační techniky se dělí na tvrdé a měkké a mohou probíhat za sníženého tlaku nebo za atmosférického tlaku. Mezi tvrdé ionizační techniky se řadí elektronová ionizace (EI), při které ionty získají nadbytek energie a dochází k vysoké fragmentaci. Měkké ionizační techniky (např. chemická ionizace, CI) jsou šetrnější, molekula dostává menší množství energie, a proto k fragmentaci dochází minimálně. Za sníženého tlaku probíhá ionizace CI, EI

nebo desorpce a ionizace laserem za účasti matrice (MALDI). Za atmosférického tlaku probíhá ionizace elektrosprejem (ESI), chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) a fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI) [18,20]. Dalším příkladem ionizace za atmosférického tlaku je hmotnostní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném plazmatu (ICP-MS). V tomto případě dochází k ionizaci analytu díky indukčně vázanému plazmatu a vzniklé ionty jsou vedeny přes interface do analyzátoru [19].

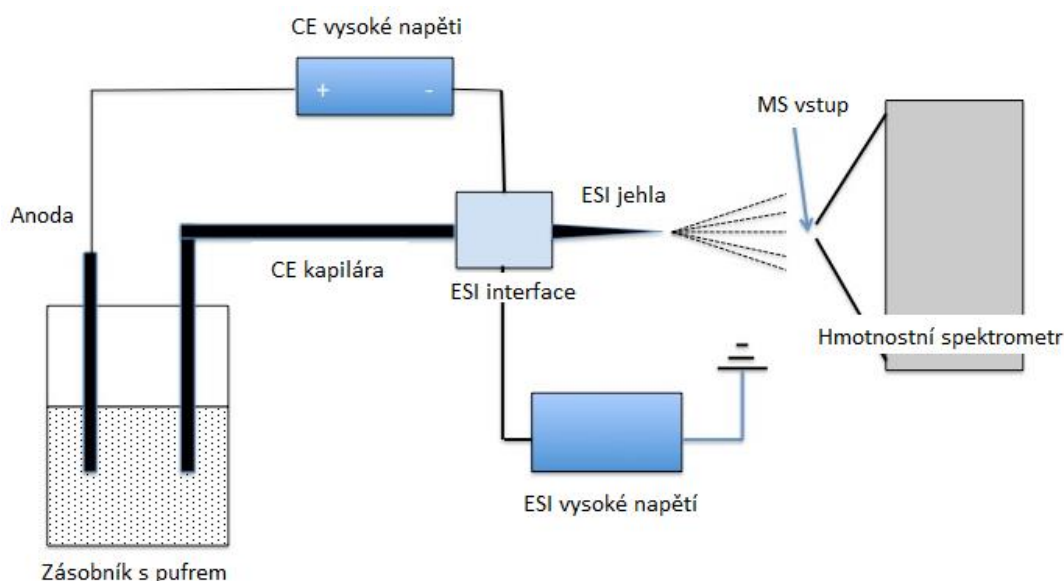
Mezi hmotnostní analyzátoři, které se používají nejčastěji, patří např. kvadrupolový analyzátor, analyzátor doby letu (TOF), 3D iontová past, Orbitrap nebo iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací (FT-ICR). Poslední zmíněný hmotnostní analyzátor vyniká vysokým rozlišením, vysokou přesností určení hmoty, nevýhodou jsou ovšem vysoké pořizovací náklady [18,20].

1.4.1 Spojení MEKC s MS

Spojení MEKC s MS se používá hlavně kvůli identifikaci látek. Při spojení CE s UV-VIS detektorem dochází k detekci přímo v kapiláře, ale při spojení CE-MS je detektor umístěn až za kapilárou (post-column), proto je nutné najít vhodné rozhraní, které zajistí spojení mezi CE a hmotnostním spektrometrem. Používá se spojení bez přídavné kapaliny (sheathless), s přídavnou kapalinou (sheath-flow) a kapalinový spoj (liquid-junction interface) [21].

V literatuře je popsáno např. off-line spojení MEKC-MALDI-MS na které má negativní vliv vysoká koncentrace SDS. Vysoká koncentrace SDS se může promítnout do hmotnostního spektra [22]. Výhodné je spojení MEKC-APCI-MS, v tomto případě mohou být použity konvenční podmínky MEKC bez dalších úprav (SDS, puffry) a mohou být ionizovány i látky méně polární. Nejvíce využívaným iontovým zdrojem při spojení MEKC s MS je ESI (obr. 7). Při tomto spojení separační kapilára, ve které dochází k separaci kationtů a aniontů, ústí do iontového zdroje. Ke vzniku elektrospreje dochází po překonání povrchového napětí kapky. Kapky na počátku jsou velké ale díky působení sušícího plynu jsou zmenšovány. Čím jsou kapky zmenšovány, tím víc roste povrchový náboj, až do doby, než je dosaženo kritické hodnoty a dochází k tzv. Coulombické explozi (rozpad na malé kapky, ideálně ionty). Toto spojení je obtížné kvůli používaným roztokům, protože povrchově aktivní látky a vyšší koncentrace BGE, které se v CE používají, snižují účinnost ionizace a tím citlivost separace. Vyšší koncentrace BGE mohou také zanášet iontový zdroj. I přes veškeré komplikace je toto spojení často využíváno, a to díky tomu, že ESI vytváří vícenásobně nabitě ionty, což je dobré

pro ionizaci látek s molekulovou hmotností v řádech 100 tis. (např. biomakromolekuly) [21-23]. Problémy, které nastávají při spojení MEKC s ESI ionizací, lze odstranit technikou částečného plnění [24]. Kapilára je naplněna elektrolytem, který obsahuje netěkavou látku – pufr – jen do určité části, zbytek kapiláry je naplněn elektrolytem bez netěkavé látky a do iontového zdroje vstupuje pouze elektrolyt bez netěkavé složky [25,26].



Obrázek 7: Schéma CE-ESI-MS [27].

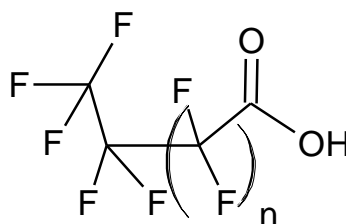
Příkladem dalšího spojení je MEKC-ICP-MS. Tato metoda se nejvíc používá pro charakterizaci a separaci nanočástic [28].

Dalším způsobem realizace spojení je použití těkavých pufrů. Pro spojení MEKC-MS lze použít pufr vytvořený z perfluorovaných karboxylových kyselin a amoniaku, tento pufr poskytuje vynikající výsledky. Perfluorooktanová kyselina (PFOA) je dostatečně těkáva a umožňuje dlouhodobé používání (bylo zaznamenáno 30 hod. nepřetržitého provozu) bez známek snížení citlivosti. Po použití se PFOA snadno odstraní z iontového zdroje a nezůstávají paměťové stopy [29].

1.5 Perfluorované karboxylové kyseliny

1.5.1 Charakteristika perfluorovaných karboxylových kyselin

Perfluorované karboxylové kyseliny (PFCA) jsou perzistentní organické látky, které znečišťují životní prostředí a představují riziko pro lidské zdraví. Tyto látky jsou vytvořeny člověkem, vznikají většinou jako meziprodukty při výrobě fluorovaných látek, např. teflonu. Vazba mezi uhlíkem a fluorem je považována za nejsilnější kovalentní vazbu s vysokou energií kolem 117 kcal/mol, díky tomu jsou PFCA rezistentní vůči tepelné, chemické, hydrolytické nebo biologické degradaci. Cytotoxicita u perfluorovaných karboxylových kyselin vzrůstá s délkou alkylového řetězce kyseliny. Díky hydrofobnímu charakteru a stabilitě se používají jako povrchově aktivní látky – lepidla, mazadla atd. [30-32]. Obecný vzorec PFCA je $C_nF_{(2n+1)}CO_2H$, který je strukturně znázorněn na obr. 8. Kyseliny s víceuhlíkatým řetězcem se shlukují do micel po překročení CMC. Vybrané PFCA a jejich CMC jsou uvedeny v tab. 1.



Obrázek 8: Obecný strukturní vzorec PFCA.

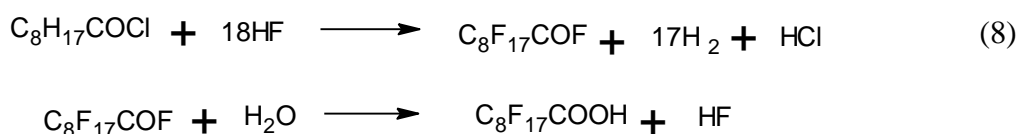
Kritická micelární koncentrace PFCA uvedena v tabulce 1 byla stanovena metodou proudu [33]. Hodnota CMC v BGE v tabulce odpovídá měření v 50 mM octanu amonném při pH 9 [1].

Tabulka 1: Charakteristika vybraných PFCA.

Sloučenina	Zkratka	Mr (g/mol)	CMC (mM)
			v H ₂ O / v BGE
$CF_3(CF_2)_6COOH$	PFOA	414,06	$5,54 \pm 0,88$ / $3,58 \pm 0,57$
$CF_3(CF_2)_5COOH$	PFH _p A	364,06	$30,03 \pm 3,20$ / $21,76 \pm 0,01$

1.5.2 Výroba

Pro výrobu PFCA existují dva komerční výrobní procesy, a to elektrochemické fluorování (ECF) a telomerace. Při výrobě ECF procesem organická látka disperguje v bezvodé formě fluorovodíku [34]. Tato reakce probíhá pod určitým napětím a vzniklý elektrický proud má za následek, že atomy vodíku v alkylovém řetězci jsou nahrazeny atomy fluoru. Při této reakci může dojít ke štěpení alkylového řetězce a tím mohou vznikat nečistoty v produktu. Příklad výroby PFOA viz rovnice 8 [35].



Druhým způsobem výroby je telomerace. Při tomto postupu výroby vznikají produkty téměř bez nečistot, ale řetězec není plně perfluorován [35].

1.5.3 Perfluorooktanová kyselina

Perfluorooktanová kyselina (PFOA) je důležitou surovinou používanou v mnoha průmyslových výrobcích (povrchová činidla, kovové povlaky atd.). PFOA se v životním prostředí nevyskytuje přirozeně, přesto je přítomna v séru většiny obyvatel průmyslových zón (medián v USA je 4 ng/l), proto je v dnešní době tato kyselina sledována, a to z důvodu velké distribuce a detekce v životním prostředí. Její stopy byly nalezeny ve vzduchu, ve vodě, v sedimentech i v živočiších. Velkým problémem je, že PFOA je perzistentní a dochází k její biologické akumulaci s dlouhým poločasem rozpadu (cca 4,4 let). Studie u lidí není známa, nicméně studie na potkanech naznačuje, že se kyselina vyskytuje převážně v ledvinách, játrech a krvi [36-39].

PFOA je velmi stabilní, nerozkládá se díky silné vazbě mezi uhlíkem a fluorem a vysokému oxidačnímu potenciálu. Tuto kyselinu nelze odstranit běžnými postupy čištění vod jako jsou biodegradace, oxidace ozonem atd. V roce 2005 americká organizace EPA (agentura pro ochranu životního prostředí) došla k závěru, že PFOA je pro člověka potencionální karcinogen. Pro ochranu lidského zdraví je nutné PFOA odstranit jak z vody, tak z životního prostředí [36,37].

1.5.4 Perfluoroheptanová kyselina

Perfluoroheptanová kyselina (PFHpA) se využívá v procesech, které se zabývají výrobou pesticidů, elektroniky, nátěrových hmot a lepidel. Toto rozsáhlé použití PFHpA vede k rozšíření této látky do životního prostředí a lze ji detekovat ve vodě, v sedimentech, ve vzduchu i v lidském organismu, což je velký problém, protože kyselina nedegraduje přirozenými biotransformačními procesy. PFHpA vykazuje dlouhý poločas rozpadu u savců, u lidí se tato doba odhaduje v rozmezí 70 dní až 1,5 roku. Studie ukázaly, že PFHpA je silný vývojový teratogen. Ovlivňuje především mortalitu a tempo růstu embryí, způsobuje také těžké vývojové srdeční a jaterní vady [31].

1.6 Antioxidanty

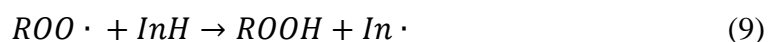
Antioxidanty jsou přírodní i syntetické látky, které snižují aktivitu kyslíkových radikálů, což znamená že inhibují tvorbu volných radikálů nebo přeruší šíření volného radikálu jedním či více mechanismy. Existují takové druhy antioxidantů, které iniciují peroxidaci, chelatují ionty kovů tak, aby nemohly vytvářet reaktivní sloučeniny. Dále jsou známy antioxidanty, které dokáží přerušit řetězové reakce. Efektivita antioxidantů souvisí s aktivační energií, jednoduchostí, s jakou může být antioxidant zničen (např. citlivost na teplo), oxidačně-redukčním potenciálem nebo rozpustností [40]. V tabulce 2 jsou popsány některé reaktivní kyslíkové formy [41].

Tabulka 2: Reaktivní kyslíkové formy [41].

Reaktivní kyslíkové formy	
Kyslíkaté molekuly	Volné radikály
H ₂ O ₂ (peroxid vodíku)	O ₂ ⁻ (superoxid)
HOCl (kyselina chlorná)	HO· (hydroxylový radikál)
O ₃ (ozón)	ROO· (peroxylový radikál)
O ₂ (kyslík)	

1.6.1 Mechanismus působení antioxidantů

Pokud se u antioxidantů zvyšuje disociace vazby a aktivační energie, dochází ke snížení jeho účinnosti. Naopak pokud se vazebná energie snižuje, zvyšuje se tím účinnost antioxidantu. V rovnici 9 je naznačen mechanismus působení antioxidantů. Antioxidant poskytne elektron kyslíkovému radikálu, tím ochrání buňky před odebráním elektronu, ale antioxidant sám má nyní elektronový deficit, a proto naváže elektron z jiného radikálu a tím ho neutralizuje [40,42]:



kde InH je antioxidant a $ROO \cdot$ je kyslíkový radikál.

Mezi nejúčinnější antioxidanty patří především ty, které obsahují fenolické nebo aromatické jádro. Tyto antioxidanty poskytují vodík volným radikálům během oxidace a sami se stávají volnými radikály. K jejich stabilizaci dochází pomocí resonanční delokalizace elektronu uvnitř aromatického jádra a dochází k tvorbě chinoidních struktur [40].

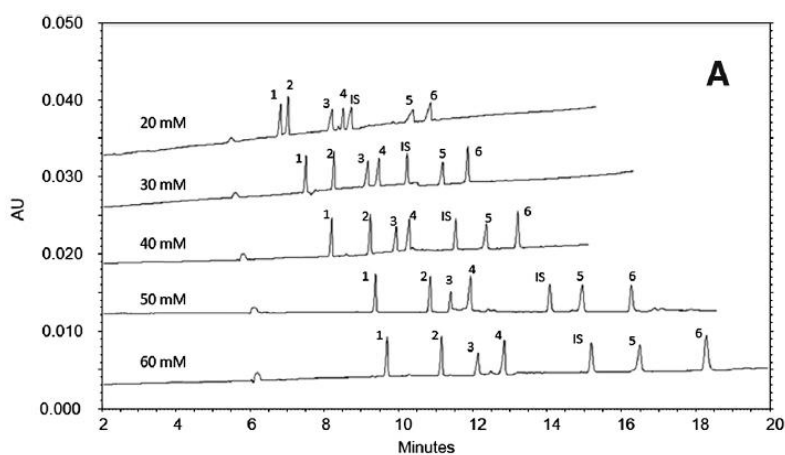
1.6.2 Nemoci způsobené nedostatkem antioxidantů

Nedostatek antioxidantů v těle může podporovat vznik a vývoj chorobných změn v organismu. Při nedostatku antioxidantů vznikají reaktivní formy kyslíku, které hrají podstatnou roli při vzniku vážných a dobře známých onemocnění jako jsou hypertenze, chronické střevní záněty, ateroskleróza, některé typy rakoviny, diabetes mellitus, Parkinsonova choroba atd. [43].

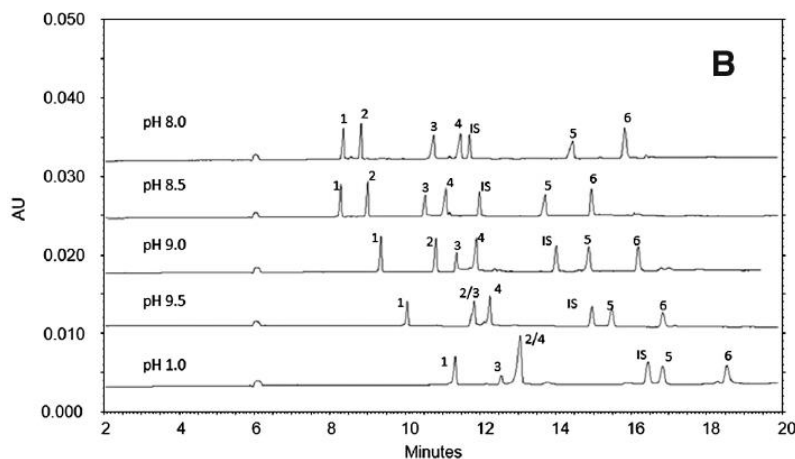
Pro separace v této práci bylo vybráno sedm skupin antioxidantů – fenolické kyseliny – které jsou deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové, flavanoly, flavony, flavonoly, flavanony a kumariny. Zastoupení jednotlivých látek v těchto skupinách a jejich vzorce jsou uvedeny v seznamu použitých chemikálií viz str. 27-30.

1.6.3 Analýzy antioxidantů pomocí MEKC

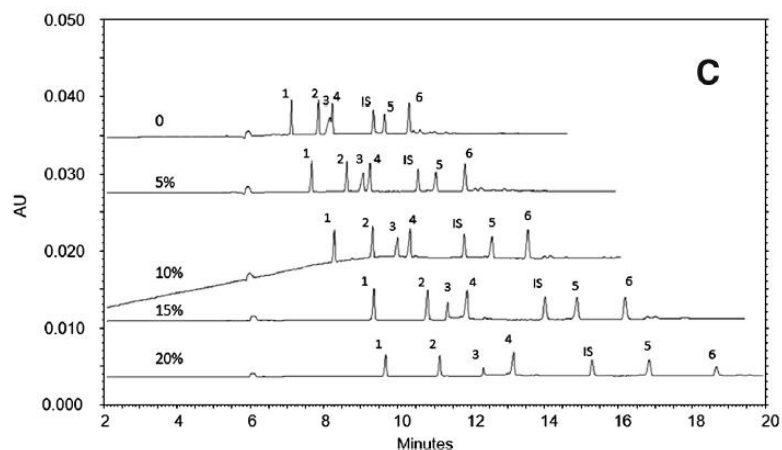
V tomto odstavci budou popsány vybrané možnosti elektroforetické separace antioxidantů, které jsou ovšem díky netěkavým elektrolytům nevhodné pro spojení s MS. V prvním článku byl pro separaci antioxidantů jako nejlepší vyhodnocen 50 mM borax o pH 9 a s 15 % obsahem ACN. Pro separaci byla zvolena teplota 25 °C a napětí 25 kV. Antioxidanty byly detekovány při 280 nm. Při optimalizaci byl zkoumán vliv změny koncentrace, pH a obsahu ACN na účinnost separace viz obr 9,10 a 11 [44]. Uvedená směs látek reprezentuje jak fenolické kyseliny, tak i flavonoidy. Na základě publikovaných výsledků je zřejmé, že dosažené rozlišení roste s koncentrací pufru a acetonitrilu ale zároveň se prodlužuje analýza.



Obrázek 9: Vliv koncentrace boraxu na separaci [44].



Obrázek 10: Vliv pH na separaci [44].



Obrázek 11: Vliv ACN na separaci [44].

V dalším článku byly použity různé druhy pufrů, pH a různé přísady organických látek. Detekce probíhala při různých vlnových délkách v závislosti na skupině antioxidantů. Příklady BGE pro separace jsou uvedeny v tabulce 3 [45]. Také tyto separační podmínky nejsou vhodné pro kombinaci s MS.

Tabulka 3: Příklady separací antioxidantů [45].

Analyt	BGE	Detekce
kávová kyselina, ferulová kyselina, rutin	50 mM borát (pH 9,2)	UV 262 nm
katechin, epikatechin, p-kumarová kyselina, vanilová kyselina	150 mM kyselina boritá (pH 8,5) 50 mM SDS 5 % MeOH	UV 280 nm
naringin, hesperidin	20 mM tetraborát (pH 7) 5 mg/ml SBE- β -CD 10 % MeOH	UV 205 nm

2 PRAKTICKÁ ČÁST

2.1 Seznam chemikálií

Methanol (99,9 %)	Sigma-Aldrich, USA
Acetonitril (99,9 %)	Fluka, Německo
Aceton	Lach:ner, ČR
Thiomočovina	Lachema, ČR, Brno
Acetofenon (98 %)	Fluka, Brazílie
Benzofenon (99 %)	Sigma-Aldrich, Německo
Acenaften (99 %)	Sigma-Aldrich, USA
Pyridin	Lach:ner, ČR
N,N-dimethylformamid (99,8 %)	Sigma-Aldrich, Německo

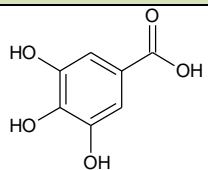
ELEKTROLYT:

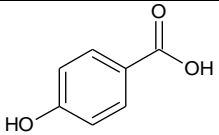
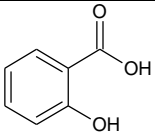
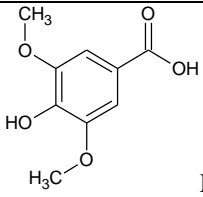
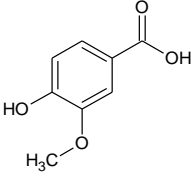
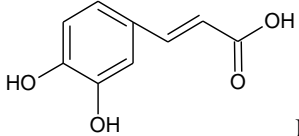
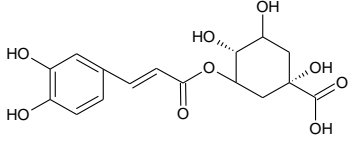
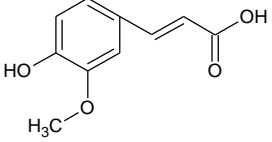
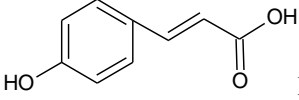
Amoniak, vodný roztok (25 %)	Lach:ner, ČR
------------------------------	--------------

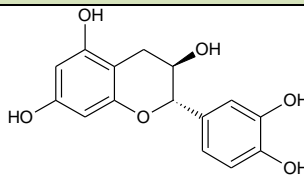
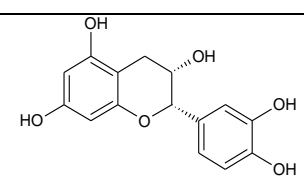
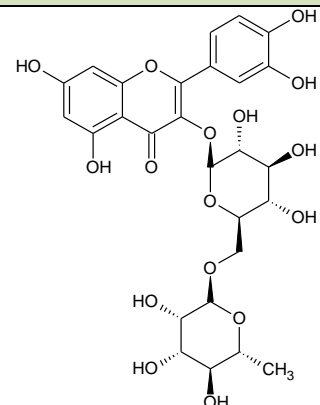
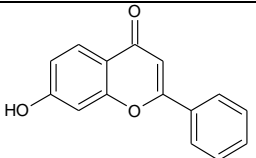
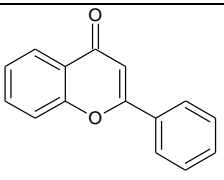
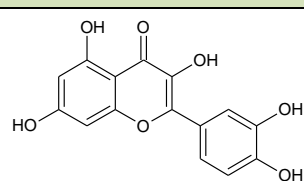
PERFLUOROVANÉ KYSELINY:

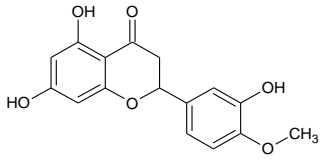
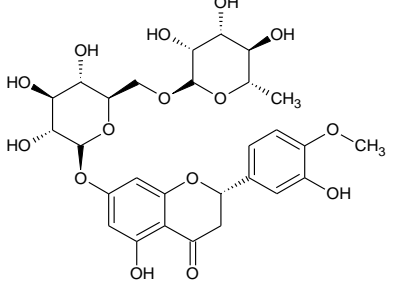
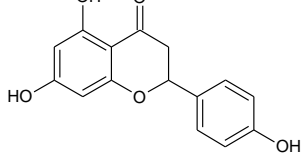
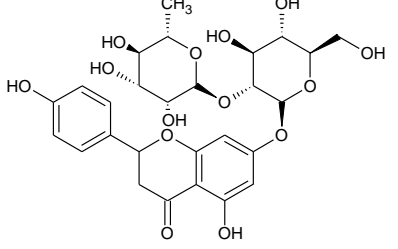
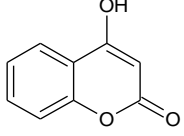
Perfluoroheptanová kyselina (99 %)	Sigma-Aldrich, Rusko
Perfluorooktanová kyselina (96 %)	Sigma-Aldrich, Čína

ANTIOXIDANTY:

Deriváty benzoové kyseliny:	
Gallová kyselina	 Mr = 170,12 g/mol

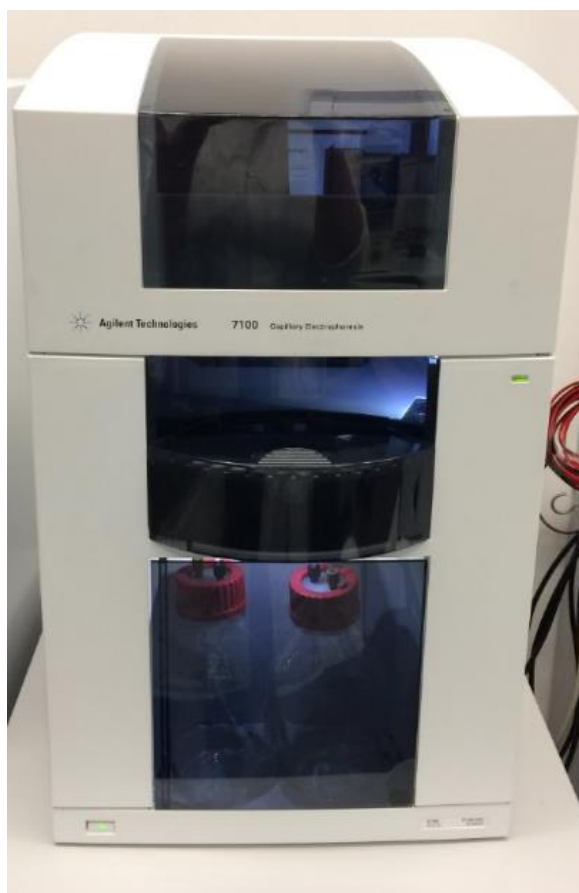
4-hydroxybenzoová kyselina	 <p>Mr = 138,12 g/mol</p>
Salicylová kyselina	 <p>Mr = 138,03 g/mol</p>
Syringová kyselina	 <p>Mr = 198,17 g/mol</p>
Vanilová kyselina	 <p>Mr = 168,15 g/mol</p>
Deriváty skořicové kyseliny:	
Kávová kyselina	 <p>Mr = 180,16 g/mol</p>
Chlorogenová kyselina	 <p>Mr = 354,31 g/mol</p>
Ferulová kyselina	 <p>Mr = 194,18 g/mol</p>
p-kumarová kyselina	 <p>Mr = 164,16 g/mol</p>

Flavanoly:	
(+)-Katechin	 <p>Mr = 290,27 g/mol</p>
(-)-Epikatechin	 <p>Mr = 290,27 g/mol</p>
Flavony:	
Rutin	 <p>Mr = 610,52 g/mol</p>
7-hydroxyflavon	 <p>Mr = 238,24 g/mol</p>
Flavon	 <p>Mr = 222,24 g/mol</p>
Flavonoly:	
Kvercetin	 <p>Mr = 338,27 g/mol</p>

Flavanony:	
Hesperetin	 <p>Mr = 302,28 g/mol</p>
Hesperidin	 <p>Mr = 610,56 g/mol</p>
Naringenin	 <p>Mr = 272,25 g/mol</p>
Naringin	 <p>Mr = 580,53 g/mol</p>
Kumariny:	
4-hydroxykumarin	 <p>Mr = 162,14 g/mol</p>

2.2 Přístrojové vybavení

K měření byla použita kapilární elektroforéza Agilent CE 7100 (Agilent, Palo Alto, CA, USA) viz obr. 12. Elektroforéza se skládá ze zdroje vysokého napětí, křemenné kapiláry, autosampleru a UV/VIS detektoru. Vyhodnocování a nastavování podmínek probíhalo přes počítač v programu ChemStation. K navažování kyselin byly použity analytické váhy Sartorius (Německo), pH všech pufrů bylo měřeno pomocí pH metru Orion (USA) a látky byly rozpouštěny pomocí ultrazvuku Bandelin (Německo).



Obrázek 12: Elektroforéza Agilent CE 7100.

2.3 Pracovní postup

2.3.1 Křemenná kapilára

Při měření byla použita křemenná separační kapilára potažená ochrannou polyimidovou vrstvou. Celková délka kapiláry byla 50 cm, délka k detektoru 42 cm a vnitřní průměr byl 50 μm . Po odměření kapiláry bylo vytvořeno detekční okénko opálením polyimidové vrstvy, taktéž oba konce kapiláry byly opáleny a zkráceny, opálené části byly očištěny

denaturovaným ethanolem. Před každým měřením byla kapilára promyta nejprve 5 minut 0,1 M roztokem NaOH a poté 5 minut deionizovanou vodou. Před analýzami byla křemenná kapilára promývána jednotlivými elektrolyty.

Před analýzami směsi kyselin a pro všechna pozdější měření bylo zařazeno promývání kapiláry ACN a až poté elektrolytem.

2.3.2 Příprava elektrolytu

Nejprve bylo smícháno vypočtené množství hydroxidu amonného (jehož koncentrace byla zvolena dvakrát větší než koncentrace používané kyseliny) s deionizovanou vodou ve 25 ml baňce. Do další 25 ml baňky bylo naváženo přesně vypočtené množství perfluorované kyseliny. Baňka s perfluorovanou kyselinou byla doplněna asi do poloviny připraveným roztokem hydroxidu amonného. Tato směs byla asi 2 min intenzivně protřepávána a poté dána do ultrazvuku, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění kyseliny. Po rozpuštění kyseliny byla baňka doplněna roztokem NH_4OH po rysku. Takto připravený roztok byl upraven na pH 9. BGE byl používán jak čistý bez příměsí, tak s obsahem 10 % ACN a 10 % MeOH. Čistý BGE byl vytvořen smícháním NH_4OH a deionizované vody, takový roztok měl pH 10,5, proto byla přidána kapka CH_3COOH a tím bylo upraveno pH na 9.

2.3.3 Příprava standardů a vzorku

Standardy kyselin a flavonů byly vždy připraveny navážením 2-3 mg látky do lékovky. Kyseliny byly doplněny 3 ml deionizované vody a flavony byly doplněny 3 ml methanolu. Koncentrace namíchaných standardů se pohybovala kolem 1 g/l.

Při samotném měření bylo do 1,5 ml elektroforetické nádoby napipetováno takové množství standardu, aby koncentrace dané látky byla 50 mg/l, při problémech s nízkou absorbancí byla koncentrace zvýšena na 100 mg/l. Standardy byly poté doplněny deionizovanou vodou.

2.3.4 Podmínky měření

Pro měření byla zvolena teplota 25 °C a napětí 20 kV. Promývání mezi analýzami bylo elektrolytem po dobu 45 s, při problémech s rozdílnými časy a ucpáváním kapiláry bylo zařazeno i promývání ACN po dobu 30 s. Vzorek byl dávkován po dobu 5 s tlakem 50 mbar. Pro detekci a vyhodnocení byla použita vlnová délka 214 nm.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Elektroosmotický tok a pohyblivost micel

3.1.1 Elektroosmotický tok

Ke zjištění elektroosmotického toku se ve většině případů používá thiomočovina. V případě perfluorovaných kyselin ale není možné thiomočovinu použít jako marker elektroosmózy, jelikož se nechová standardně a je možné, že s perfluorovanými kyselinami interaguje. V tabulce 4 a 5 jsou migrační časy pro thiomočovinu v elektrolytu s PFHpA a s PFOA. Z těchto časů lze pozorovat, že u thiomočoviny rozpuštěné ve vodě s rostoucí koncentrací PFHpA roste čas až po koncentraci 75 mM kyseliny kdy čas zase klesne. Pro thiomočovinu rozpuštěnou v BGE tento trend platí jen s PFHpA, u PFOA čas mírně roste. V tabulce jsou uvedeny i migrační časy pro elektrolyty s přidavkem 10 % ACN a 10 % MeOH. Z těchto časů byla vypočítána zdánlivá pohyblivost (viz tab. 1 a 2, příloha 1) pomocí rovnice 10. Tato rovnice byla použita pro výpočet zdánlivých pohyblivostí ve všech následujících podkapitolách.

$$\mu = \frac{L_d L_c}{U t_{stand}} \quad (10)$$

kde L_d je délka kapiláry k detektoru, L_c je celková délka kapiláry a U je napětí.

Z hodnot koncentrace a zdánlivé pohyblivosti byla sestavena grafická závislost μ na c . V grafu 1-3 (viz příloha 1) je vidět, jak na thiomočovinu působí změna koncentrace PFOA a PFHpA nebo přidavky organického rozpouštědla do BGE.

Tabulka 4: Migrační časy pro thiomočovinu v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % ACN a 10 % MeOH (průměrná hodnota ze tří měření).

Koncentrace	Migrační čas (min)			
	Thiomočovina v H ₂ O	Thiomočovina v BGE	Thiomočovina v H ₂ O (BGE s 10 % ACN)	Thiomočovina v H ₂ O (BGE s 10 % MeOH)
0 mM PFHpA	2,524	2,489	2,923	3,378
10 mM PFHpA	3,725	4,341	3,583	3,802
20 mM PFHpA	6,250	5,362	4,131	4,215
50 mM PFHpA	6,507	8,841	4,968	5,213
75 mM PFHpA	5,730	7,529	5,126	5,589

Tabulka 5: Migrační časy pro thiomocovinu v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN a 10 % MeOH (průměrná hodnota ze tří měření).

Koncentrace	Migrační čas (min)			
	Thiomocovina v H ₂ O	Thiomocovina v BGE	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % ACN)	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % MeOH)
0 mM PFOA	2,524	2,489	2,923	3,378
10 mM PFOA	5,447	4,545	3,918	3,491
20 mM PFOA	7,532	4,387	4,388	4,027
50 mM PFOA	5,597	4,658	4,962	3,849
75 mM PFOA	4,962	4,894	4,930	4,569

3.1.2 Pohyblivost micel

Po zjištění, že thiomocovina se nedá použít jako marker elektroosmotického toku, byly testovány další látky, které se běžně používají k určení pohyblivosti micel. Vzhledem k polárnímu charakteru perfluorovaných řetězců v porovnání např. s hydrofobním alkylem v molekule SDS je zřejmé, že thiomocovina je přítomna částečně uvnitř micel. I v tomto případě se látky chovají odlišně v PFOA a v PFHpA než v elektrolytech, jako např. v SDS. O jedné látce lze uvažovat jako o ukazateli elektroosmotického toku a tou je acenaften. V BGE bez organického rozpouštědla jsou mezi testovanými látkami migrační časy acenaftenu nejnižší a nejméně ovlivněny koncentrací PFOA a PFHpA. Pokud je do BGE přidáno organické rozpouštědlo, dojde k ovlivnění rozdělovací rovnováhy do micelární fáze a k nárůstu migračních časů. Pro obě kyseliny má acenaften skoro shodné nárůsty časů, což se projeví na skoro identické klesající pohyblivosti (viz graf 17, příloha 1). Všechny zjištěné výsledky jsou v příloze 1 v tabulkách 1-16 a grafech 1-18.

V dalším textu budou diskutovány výsledky vždy pro jednu zvolenou perfluorovanou kyselinu.

3.2 Perfluoroheptanová kyselina

Z perfluoroheptanové kyseliny byly připraveny čtyři elektrolyty o koncentracích 10, 20, 50 a 75 mM. V perfluoroheptanové kyselině byly proměřeny standardy fenolických kyselin, flavonů a jejich směsí samostatně v každém z elektrolytu, a to bez příměsí organiky, poté v elektrolytech s obsahem 10 % ACN a 10 % MeOH.

Každé měření bylo opakováno třikrát a časy byly zprůměrovány. Identifikovat látku ve směsi nebylo možné pouze podle času, proto byla v programu ChemStation vytvořena knihovna spekter standardů fenolických kyselin a flavonů. Podle procentuální a vizuální shodnosti spektra, bylo možné některé látky ve směsi identifikovat. Pokud nebylo možno látku identifikovat, byl do tabulky napsán symbol x. Ten samý symbol byl používán, i když už se nevyskytoval při dané koncentraci pík.

3.2.1 Fenolické kyseliny

V tabulce 17 (příloha 2) jsou časy standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA bez přídavku organického rozpouštědla a tabulka 18 (příloha 2) obsahuje vypočtenou zdánlivou pohyblivost. U kyseliny gallové a kávové pro 50 mM a 75 mM PFHpA nebylo možné odečíst čas standardů, kvůli nepřehlednému záznamu, proto v grafech 19 a 20 jsou jen dva body, které bylo možné určit. Z dat v tabulce 17 a 18 je patrné, že s rostoucí koncentrací PFHpA vzrůstá čas a tím pádem klesá zdánlivá pohyblivost. Tento pokles pohyblivosti je zaznamenán v grafech 19-21.

Tabulka 19 (příloha 2) obsahuje časy standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % ACN. V tabulce 20 (příloha 2) jsou vypočteny zdánlivé pohyblivosti. Po přídavku ACN do elektrolytu dojde ke zvyšování časů standardů fenolických kyselin. Vlivem přídavku ACN došlo ke zlepšení separace, protože bylo možno odečíst časy standardů, které se v elektrolytu bez organického rozpouštědla neobjevily. Stále trvá trend rostoucích časů a klesající pohyblivosti viz grafy 22-24 (příloha 2).

Po přídavku 10 % MeOH došlo k nárůstu časů oproti elektrolytu bez organického rozpouštědla (tab. 21, příloha 2). Stejně jako v elektrolytu bez organického rozpouštědla nebylo možné odečíst některé časy pro 50 mM a 75 mM PFHpA. Pro všechny kyseliny v tomto elektrolytu platí, že s rostoucí koncentrací roste čas a klesá pohyblivost (viz grafy 25-27). Největší rozdíl mezi BGE s ACN a MeOH je při separaci trojice kyselin salicylová, p-kumarová a ferulová.

3.2.2 Směs fenolických kyselin

Směs všech devíti kyselin byla proměřena v elektrolytu bez organického rozpouštědla, s přídatkem 10 % ACN a 10 % MeOH. V elektrolytu bez organického rozpouštědla bylo separováno maximálně šest píků (tab. 6), po přidavku ACN a MeOH se počet separovaných píků zvýšil na sedm (tab. 7 a 8). Z průměrných časů byly vytvořeny tabulky se zdánlivou pohyblivostí (tab. 23-25, příloha 2), z nichž byly vytvořeny grafické závislosti μ na c . V tabulce časů pro směsi jsou u jednotlivých píků uvedeny názvy standardů, pokud bylo možné tento standard identifikovat.

Po přidavku ACN a MeOH do elektrolytu se separace zlepšila oproti elektrolytu bez organického rozpouštědla, protože bylo možné dokázat, že píky 2, 3 a 5 obsahují vždy tu samou látku (tab. 7 a 8).

3.2.2.1 Směs fenolických kyselin bez organického rozpouštědla

V tabulce 23 (příloha 2) jde vidět, že pohyblivost u 10 mM a 50 mM je vyšší než pro 20 mM a 75 mM. Pouze u koncentrace 50 mM PFHpA se vyskytoval 6. pík, u ostatních koncentrací nebylo možné časy odečíst z důvodu nestabilní nulové linie. V grafu 28 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA.

Tabulka 6: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	5,872	x	6,219	p-kumarová	6,355	x
20 mM PFHpA	8,919	Galová/Syringová	9,733	x	10,153	x
50 mM PFHpA	6,869	Galová/Syringová	7,325	p-kumarová	7,498	Vanilová/Galová
75 mM PFHpA	8,255	x	8,896	x	9,186	Vanilová/Galová

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	4. pík		5. pík		6. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	6,529	Salicylová k.	6,765	x	x	
20 mM PFHpA	11,195	Salicylová k.	x		x	
50 mM PFHpA	7,967	x	8,131	4-hydroxybenz. k.	8,724	Salicylová k.
75 mM PFHpA	10,243	x	11,281	Salicylová k.	x	

3.2.2.2 Směs fenolických kyselin s přídatkem 10 % ACN

Po přidání ACN došlo ke změně, kdy od koncentrace 20 mM PFHpA zdánlivá pohyblivost postupně klesá. Pro 6. pík bylo navíc možné odečíst i hodnoty při koncentraci 10 mM, 20 mM a 75 mM. Nově přibyl 7. pík, ale pro ten bylo možné odečíst jen hodnotu pro 20 mM a 50 mM PFHpA. V grafu 29 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA.

Tabulka 7: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s příměsí 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	7,365	Galová/Syringová	7,948	p-kumarová	8,075	Vanilová k.
20 mM PFHpA	6,054	Galová/Syringová	6,401	p-kumarová	6,483	Vanilová k.
50 mM PFHpA	7,589	x	8,074	p-kumarová	8,231	Vanilová k.
75 mM PFHpA	8,856	x	9,621	p-kumarová	9,854	Vanilová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	8,623	Ferulová/Kávová	8,807	4-hydroxyb.	9,620	Salicylová	x	
20 mM PFHpA	6,795	Ferulová/Kávová	6,928	4-hydroxyb.	7,320	x	7,548	Salicylová
50 mM PFHpA	8,533	Ferulová/Kávová	9,025	4-hydroxyb.	9,301	Gal./Syring	10,653	Salicylová
75 mM PFHpA	10,434	Ferulová/Kávová	11,107	4-hydroxyb.	13,927	Salicylová	x	

3.2.2.3 Směs fenolických kyselin s přídatkem 10 % MeOH

U elektrolytu s přídatkem 10 % MeOH je stejný pokles pohyblivosti jako u elektrolytu s ACN. Jedinou změnou je, že pro 7. pík lze odečíst pouze hodnotu pro koncentraci 20 mM PFHpA. V grafu 30 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA.

Tabulka 8: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přídatkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	9,617	Galová/Syring.	10,621	p-kumarová k.	10,809	Vanilová k.
20 mM PFHpA	7,215	Galová/Syring.	7,689	p-kumarová k.	7,782	Vanilová k.
50 mM PFHpA	9,717	Galová/Syring.	10,584	p-kumarová k.	10,759	Vanilová k.
75 mM PFHpA	10,503	Galová/Syring.	11,391	p-kumarová k.	11,671	Vanilová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	11,443	x	12,047	4-hydroxybenz. k.	13,139	Salicylová k.	x	
20 mM PFHpA	8,127	x	8,353	4-hydroxybenz. k.	8,686	x	9,146	Salicylová k.
50 mM PFHpA	11,267	x	12,051	4-hydroxybenz. k.	14,609	Salicylová k.	x	
75 mM PFHpA	12,153	x	13,301	4-hydroxybenz. k.	17,205	Salicylová k.	x	

3.2.3 Flavony

V tabulkách 26-31 (příloha 2) jsou uvedeny migrační časy a pohyblivosti flavonů pro analýzy ve všech proměřovaných elektrolytech. V elektrolytu PFHpA platí pro všechny flavony, že s rostoucí koncentrací PFHpA klesá zdánlivá pohyblivost (grafy 31-33, příloha 2).

Po přidavku ACN do elektrolytu PFHpA bylo možné odečíst migrační čas flavonů i při koncentraci 75 mM. Přídavkem ACN se nezvyšovaly migrační časy látek, avšak u některých flavonů se časy snížily. Kromě rutinu, pro který byl pozorován výraznější pokles migračního času při koncentraci 75 mM PFHpA není žádná výrazná odchylka pohyblivosti látek a s rostoucí koncentrací PFHpA pohyblivost flavonů vždy klesá (grafy 34-36, příloha 2).

Naopak po přidání MeOH do elektrolytu PFHpA došlo ve většině případů k nárůstu migračních časů flavonů. Odchyly jsou zde pro rutin a 4-hydroxykumarin, u kterých poklesl čas při koncentraci 75 mM PFHpA. (viz grafy 37-39, příloha 2).

Kvercetin nebylo možné při použitých podmínkách odečíst ze záznamu, proto byl z pozdějších měření celkové směsi vyloučen a nadále bylo proměřováno deset flavonů.

3.2.4 Směs flavonů

Směs všech deseti flavonů byla proměřena v elektrolytu bez organického rozpouštědla, s přídatkem 10 % ACN a 10 % MeOH. V elektrolytu bez organického rozpouštědla bylo separováno maximálně devět píků (tab. 9), po přidavku ACN a MeOH se počet separovaných píků snížil na sedm (tab. 10 a 11). Z průměrných migračních časů byly vytvořeny tabulky se zdánlivou pohyblivostí (tab. 32-34, příloha 2), z nichž byly sestrojeny grafické závislosti μ na c . V tabulce migračních časů pro směsi jsou u jednotlivých píků uvedeny názvy standardu, pokud bylo možné tento standard identifikovat.

3.2.4.1 Směs flavonů bez organického rozpouštědla

V grafu 40 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA. Celkově se podařilo rozseparovat devět píků, ale pro 8. a 9. pík se podařilo odečíst migrační časy pouze při koncentraci 75 mM PFHpA.

Tabulka 9: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	2,839	x	3,807	x	3,899	x	3,917	Naringenin
20 mM PFHpA	3,143	Katech./Epikat.	4,574	x	4,719	Naringenin	5,568	4-HK
50 mM PFHpA	4,019	Katech./Epikat.	4,185	Flavon	5,665	Rutin	5,860	x
75 mM PFHpA	4,237	x	4,327	x	6,435	x	6,770	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)									
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík		9. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	4,662	4-HK	x		x		x		x	
20 mM PFHpA	x		x		x		x		x	
50 mM PFHpA	5,945	7-HF.	6,104	Naringenin	7,780	4-HK	x		x	
75 mM PFHpA	6,914	x	7,129	Hesperetin	7,481	x	7,509	7-HF	10,089	4-HK.

kde 4-HK je 4-hydroxykumarin a 7-HF je 7-hydroxyflavon.

3.2.4.2 Směs flavonů s přídatkem 10 % ACN

V grafu 41 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA. Pouze u koncentrace 50 mM PFHpA se vyskytl 7. pík. U druhého a čtvrtého píku se při koncentraci 20 mM PFHpA snížil čas, což se projevílo zvýšením zdánlivé pohyblivosti.

Tabulka 10: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA s přídatkem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	3,211	Katechin/Epikatechin	4,512	x	4,592	7-hydroxyflavon
20 mM PFHpA	3,603	Katechin/Epikatechin	3,682	x	5,125	Rutin
50 mM PFHpA	4,298	Katechin/Epikatechin	5,425	Flavon	6,724	Rutin
75 mM PFHpA	6,901	x	7,531	x	7,706	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	5,468	4-hydroxyk.	x		x		x	
20 mM PFHpA	5,223	Hesperetin	5,363	7-hydroxyflav.	6,648	4-hydroxykum.	x	
50 mM PFHpA	7,077	Hesperetin	7,414	x	7,461	7-hydroxyflav.	9,972	4-hydroxyk.
75 mM PFHpA	7,982	Naringenin	8,302	7-hydroxyflav.	10,969	4-hydroxykum.	x	

3.2.4.3 Směs flavonů s přídatkem 10 % MeOH

V elektrolytu s přídatkem MeOH postupně s rostoucí koncentrací PFHpA roste čas a klesá pohyblivost flavonů. V grafu 42 (příloha 2) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFHpA.

Tabulka 11: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFHpA s přídatkem 10 % MeOH.

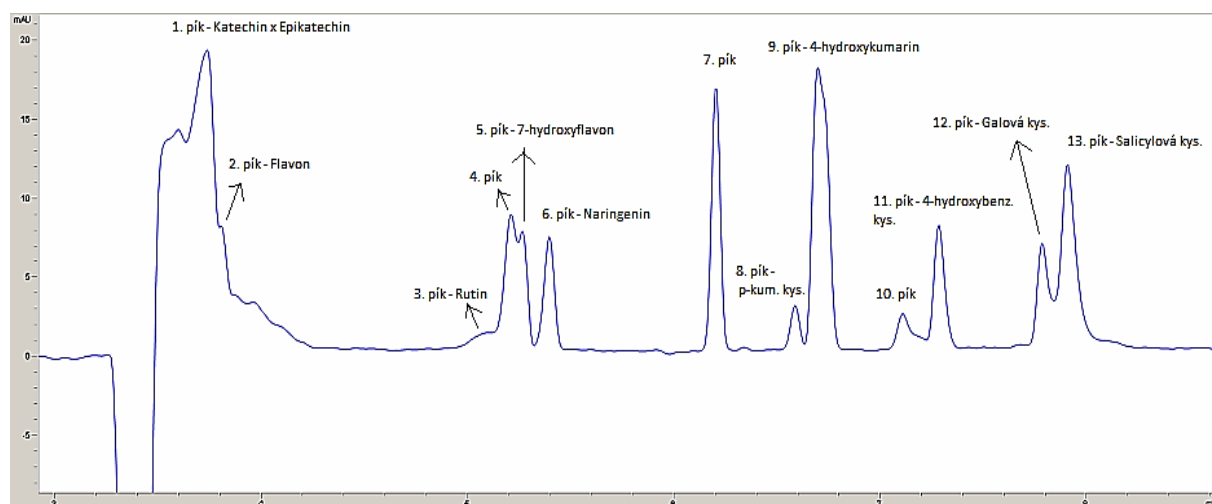
Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	3,684	x	5,312	x	5,369	7-hydroxyflavon
20 mM PFHpA	4,122	Kat./Epikat.	5,983	Rutin	6,136	Hesperetin
50 mM PFHpA	5,438	Kat./Epikat.	6,099	Flavon	7,779	Rutin
75 mM PFHpA	5,347	x	6,305	x	9,112	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	5,481	Naringenin	6,481	4-hydroxyk.	x		x	
20 mM PFHpA	6,256	7-hydroxyfl.	6,359	Naringenin	7,897	4-hydroxyk.	x	
50 mM PFHpA	8,247	Hesperetin	8,568	7-hydroxyfl.	8,644	Naringenin	11,937	4-hydroxyk.
75 mM PFHpA	9,788	Hesperetin	10,242	Naringenin	10,541	7-hydroxyfl.	14,861	4-hydroxyk.

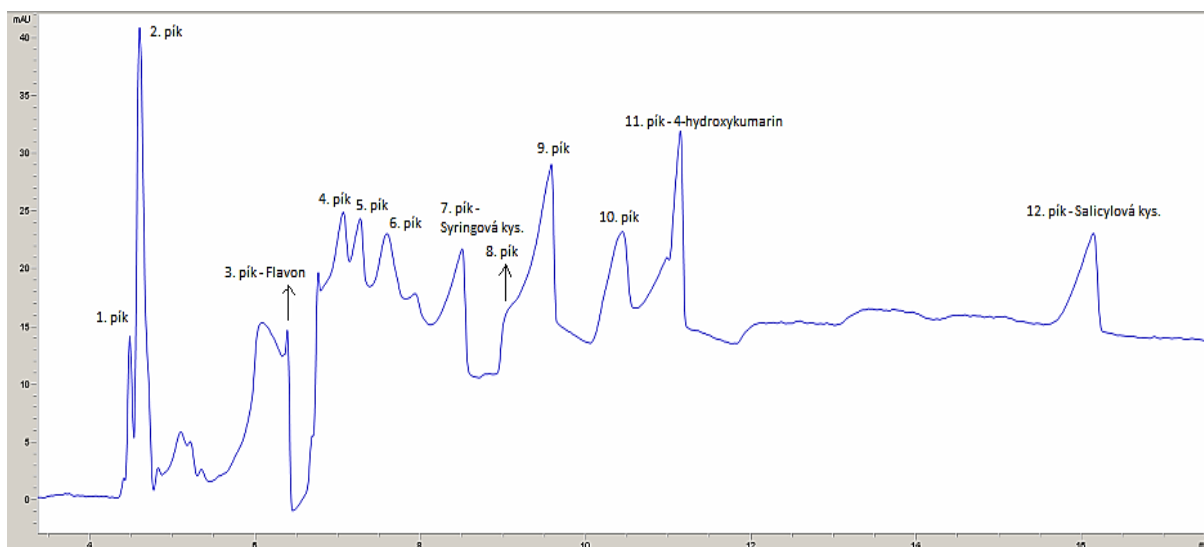
3.2.5 Celková směs fenolických kyselin a flavonů

Směs devatenácti antioxidantů byla proměřena ve všech elektrolytech. Z průměrných migračních časů byla vypočtena zdánlivá pohyblivost (tab. 36, 38, 40 příloha 2). Ve všech elektrolytech u 2. píku docházelo k poklesu a poté k nárůstu časů, proto je křivka jiná než pro ostatní píky, u kterých dochází postupně k poklesu pohyblivosti.

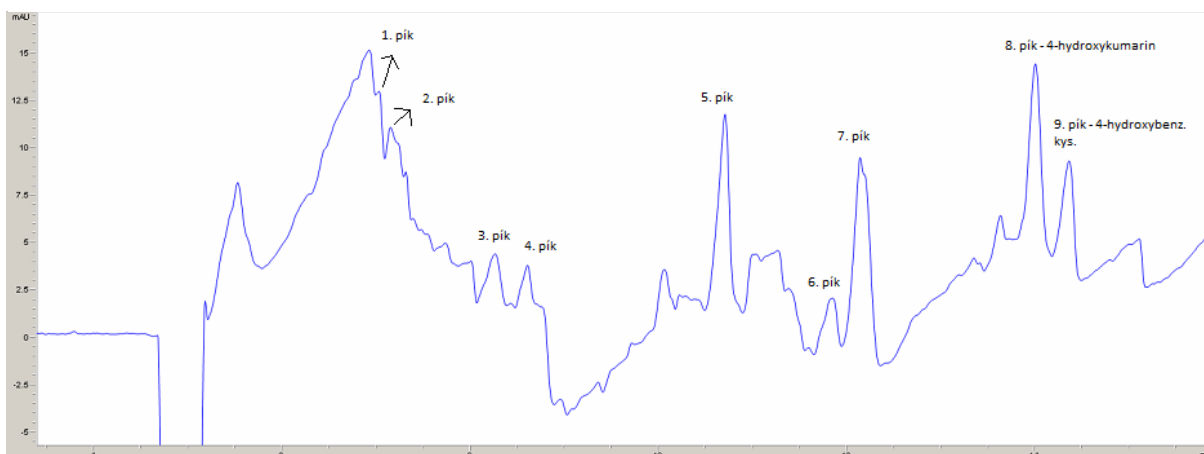
V PFHpA se podařilo separovat maximálně třináct píků a to v 50 mM PFHpA, po přidavku ACN a MeOH se počet píků snížil na dvanáct a devět (tab. 35, 37, 39, příloha 2). Na následujících obrázcích (Obr. 13-15) jsou zobrazeny změny v separaci bez organického rozpouštědla, s ACN a MeOH. Rozdíl podle spektra mezi katechinem a epikatechinem a zároveň ferulovou a kávovou kyselinou je tak malý, že nešlo přesně určit o kterou látku se jedná. První píky při separaci patří právě katechinu nebo epikatechinu.



Obrázek 13: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpA s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.



Obrázek 14: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpAs přídatkem 10 % ACN s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.



Obrázek 15: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 50 mM PFHpAs přídatkem 10 % MeOH s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.

3.3 Perfluorooktanová kyselina

Z perfluorooktanové kyseliny byly připraveny čtyři elektrolyty o koncentracích 10, 20, 50 a 75 mM. V perfluorooktanové kyselině byly proměřeny standardy fenolických kyselin, flavonů a jejich směsí samostatně v každém z elektrolytu, a to bez příměsí organického rozpouštědla, poté v elektrolytech s obsahem 10 % ACN a 10 % MeOH.

Každé měření bylo opakováno třikrát a časy byly zprůměrovány. Identifikovat látku ve směsi nebylo možné pouze podle času, proto byla v programu ChemStation vytvořena knihovna spekter standardů fenolických kyselin a flavonů. Podle procentuální a vizuální shodnosti spektra, bylo možné některé látky ve směsi identifikovat. Pokud nebylo možno látku identifikovat, byl do tabulky napsán symbol x. Ten samý symbol byl používán, i když už se nevyskytoval při dané koncentraci pík.

3.3.1 Fenolické kyseliny

V tabulkách 41-46 (příloha 3) jsou naměřené migrační časy a vypočtené zdánlivé pohyblivosti pro standardy fenolických kyselin ve všech elektrolytech. V elektrolytu PFOA bez organického rozpouštědla stoupá s rostoucí koncentrací PFOA migrační čas a pohyblivost kyselin klesá, což je znázorněno v grafech 43-45 (příloha 3). Pro některé kyseliny byly získány jen tři body, čtvrtý bod pro koncentraci 75 mM PFOA ze záznamu nebylo možné odečíst z důvodu velkého šumu.

Přidání ACN do elektrolytu zvýšilo migrační časy kyselin, také se vylepšil záznam při koncentraci 75 mM PFOA a byly odečteny migrační časy pro všechny kyseliny. Průběh závislosti μ na c se mění, u některých kyselin nedochází k postupnému poklesu zdánlivé pohyblivosti, ale v koncentračním bodě 20 mM PFOA naopak pohyblivost stoupne a až poté se snižuje (viz grafy 46-48, příloha 3).

Po přidání MeOH do elektrolytu měření vypadalo stejně jako v elektrolytu bez organického rozpouštědla, tzn. že nebylo možné odečíst migrační čas při koncentraci 75 mM PFOA u těch samých kyselin. U všech kyselin kromě kyseliny syringové platí, že s rostoucí koncentrací klesá pohyblivost (viz grafy 49-51, příloha 3).

3.3.2 Směs fenolických kyselin

Směs všech devíti kyselin byla proměřena v elektrolytu bez organického rozpouštědla, s přídatkem 10 % ACN a 10 % MeOH. V elektrolytu bez organického rozpouštědla bylo separováno maximálně šest píků (tab. 12), po přidavku ACN a MeOH se počet separovaných

píků zvýšil na sedm (tab. 13 a 14). Z průměrných časů byly vytvořeny tabulky se zdánlivou pohyblivostí (tab. 47-49, příloha 3), z nichž byly sestrojeny grafické závislosti μ fenolických kyseliny na c PFOA. V tabulce s migračními časy pro směsi jsou u jednotlivých píku uvedeny názvy standardů, pokud bylo možné tento standard identifikovat.

3.3.2.1 Směs fenolických kyselin bez organického rozpouštědla

V tomto elektrolytu pro všechny píky klesá pohyblivost s rostoucí koncentrací, u 50 mM a 75 mM PFOA jsou rozdíly v pohyblivosti minimální. Pro 6. pík byl ze záznamu odečten jen migrační čas při koncentraci 75 mM PFOA. V grafu 52 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 12: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět kyselin v elektrolytu PFOA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,295	Galová/Syringová	5,568	p-kumarová k.	5,672	x
20 mM PFOA	5,674	Galová/Syringová	5,995	p-kumarová k.	7,782	x
50 mM PFOA	7,009	x	7,395	x	10,759	x
75 mM PFOA	7,018	Galová/Syringová	7,447	p-kumarová k.	11,671	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	4. pík		5. pík		6. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,929	Salicylová k.	x		x	
20 mM PFOA	6,484	x	7,149	x	x	
50 mM PFOA	8,077	Salicylová k.	8,321	x	x	
75 mM PFOA	8,161	Salicylová k.	8,411	x	9,341	x

3.3.2.2 Směs fenolických kyselin s přídavkem 10 % ACN

Přídavek ACN ovlivnil měření pro koncentraci 50 mM a 75 mM PFOA. Mezi těmito koncentracemi je větší nárůst časů a tím pádem větší rozdíly ve zdánlivé pohyblivosti. V grafu 53 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 13: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,776	x	6,082	p-kumarová k.	6,152	Vanilová k.
20 mM PFOA	5,866	x	6,131	p-kumarová k.	6,228	Vanilová k.
50 mM PFOA	6,835	Galová k.	7,285	p-kumarová k.	7,472	Vanilová k.
75 mM PFOA	8,880	Galová k.	9,022	x	9,705	p-kumarová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	6,423	x	6,534	4-hydroxybenz.	7,088	Salicylová	x	
20 mM PFOA	6,534	Ferulová/Kávová	6,766	4-hydroxybenz.	7,005	Galová	7,267	Salicylová
50 mM PFOA	7,898	x	8,128	4-hydroxybenz.	8,941	Salicylová	x	
75 mM PFOA	9,953	Vanilová k.	10,888	x	11,212	x	12,948	Salicylová

3.3.2.3 Směs fenolických kyselin s přidavkem 10 % MeOH

S přidáním MeOH do elektrolytu se snížil nárůst migračních časů mezi koncentrací 20 mM a 50 mM, PFOA, což se projeví velmi malým poklesem zdánlivé pohyblivosti kyselin. V grafu 54 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 14: Identifikace a migrační časy směsi obsahující devět flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	6,559	x	6,963	p-kumarová	7,037	Vanilová k.
20 mM PFOA	8,083	x	8,678	p-kumarová	8,814	x
50 mM PFOA	8,826	Galová/Syringová	8,911	x	9,435	p-kumarová k.
75 mM PFOA	12,033	Galová/Syringová	12,195	x	13,476	p-kumarová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	7,397	x	7,496	4-hydroxyb	8,061	Salicylová k.	x	
20 mM PFOA	9,308	x	9,578	4-hydroxyb.	10,091	Galová/Syringová	10,549	Salicylová
50 mM PFOA	9,636	x	10,302	x	10,633	x	11,440	Salicylová
75 mM PFOA	13,902	Vanilová	15,432	x	16,077	x	19,420	Salicylová

3.3.3 Flavony

V tabulkách 50-55 (příloha 3) jsou naměřené migrační časy standardů flavonů a vypočtené zdánlivé pohyblivosti, z nichž byly sestrojeny grafické závislosti μ na c . Při měření flavonů v elektrolytu PFOA bylo možné odečíst migrační časy flavonů jen pro koncentraci 10 mM a 20 mM, při koncentracích 50 mM a 75 mM PFOA už u většiny flavonů nešly migrační časy odečíst z důvodu nestabilní nulové linie. Kvůli nemožnosti odečíst časy jsou v grafech 55-57 (příloha 3) někde jen dva body.

Po přidání ACN do elektrolytu šlo odečíst prakticky všechny migrační časy pro 50 mM a 75 mM PFOA, naopak šly hůř odečítat časy pro koncentraci 20 mM. V grafech 58-60 (příloha 3) lze vidět, že pro všechny standardy s rostoucí koncentrací PFOA klesá pohyblivost flavonů.

Po přidání MeOH separace vypadala skoro jako v elektrolytu bez organického rozpouštědla, jen pro koncentrace 50 mM a 75 mM PFOA bylo možné odečíst víc píků. Největší změna po přidání MeOH je u 7-hydroxyflavonu, u kterého začaly strmě narůstat migrační časy, což lze vidět i na grafech 61-63 (příloha 3).

Kvercetin nebylo možné při použitých podmínkách odečíst ze záznamu, proto byl z pozdějších měření směsí vyloučen a nadále bylo proměřováno deset flavonů.

3.3.4 Směs flavonů

Směs všech deseti flavonů byla proměřena v elektrolytu bez organického rozpouštědla, s přídavkem 10 % ACN a 10 % MeOH. V elektrolytu bez organického rozpouštědla bylo separováno maximálně sedm píků (tab. 15), po přídavku ACN a MeOH byl počet separovaných píků osm a šest (tab. 16 a 17). Z průměrných migračních časů byly vypočteny zdánlivé pohyblivosti (tab. 56-58, příloha 3), z nichž byly sestrojeny grafické závislosti μ

flavonů na c PFOA. V tabulce migračních časů pro směsi jsou u jednotlivých píků uvedeny názvy standardů, pokud bylo možné tento standard identifikovat.

3.1.1.1 Směs flavonů bez organického rozpouštědla

V tomto případě platí, že s rostoucí koncentrací PFOA roste i migrační čas flavonů, kromě 3. píku, kdy při koncentraci 20 mM PFOA čas poklesl, poté pak zase stoupal. Pouze v BGE s 50 mM PFOA byl pozorován 7. pík. V grafu 64 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 15: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	2,785	x	3,098	Katechin/Epikatechin	3,872	x
20 mM PFOA	3,171	Kat./Epikat.	3,267	x	3,455	Katechin/Epikatechin
50 mM PFOA	4,054	Naringin	4,428	x	5,676	x
75 mM PFOA	6,053	x	6,164	7-hydroxyflavon	6,599	4-hydroxykum.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	4. pík		5. pík		6. pík		7. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	3,999	Naringenin	4,497	4-hydroxykum.	x		x	
20 mM PFOA	4,375	x	4,527	Naringenin	5,202	4-hydroxykum.	x	
50 mM PFOA	5,809	x	6,101	x	6,817	4-hydroxykum.	9,638	Flavon
75 mM PFOA	13,436	Flavon	x		x		x	

3.1.1.2 Směs flavonů s přidavkem 10 % ACN

Po přidání ACN neplatí pro všechny píky stejné pravidlo, u některých píku je migrační čas v prvním bodě vyšší než ve druhém (viz 3. pík), u některých jsou zase hodnoty při nejvyšší koncentraci PFOA 75 mM nižší než při koncentraci 50 mM. Pouze v BGE s 20 mM PFOA byl navíc pozorován 7. a 8. pík. V grafu 65 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 16: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	3,186	x	3,283	Kat./Epikat.	4,400	x	4,474	7-hydroxyflav.
20 mM PFOA	3,318	Kat./Epikat.	3,477	x	3,877	Flavon	4,865	x
50 mM PFOA	5,962	x	6,026	Naringenin	6,114	7-hydroxyflavon	6,951	4-hydroxyk.
75 mM PFOA	5,934	Rutin	6,013	Hesperetin	6,142	Naringenin	6,410	7-hydroxyflav.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,291	4-hydroxykum.	x		x		x	
20 mM PFOA	4,956	x	5,152	7-hydroxyflav.	5,276	Naringenin	5,984	4-hydroxyk.
50 mM PFOA	8,036	Flavon	x		x		x	
75 mM PFOA	7,330	4-hydroxykum.	11,323	Flavon	x		x	

3.1.1.3 Směs flavonů s přidavkem 10 % MeOH

U 1. - 3. píku je pokles migračních časů mezi koncentracemi 50 mM a 75 mM PFOA. U 4. a 5. píku nebylo možné odečíst migrační čas koncentraci 50 mM PFOA a 6. pík byl naměřen pouze u koncentrace 20 mM PFOA. V grafu 66 (příloha 3) jsou znázorněny pohyblivosti jednotlivých látek na koncentraci PFOA.

Tabulka 17: Identifikace a migrační časy směsi obsahující deset flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

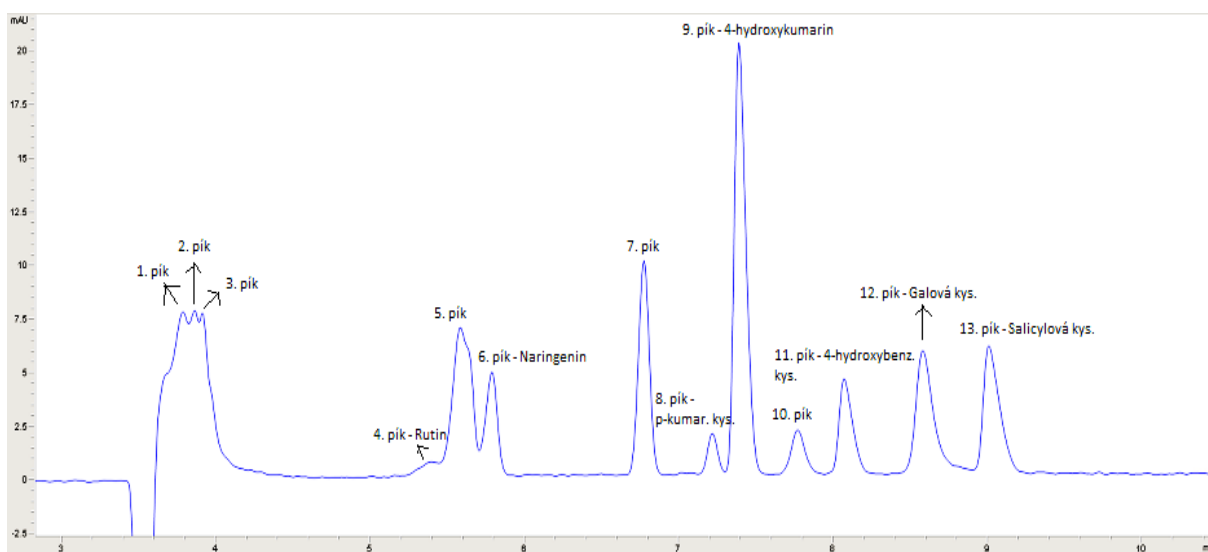
Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	1. pík		2. pík		3. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	3,570	x	3,890	x	5,066	x
20 mM PFOA	4,115	Hesperidin	4,328	x	5,783	Hesperetin
50 mM PFOA	7,923	x	8,519	4-hydroxykum.	11,286	Flavon
75 mM PFOA	7,780	x	7,816	Hesperetin	7,912	Naringenin

Koncentrace	Migrační čas píku (min)					
	4. pík		5. pík		6. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,218	Naringenin	6,097	4-hydroxykum.	x	
20 mM PFOA	5,867	7-hydroxyflavon	5,993	Naringenin	7,191	4-hydroxykum.
50 mM PFOA	x		x		x	
75 mM PFOA	8,211	7-hydroxyflavon	9,379	4-hydroxykum.	x	

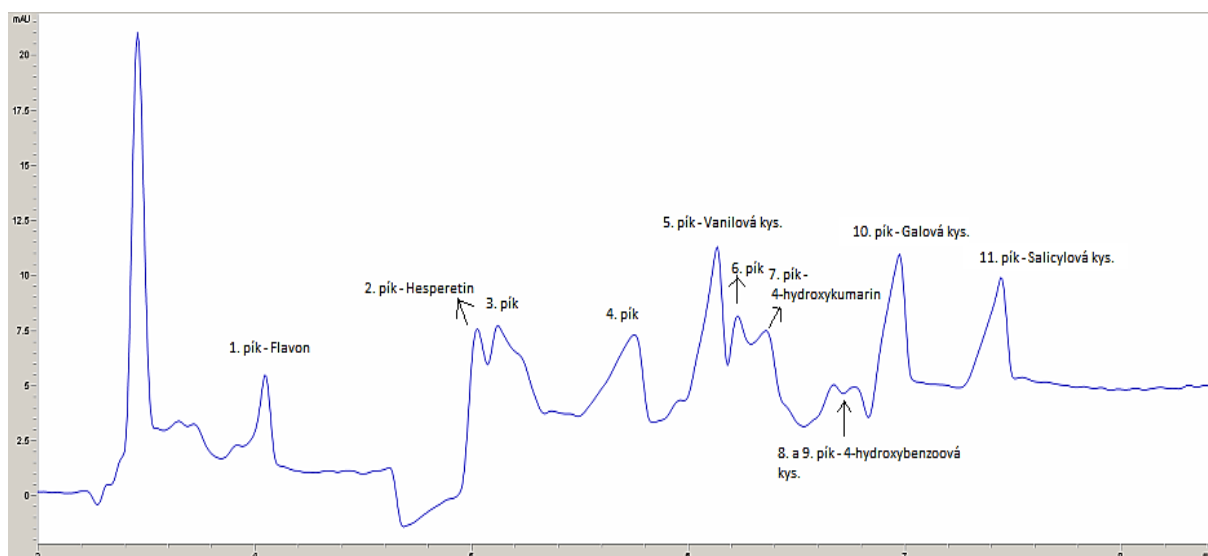
3.3.5 Celková směs fenolických kyselin a flavonů

Směs devatenácti antioxidantů byla proměřena ve všech elektrolytech. Z průměrných migračních časů byla vypočtena zdánlivá pohyblivost (tab. 60, 62, 64, příloha 3). V elektrolytu s přidavkem ACN a MeOH kromě 1. píku je u všech píků pro koncentraci 20 mM PFOA čas nižší než u 10 mM. V elektrolytu bez organického rozpouštědla tohle platí jen pro 2. – 5. pík.

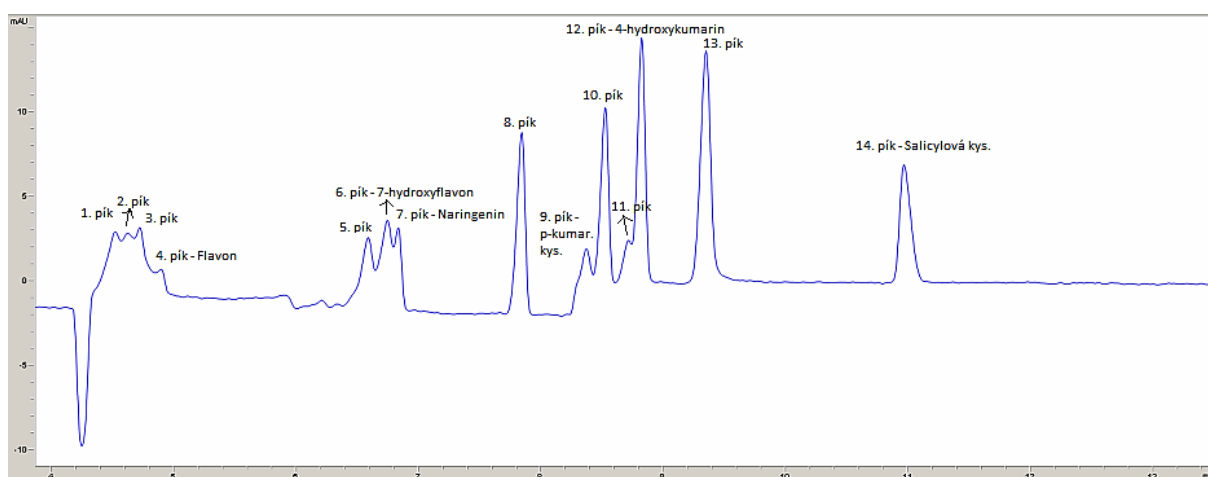
V PFOA se podařilo separovat maximálně čtrnáct píků a to v 20 mM PFOA s přidavkem 10 % MeOH, v elektrolytu bez organického rozpouštědla a s ACN se počet separovaných píků snížil na třináct a jedenáct (tab. 59, 61, 63, příloha 3). Na následujících obrázcích (Obr. 16-18) jsou ukázány změny v separaci v elektrolytu bez organického rozpouštědla, s ACN a MeOH. Pokud to bylo možné látky byly ve směsi identifikovány. Rozdíl podle spektra mezi katechinem a epikatechinem a zároveň ferulovou a kávovou kyselinou je tak malý, že nešlo přesně určit o kterou látku se jedná. První píky při separaci patří většinou právě katechinu nebo epikatechinu.



Obrázek 16: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.



Obrázek 17: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s přidavkem 10 % ACN s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.



Obrázek 18: Ukázka separace devatenácti antioxidantů v 20 mM PFOA s přidavkem 10 % MeOH s označením píků a pojmenováním identifikovaných kyselin a flavonů.

4 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo separovat směs fenolických sloučenin pomocí perfluorovaných kyselin. Nejprve byly vždy proměřeny standardy fenolických sloučenin a flavonů samostatně v každém z elektrolytů, poté byla vytvořena směs devíti kyselin a deseti flavonů, která byla taktéž změřena ve všech elektrolytech. V posledním kroku byla proměřena směs všech devatenácti fenolických sloučenin. V ani jednom z případů separace nebylo úspěšně separováno všech devět, deset nebo devatenáct sloučenin. Pouze z naměřených migračních časů standardů nebylo možné látky ve směsi identifikovat, jelikož nebylo možné časy přiřadit k jednotlivým píkům, proto byly některé látky identifikovány pomocí knihovny spekter v programu ChemStation. U ostatních látek nebylo s větší přesností možno určit o kterou sloučeninu se jedná, protože katechin a epikatechin a také kyselina ferulová a kávová mají podobná spektra. Některé sloučeniny jako například katechin a epikatechin se ve spektru objevují i ve více pících.

Nelze jednoznačně říct, jestli perfluorooktanová nebo perfluoroheptanová kyselina je za těchto zvolených podmínek pro separace lepší. Nejvíce rozseparovaných píků bylo v kyselině perfluorooktanové, ale měření standardů flavonů bylo lepší v perfluoroheptanové kyselině, protože např. v perfluorooktanové kyselině bez organického rozpouštědla se pro koncentrace 50 mM a 75 mM nepodařilo odečíst migrační časy.

S rostoucí koncentrací ve většině případů docházelo k nestabilitě nulové linie, tím pádem se v záznamech vyskytovaly píky, které nepatřily žádnému z antioxidantů, což mělo za následek nemožnost odečíst migrační časy pro standardy nebo směsi. Velkým problémem při měření byla i zhoršená opakovatelnost analýz. Při opakovaném měření se záznamy i časy standardů lišily. Je možné, že zhoršená opakovatelnost souvisí právě s těkavostí pufrů. Pro jednoznačnou identifikaci látek a správné přiřazení píků by bylo vhodné separaci realizovat ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] MICHALÍKOVÁ, J. *Stanovení kritické micelární koncentrace perfluorovaných karboxylových kyselin pomocí kapilární elektroforézy*. Diplomová práce. 2017, 47 s.
- [2] HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. *Analytická chemie*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987. 409-411 s.
- [3] ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [4] KAŠIČKA, V. *Teoretické základy a separační principy kapilárních elektromigračních metod*. Chemické listy. 1997, 91, 320-329 s.
- [5] LANDERS, J. P. *Handbook of capillary and microchip electrophoresis and associated microtechniques* (3rd Edition). CRC Press. 2008, 1567 s.
- [6] HERR, A.E., MOLHO, J.L., SANTIAGO, J.G., MUNGAL, M.G., KENNY, T.W. *Electroosmotic capillary flow with nonuniform zeta potential*. Analytical Chemistry. 2000, 72, 1053-1057 s.
- [7] <http://docplayer.cz/docs-images/60/44113557/images/38-0.png> [online]. [citováno 9.11.2017]
- [8] SWINNEY, K. BORNHOP, D.J. *Detection in capillary electrophoresis*. Electrophoresis. 2000, 21, 1239-1250 s.
- [9] PAZOUREK, J. *Moderní elektroforetické analytické metody*. 2003. [online] [Citováno 9.11.2017]
Dostupné: <https://faf.vfu.cz/pub-files/ustavy/ustav-chemickyh-leciv/vyuka-predmetu/analyticka-chemie-i-ii/separacni-metody---elektroforeza.pdf>
- [10] CASIOT, C. ALONSO, M. BOISSON, J. DORAND, O. POTIN-GAUTIER, M. *Simultaneous speciation of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water and soil extracts by capillary electrophoresis and UV detection*. Analyst. 1998, 123, 2887-2893 s.
- [11] PAVONIČ, M. *Možnosti využití metod kapilární elektroforézy pro analýzu malých iontů ve vodách*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2002. Výzkum pro praxi. ISBN 80-85900-45-9.

- [12] <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/images/obr10.gif> [online]. [Citováno 14.11.2017]
- [13] TERABE, S., OTSUKA, K., ICHIKAWA, K., TSUCHIYA, A., ANDO, T. *Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries. Analytical chemistry*. 1984, 56, 111-113 s.
- [14] HANCU, G., SIMON B., RUSU A., MIRCIA E., GYÉRESI Á. *Principles of Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography Applied in Pharmaceutical Analysis*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2013;3,1-8 s. doi:10.5681/apb.2013.001.
- [15] VANČURA, L. *Využití micelární elektrokinetické chromatografie pro stanovení nečistot v léčivech*. Rigorózní práce. 2008. 19-21 s.
- [16] <https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/images/obr57.gif> [online] [Citováno 20.11.2017]
- [17] <http://docplayer.cz/docs-images/45/23318606/images/40-0.png> [online] [Citováno 20.11.2017]
- [18] HOLČAPEK, M. Hmotnostní spektrometrie (přednášky). [online] [Citováno 27.11.2017] Dostupné z: <http://holcapek.upce.cz/vyuka-molekul-spektrometrie.php>
- [19] ČERNOHORSKÝ, T., JANDERA, P. *Atomová spektroskopie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 19997. ISBN 80-7194-114-X.
- [20] GLISH, L.G., VACHET, W. R. *The basics of mass spektrometry in the twenty-first century*. *Nature reviews Drug Discovery* 2. 2003, 140-150 s.
- [21] NORKOVÁ, R., JAKLOVÁ DYTRTOVÁ, J., KAŠIČKA, V. *Ionizační techniky a rozhraní pro spojení kapilárních elektromigračních metod s hmotnostně spektrometrickou detekcí*. *Chem. Listy*. 2013,107,949-955 s.
- [22] YANG, L., CHENG, S. L. *Micellar electrokinetic chromatography-mass spektrometry*. *Journal of chromatography A*. 1997, 780, 207-219 s.
- [23] ISOO, K., OTSUKA, K., TERABE, S. *Application of sweeping to micellar electrokinetic chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometric analysis of environmental pollutants*. *Electrophoresis*. 2001, 22, 3426-3432 s.
- [24] NELSON, WM., TANG, Q., HARRATA, AK., LEE, CH. *On-line partial filling micellar electrokinetic chromatography electrospray ionization mass spektrometry*. *Journal of chromatography A*. 1996, 749, 219-226 s.

- [25] QUIRINO, P. J., TERABE, S. *Electrokinetic chromatography*. Journal of chromatography A. 1999,856,465-482 s.
- [26] MUIJSELAR, G. P., OTSUKA, K., TERABE, S. *On-line coupling of partial-filling micellar electrokinetic chromatography with mass spectrometry*. Journal of chromatography A. 1998,802,3-15 s.
- [27] https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/64/Schematic_Diagram_of_CE-ESI-MS_system.jpg [online] [Citováno 27.11.2017]
- [28] EVANS, J. *Nanoparticles reveal themselves to MEKC-ICP-MS*. Electrophoresis. 2014. Dostupné z: <http://www.separationsnow.com/details/news/146a9f3a534/Nanoparticles-reveal-themselves-to-MEKC-ICP-MS.html?&tzcheck=1>
- [29] PETERSON, P., JÖRTÉN-KARLSSON, M., STALEBRO, M. *Direct coupling of micellar electrokinetic chromatography to mass spektrometry using a volatile buffer system based on perfluorooctanoic acid and ammonia*. Electrophoresis. 2003,24, 999-1007 s.
- [30] FUJII, Y., HARADA, K., KOIZUMI, A. *Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) in personal care products and compounding agents*. Chemosphere. 2013,93,538-544 s.
- [31] KIM, M., PARK, MS., SON, J., PERK, I., LEE, HK., KIM, C., RYOO, J., CHOI, KS., LEE, DS. *Perfluoroheptanoic acid affects amphibian embryogenesis by inducing the phosphorylation of ERK and JNK*. Journal of molecular medicine. 2015,36, 1693-1700 s.
- [32] KASUYA, MC., HATANAKA, K. *Cytotoxicity and cellular uptake of perfluorocarboxylic acids*. Journal of fluorine chemistry. 2016,188,1-4 s.
- [33] CIFUENTES, A., BERNAL, JL., DIEZ-MASA, JC. *Determination of critical micelle concentration values using capillary electrophoresis instrumentation*. 1997, 69, 4271-4274 s.
- [34] SIMONS, JH., HARLAND, JW. *The electrochemical process for the production of fluorocarbons .3. from hydrogen fluoride-soluble organic substances*. Journal of the electrochemical Society. 1949, 95, 47-66 s.
- [35] HEKSTER, MF., DE VOOGT, P., *Perfluoroalkylated substances*. Environmental and toxicological chemistry. 2002, 22 s.

- [36] LI, S., ZHANG, G., ZHANG, W., ZHENG, H., ZHU, W., SUN, N., ZHENG, Y., WANG, P. *Microwave enhanced Fenton-like proces for degradation of perfluorooctanoic acid (PFOA) using Pb-BiFeO₃/rGO as heterogeneous catalyst.* Chemical engineering journal. 2017,326,756-764 s.
- [37] STEENLAND, K., FLETCHER, T., SAVITZ, D. *Epidemiologic evidence on the health effects of perfluorooctanoic acid (PFOA).* Environmental health perspectives. 2010,118,1100-1108 s.
- [38] D' EON, J., MABURY, S. *Production of Perluorinated Carboxylic Acids (PFCAs) from the Biotransformation of Polyfluoroalkyl Phosphate Surfactants (PAPS): Exploring Routes of Human Contamination.* Environmental science & technology. 2007,41,4799-4805 s.
- [39] BOUDREA, TM. *Toxicity of Perfluorinated Organic Acids to Selected Freshwater Organisms under Laboratory and Field Conditions.* University of Guelph. 2002.
- [40] BREWER, M. *Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications.* Comprehensive reviews in food science and food safety. 2011,10, 221-274 s.
- [41] ŠÍPEK, S. a kol. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci.* Praha 7: Grada publishing. 2000, 310-320 s. ISBN 80-7169-704-4.
- [42] POSPÍŠIL, J. *Antioxidanty.* Praha: Academia. 1968.
- [43] PLÁTENÍK, J. *Volné radikály, antioxidanty a stárnutí.* Interní medicína pro praxi. 2009,11, 30-33 s.
- [44] DENG, Y., ZHAO, J., LI, SP. *Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acid in Coreopsis tinctoria Nutt. by capillary zone electrophoresis.* Electrophoresis. 2017, 38, 2654-2661 s.
- [45] STALIKAS, CD. *Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids.* J.Sep.Sci. 2007, 30, 3268-3295 s.

PŘÍLOHA 1:
ELEKTROOSMOTICKÝ TOK A POHYBLIVOST MICEL

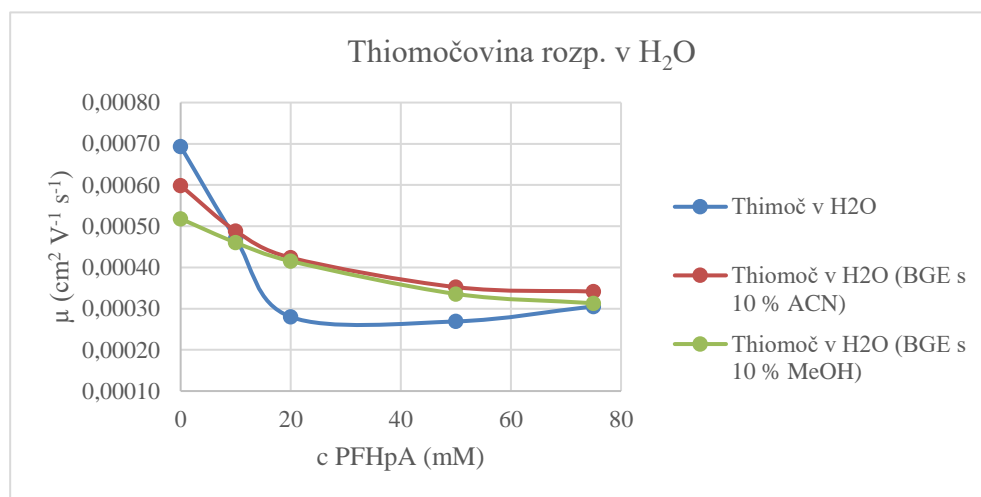
1.2 Elektroosmotický tok

Tabulka 1: Zdánlivá pohyblivost pro thiomocovinu v PFHpA. (n=3)

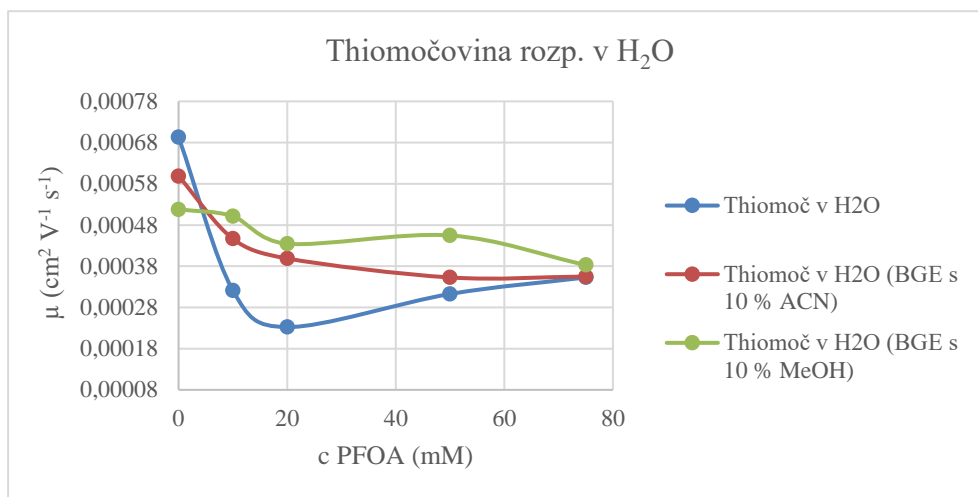
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	Thiomocovina v H ₂ O	Thiomocovina v BGE	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % ACN)	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % MeOH)
0 mM PFHpA	6,93	7,03	5,99	5,18
10 mM PFHpA	4,70	4,03	4,88	4,60
20 mM PFHpA	2,80	3,26	4,24	4,15
50 mM PFHpA	2,69	1,98	3,52	3,36
75 mM PFHpA	3,05	2,32	3,41	3,13

Tabulka 2: Zdánlivá pohyblivost pro thiomocovinu v PFOA. (n=3)

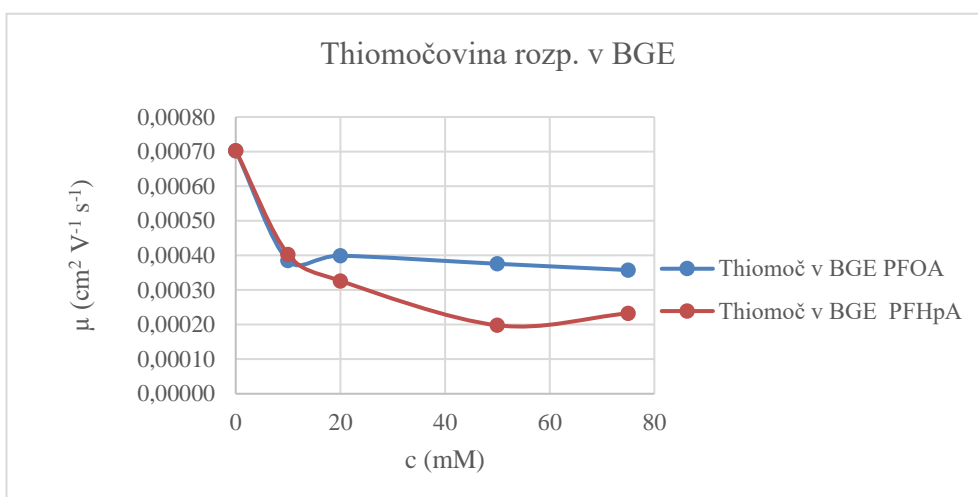
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	Thiomocovina v H ₂ O	Thiomocovina v BGE	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % ACN)	Thiomocovina v H ₂ O (BGE s 10 % MeOH)
0 mM PFHpA	6,93	7,03	5,99	5,18
v 10 mM PFOA	3,21	3,85	4,47	5,01
v 20 mM PFOA	2,32	3,99	3,99	4,35
v 50 mM PFOA	3,13	3,76	3,53	4,55
v 75 mM PFOA	3,53	3,58	3,55	3,83



Graf 1: Závislost zdánlivé pohyblivosti thiomocoviny rozpouštěné v H₂O na koncentraci PFHpA.



Graf 2: Závislost zdánlivé pohyblivosti thiomočoviny rozpouštěné v H₂O na koncentraci PFOA.



Graf 3: Závislost zdánlivé pohyblivosti thiomočoviny rozpouštěné v BGE na koncentraci PFOA a PFHpA.

1.3 Pohyblivost micel

1.3.1 Elektrolyt bez přídavku organického rozpouštědla

Tabulka 3: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel PFHpA bez organického rozpouštědla.

Koncentrace	Migrační čas (min)				
	Pyridin	Acetofenon	Benzofenon	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	2,475	2,482	2,504	x	2,462
10 mM PFHpA	3,425	3,431	3,415	4,017	3,267
20 mM PFHpA	3,500	3,888	3,539	4,347	3,532
50 mM PFHpA	4,330	4,896	4,446	7,405	4,481
75 mM PFHpA	4,739	5,263	5,456	x	5,901

Tabulka 4: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFHpA bez organického rozpouštědla.

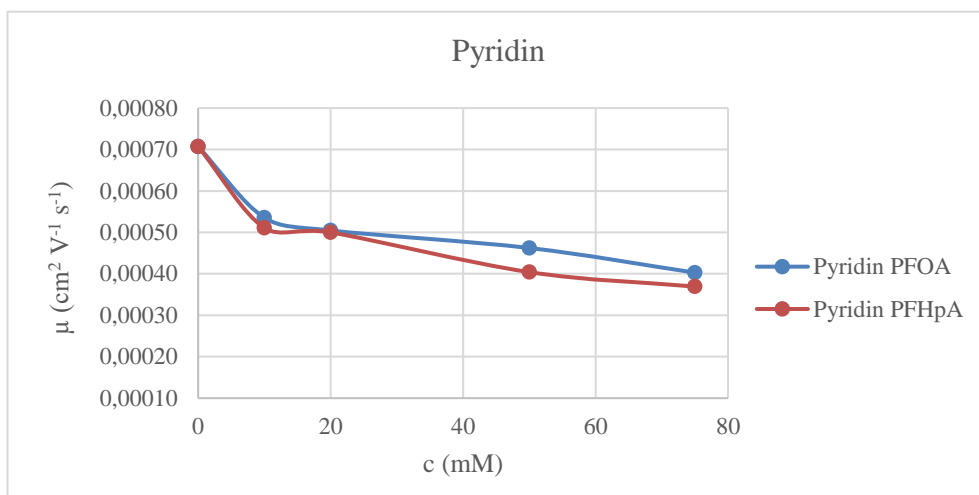
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)				
	Pyridin	Acetofenon	Benzofenon	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	7,07	7,05	6,99	x	7,11
10 mM PFHpA	5,11	5,10	5,12	4,36	5,36
20 mM PFHpA	5,00	4,50	4,94	4,03	4,95
50 mM PFHpA	4,04	3,57	3,94	2,36	3,91
75 mM PFHpA	3,69	3,33	3,21	x	2,97

Tabulka 5: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFOA bez organického rozpouštědla.

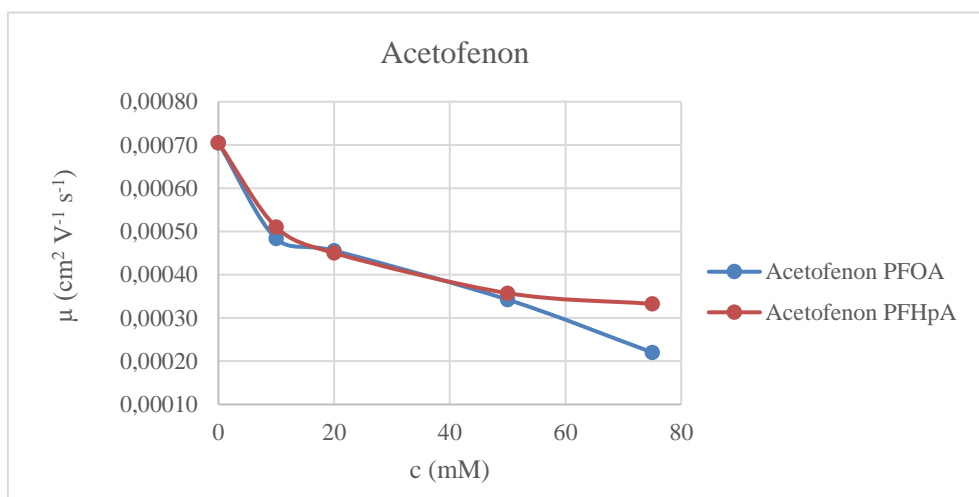
Koncentrace	Migrační čas (min)				
	Pyridin	Acetofenon	Benzofenon	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	2,475	2,482	2,504	x	2,462
10 mM PFOA	3,268	3,620	3,401	3,559	5,144
20 mM PFOA	3,468	3,841	3,738	4,100	7,027
50 mM PFOA	3,785	5,112	7,825	x	7,501
75 mM PFOA	4,344	7,943	10,897	x	4,486

Tabulka 6: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFOA bez organického rozpouštědla.

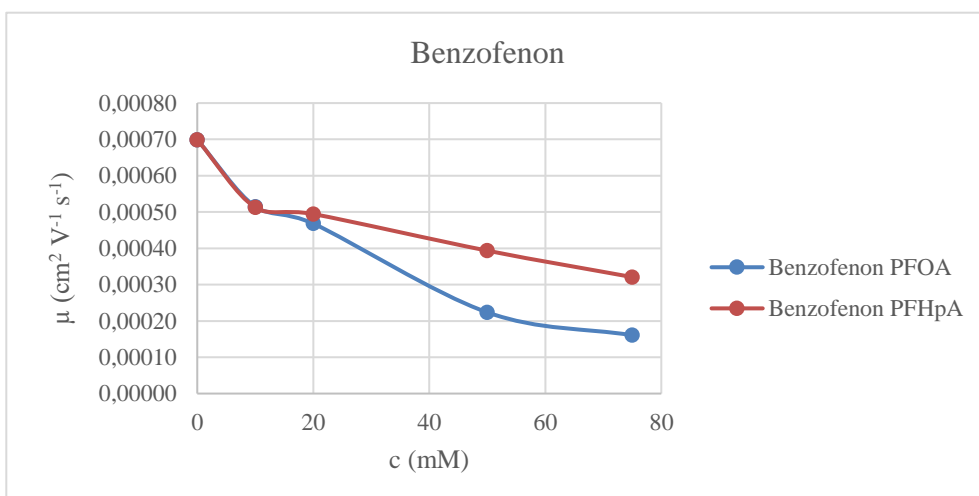
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)				
	Pyridin	Acetofenon	Benzofenon	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	7,07	7,05	6,99	x	7,11
10 mM PFOA	5,35	4,83	5,15	4,92	3,40
20 mM PFOA	5,05	4,56	4,68	4,27	2,49
50 mM PFOA	4,62	3,42	2,24	x	2,33
75 mM PFOA	4,03	2,20	1,61	x	3,90



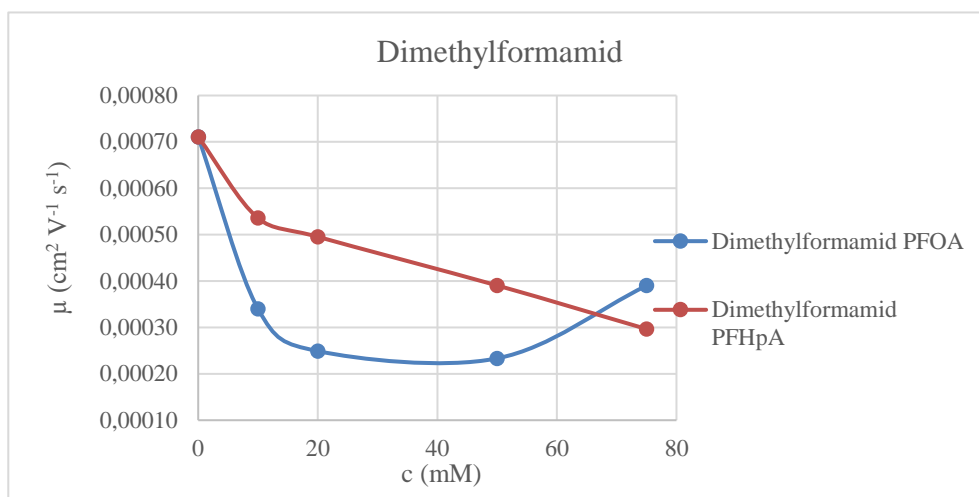
Graf 4: Porovnání chování pyridinu v elektrolytu s PFOA a PFHpA bez organického rozpouštědla.



Graf 5: Porovnání chování acetofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA bez organického rozpouštědla.



Graf 6: Porovnání chování benzofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA bez organického rozpouštědla.



Graf 7: Porovnání chování dimethylformamidu v elektrolytu s PFOA a PFHpA bez organického rozpouštědla.

Tabulka 7: Migrační čas a zdánlivá pohyblivost acenaftenu (rozpuštěný v ACN) v PFHpA bez organického rozpouštědla.

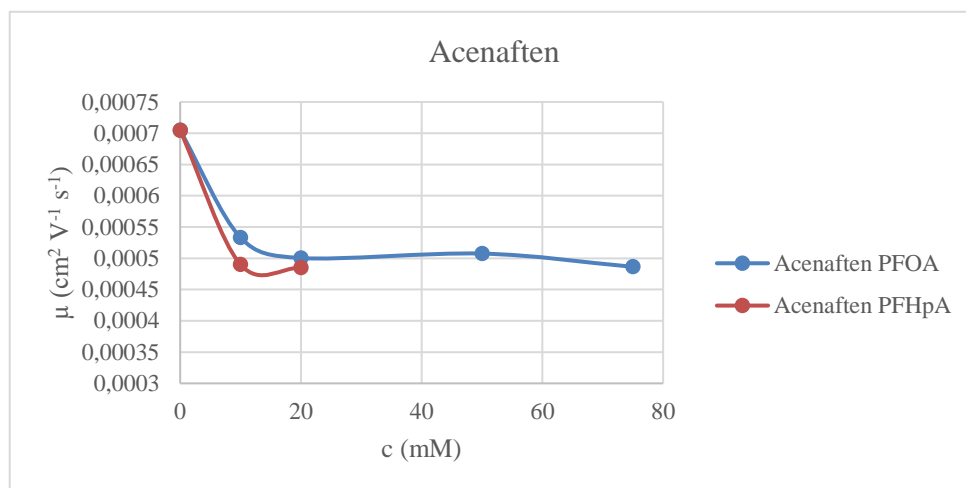
Koncentrace	Migrační čas (min)
	Acenaften
0 mM PFHpA	2,484
10 mM PFHpA	3,571
20 mM PFHpA	3,610
50 mM PFHpA	x
75 mM PFHpA	

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost (*10 ⁻⁴ cm ² V ⁻¹ s ⁻¹)
	Acenaften
0 mM PFHpA	7,05
10 mM PFHpA	4,90
20 mM PFHpA	4,85
50 mM PFHpA	x
75 mM PFHpA	

Tabulka 8: Migrační čas a zdánlivá pohyblivost acenaftenu (rozpuštěný v ACN) v PFOA bez organického rozpouštědla.

Koncentrace	Migrační čas (min)
	Acenaften
0 mM PFOA	2,484
10 mM PFOA	3,282
20 mM PFOA	3,497
50 mM PFOA	3,448
75 mM PFOA	3,598

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost (* 10 ⁻⁴ cm ² V ⁻¹ s ⁻¹)
	Acenaften
0 mM PFOA	7,05
10 mM PFOA	5,33
20 mM PFOA	5,00
50 mM PFOA	5,08
75 mM PFOA	4,86



Graf: 8: Porovnání chování acenaftenu v elektrolytu s PFOA a PFHpA bez organického rozpouštědla.

1.3.2 Elektrolyt s obsahem 10 % ACN

Tabulka 9: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFHpA s obsahem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas (min)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	2,847	2,855	2,879	2,862	x	2,930
10 mM PFHpA	3,699	4,079	4,989	8,814	x	3,676
20 mM PFHpA	4,217	5,049	5,744	5,402	x	4,457
50 mM PFHpA	5,797	6,443	7,832	6,753	x	5,628
75 mM PFHpA	6,920	8,152	9,877	9,471	x	6,404

Tabulka 10: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFHpA s obsahem 10 % ACN.

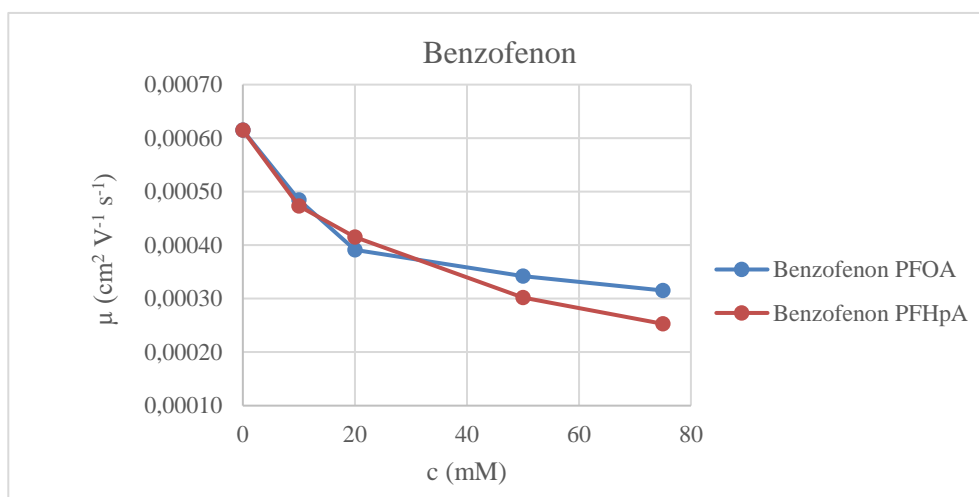
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	6,15	6,13	6,08	6,11	x	5,97
10 mM PFHpA	4,73	4,29	3,51	1,99	x	4,76
20 mM PFHpA	4,15	3,47	3,05	3,24	x	3,93
50 mM PFHpA	3,02	2,72	2,23	2,59	x	3,11
75 mM PFHpA	2,53	2,15	1,77	1,85	x	2,73

Tabulka 11: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFOA s obsahem 10 % ACN.

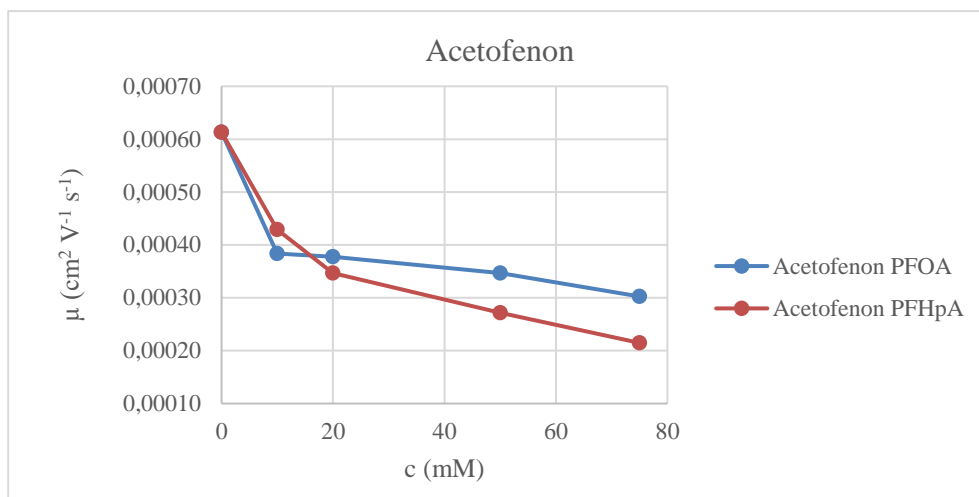
Koncentrace	Migrační čas (min)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	2,847	2,855	2,879	2,862	x	2,930
10 mM PFOA	3,614	4,562	6,868	9,105	x	3,632
20 mM PFOA	4,476	4,637	6,548	7,961	x	4,123
50 mM PFOA	5,112	5,051	5,641	7,095	x	4,868
75 mM PFOA	5,552	5,785	5,858	8,006	x	5,509

Tabulka 12: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFOA s obsahem 10 % ACN.

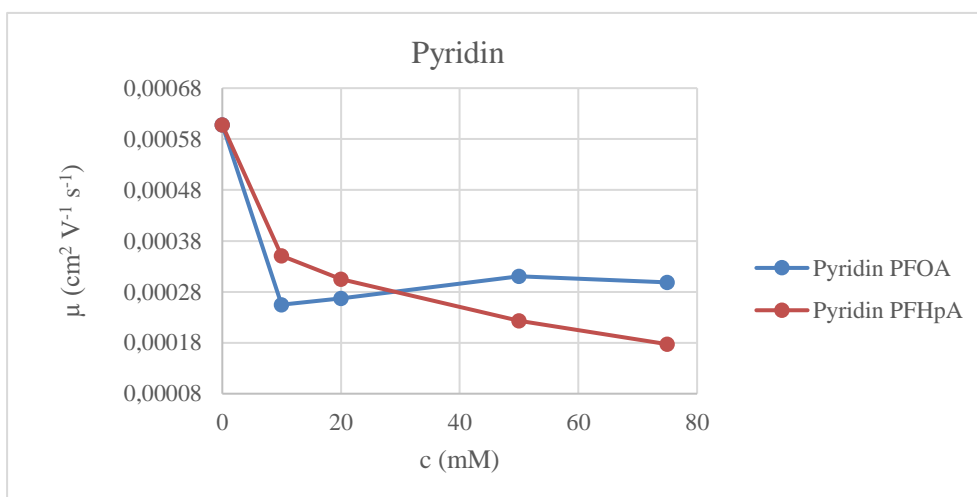
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	6,15	6,13	6,08	6,11	x	5,97
10 mM PFOA	4,84	3,84	2,55	1,92	x	4,82
20 mM PFOA	3,91	3,77	2,67	2,20	x	4,24
50 mM PFOA	3,42	3,46	3,10	2,47	x	3,59
75 mM PFOA	3,15	3,03	2,99	2,19	x	3,18



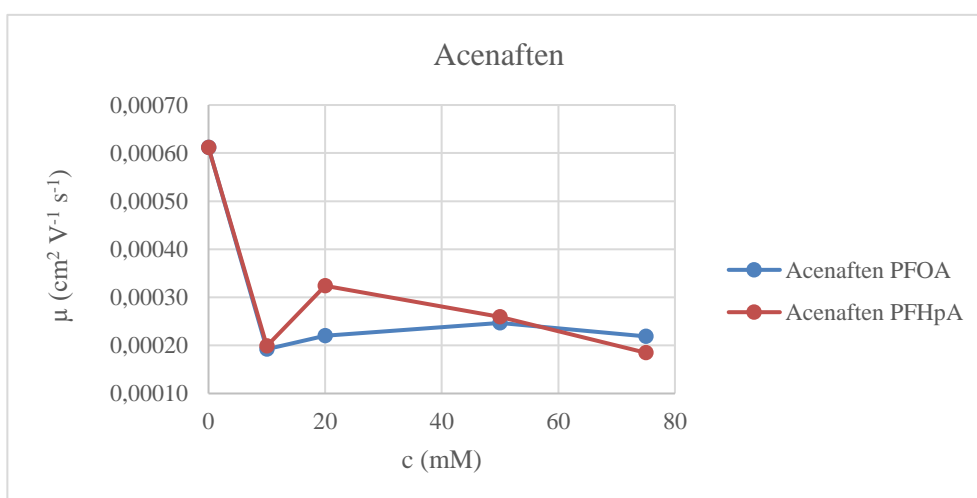
Graf 9: Porovnání chování benzofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



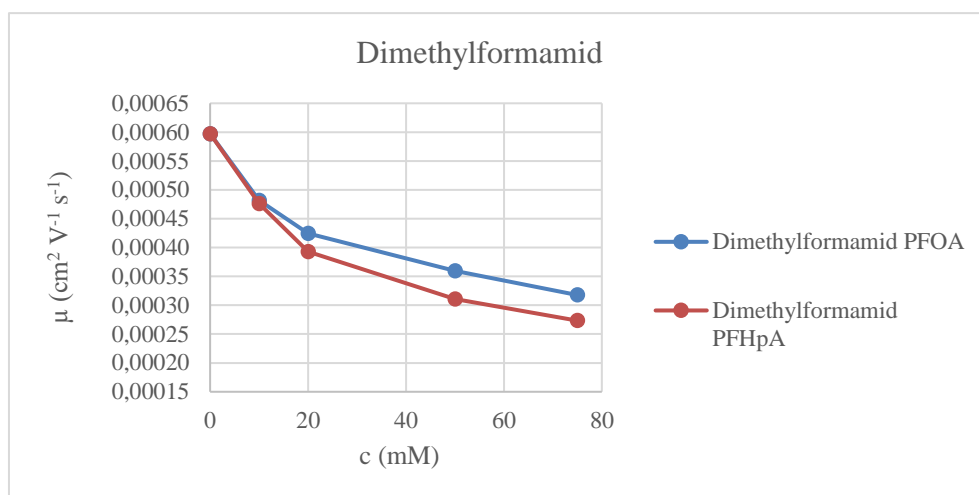
Graf 10: Porovnání chování acetofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 11: Porovnání chování pyridinu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 12: Porovnání chování acenaftenu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 13: Porovnání chování dimethylformamidu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

1.3.3 Elektrolyt s obsahem 10 % MeOH

Tabulka 13: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Migrační čas (min)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	3,400	3,401	3,407	3,398	x	3,378
10 mM PFHpA	3,836	3,823	3,825	3,841	x	3,821
20 mM PFHpA	4,251	4,263	4,241	4,281	x	4,237
50 mM PFHpA	5,529	5,337	5,235	5,743	x	5,282
75 mM PFHpA	7,288	6,356	5,954	6,854	x	5,769

Tabulka 14: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

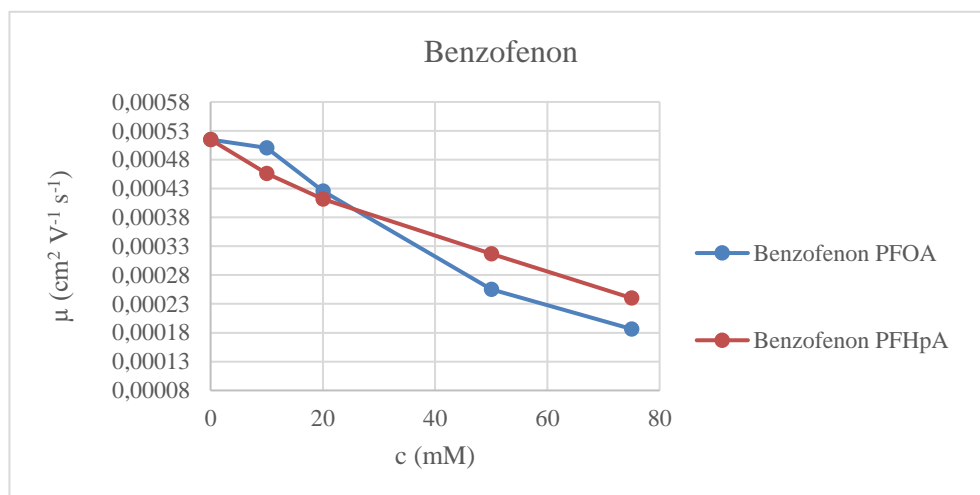
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFHpA	5,15	5,15	5,14	5,15	x	5,18
10 mM PFHpA	4,56	4,58	4,58	4,56	x	4,58
20 mM PFHpA	4,12	4,11	4,13	4,09	x	4,13
50 mM PFHpA	3,17	3,28	3,34	3,05	x	3,31
75 mM PFHpA	2,40	2,75	2,94	2,55	x	3,03

Tabulka 15: Migrační časy látek pro zjištění pohyblivosti micel v PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

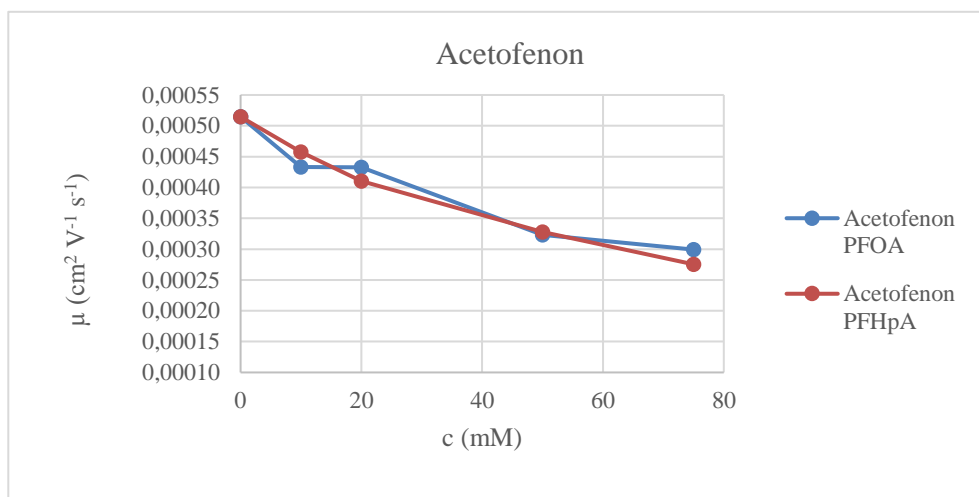
Koncentrace	Migrační čas (min)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	3,400	3,401	3,407	3,398	x	3,378
10 mM PFOA	3,496	4,039	3,475	3,531	x	3,497
20 mM PFOA	4,110	4,043	4,058	4,217	x	4,066
50 mM PFOA	6,860	5,415	4,594	5,789	x	4,573
75 mM PFOA	9,384	5,848	4,975	6,858	x	4,930

Tabulka 16: Zdánlivá pohyblivost látek pro zjištění pohyblivosti micel v BGE s přidavkem 10 % MeOH.

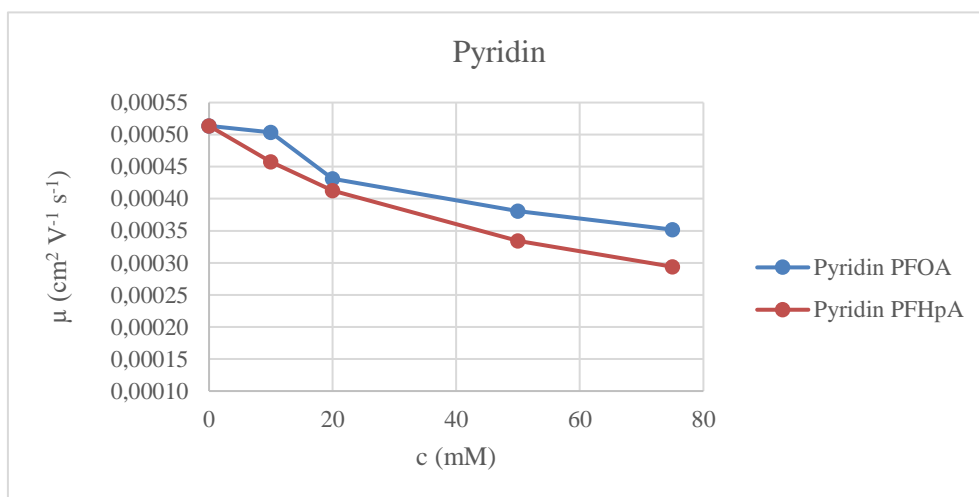
Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	Benzofenon	Acetofenon	Pyridin	Acenaften	Aceton	Dimethylformamid
0 mM PFOA	5,15	5,15	5,14	5,15	x	5,18
10 mM PFOA	5,01	4,33	5,04	4,96	x	5,00
20 mM PFOA	4,26	4,33	4,31	4,15	x	4,30
50 mM PFOA	2,55	3,23	3,81	3,02	x	3,83
75 mM PFOA	1,86	2,99	3,52	2,55	x	3,55



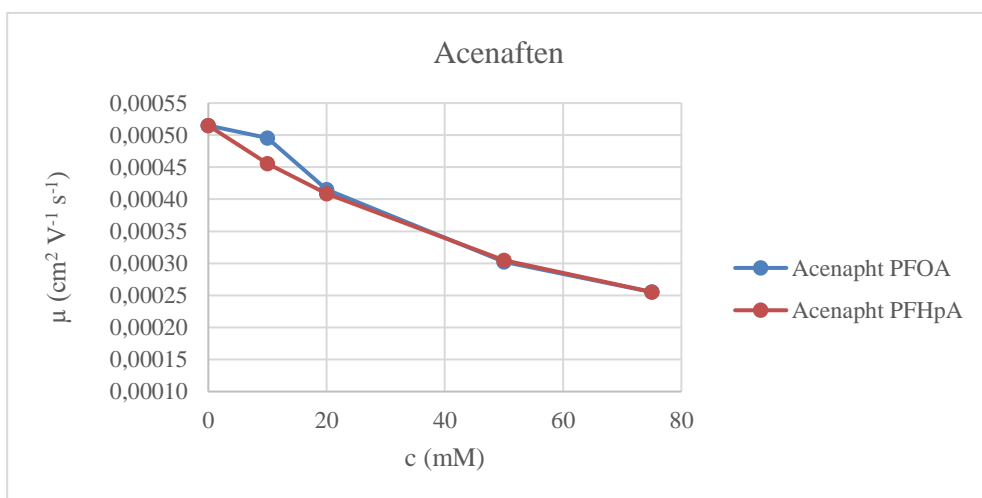
Graf 14: Porovnání chování benzofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



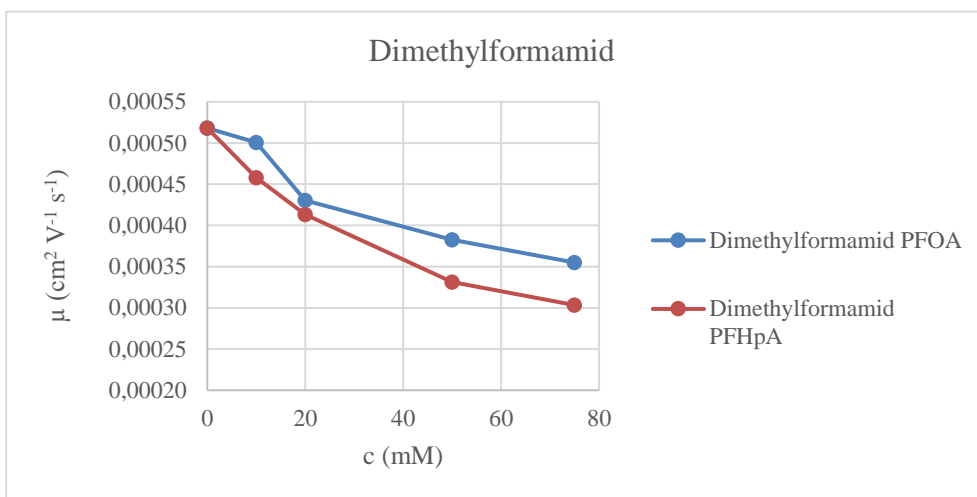
Graf 15: Porovnání chování acetofenonu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 16: Porovnání chování pyridinu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 17: Porovnání chování acenaftenu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 18: Porovnání chování dimethylformamidu v elektrolytu s PFOA a PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

PŘÍLOHA 2:
PERFLUOROHEPTANOVÁ KYSELINA

2.1 Fenolické kyseliny

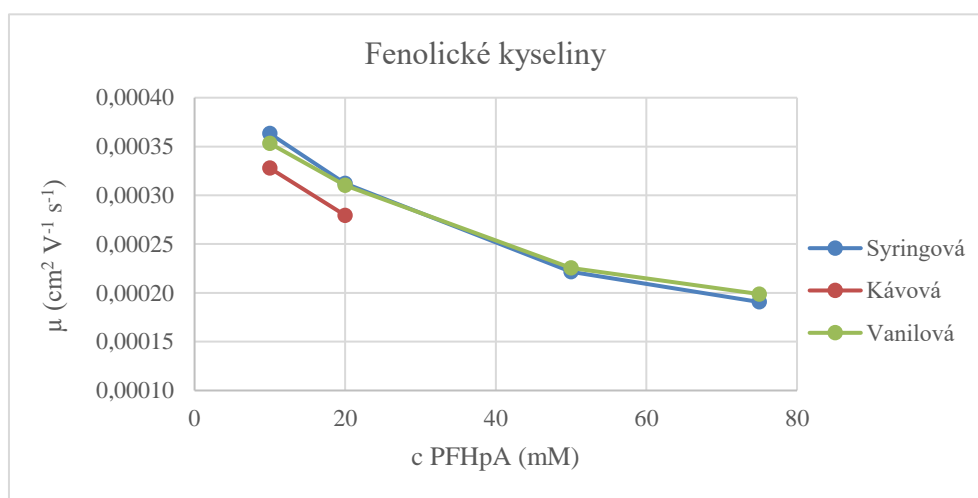
2.1.1 Fenolické kyseliny bez přísadků organického rozpouštědla

Tabulka 17: Migrační časy fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA.

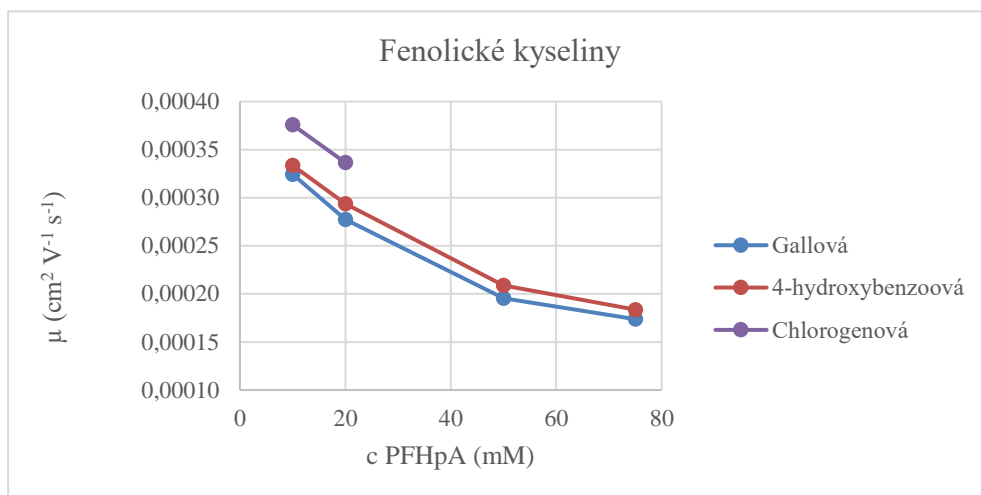
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	4,819	5,607	7,900	9,180
Káвовá kyselina	5,339	6,262	x	x
Vanilová kyselina	4,956	5,644	7,757	8,804
Chlorogenová kyselina	4,657	5,201	x	x
Gallová kyselina	5,395	6,312	8,961	10,074
4-hydroxybenzoová kyselina	5,245	5,962	8,381	9,531
Salicylová kyselina	5,668	6,481	9,681	x
p-kumarová kyselina	5,259	5,879	7,995	9,162
Ferulová kyselina	4,956	5,455	7,251	8,191

Tabulka 18: Zdánlivá pohyblivost fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA.

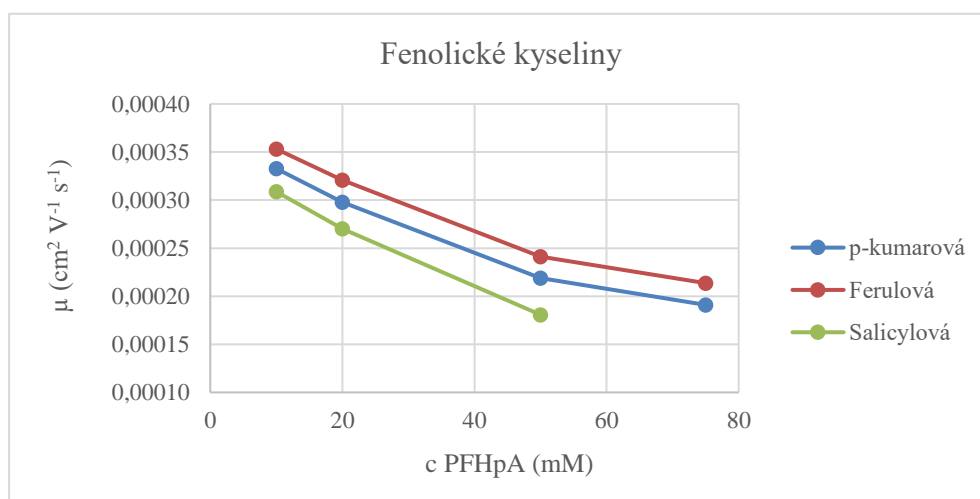
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	3,63	3,12	2,22	1,91
Káвовá kyselina	3,28	2,79	x	x
Vanilová kyselina	3,53	3,10	2,26	1,99
Chlorogenová kyselina	3,76	3,36	x	x
Gallová kyselina	3,24	2,77	1,95	1,74
4-hydroxybenzoová kyselina	3,34	2,94	2,09	1,84
Salicylová kyselina	3,09	2,70	1,81	x
p-kumarová kyselina	3,33	2,98	2,19	1,91
Ferulová kyselina	3,53	3,21	2,41	2,14



Graf 19: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA.



Graf 20: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA.



Graf 21: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA.

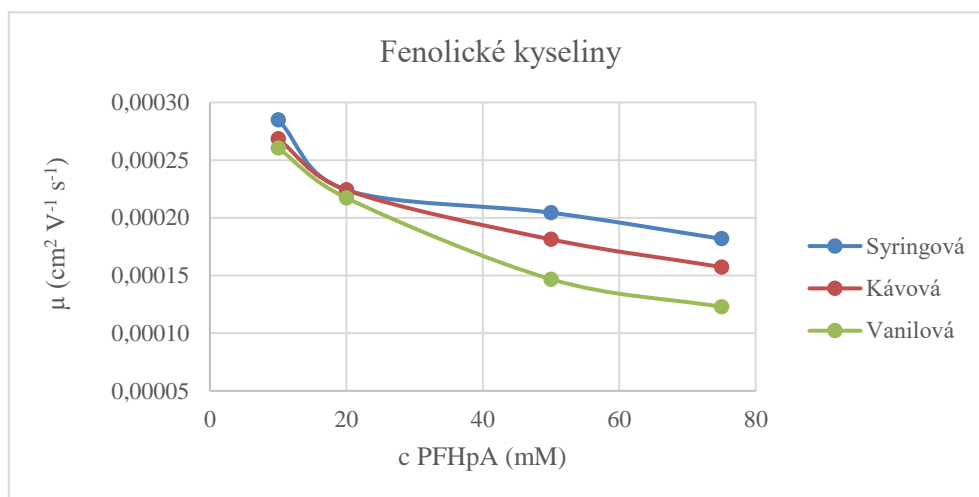
2.1.2 Fenolické kyseliny s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 19: Migrační časy fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

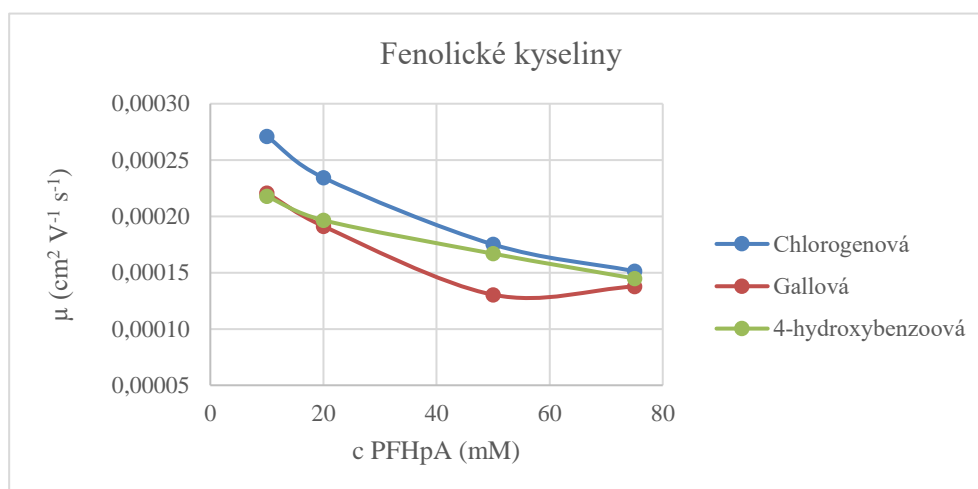
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	6,141	7,807	8,561	9,625
Kávoová kyselina	6,521	7,810	9,653	11,123
Vanilová kyselina	6,718	8,055	11,921	14,246
Chlorogenová kyselina	6,455	7,468	9,997	11,566
Gallová kyselina	7,928	9,151	13,420	12,710
4-hydroxybenzoová kyselina	8,035	8,905	10,489	12,086
Salicylová kyselina	8,942	9,779	12,789	15,547
p-kumarová kyselina	6,898	7,305	10,136	10,566
Ferulová kyselina	7,604	7,628	10,376	11,531

Tabulka 20: Zdánlivá pohyblivost fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % ACN

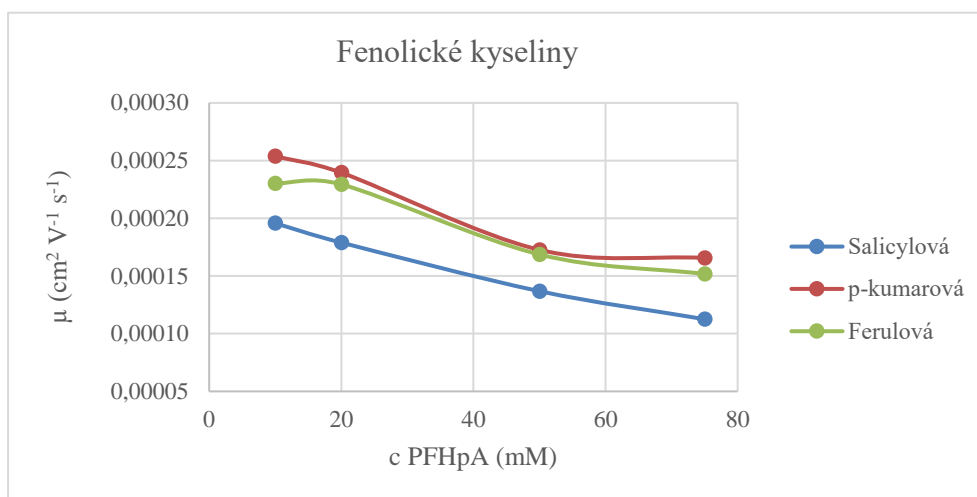
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	2,85	2,24	2,04	1,82
Kávová kyselina	2,68	2,24	1,81	1,57
Vanilová kyselina	2,60	2,17	1,47	1,23
Chlorogenová kyselina	2,71	2,34	1,75	1,51
Gallová kyselina	2,21	1,91	1,30	1,38
4-hydroxybenzoová kyselina	2,18	1,97	1,67	1,45
Salicylová kyselina	1,96	1,79	1,37	1,13
p-kumarová kyselina	2,54	2,40	1,73	1,66
Ferulová kyselina	2,30	2,29	1,69	1,52



Graf 22: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 23: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 24: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

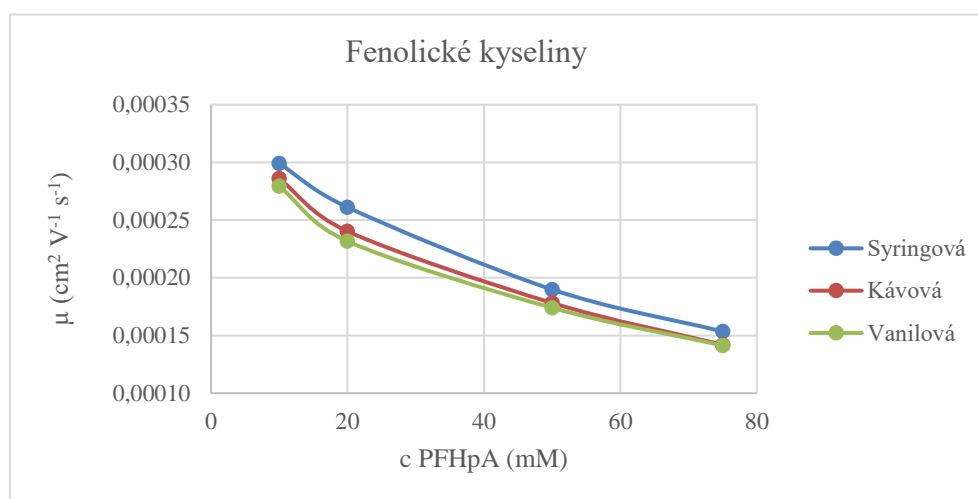
2.1.3 Fenolické kyseliny s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 21: Migrační časy fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

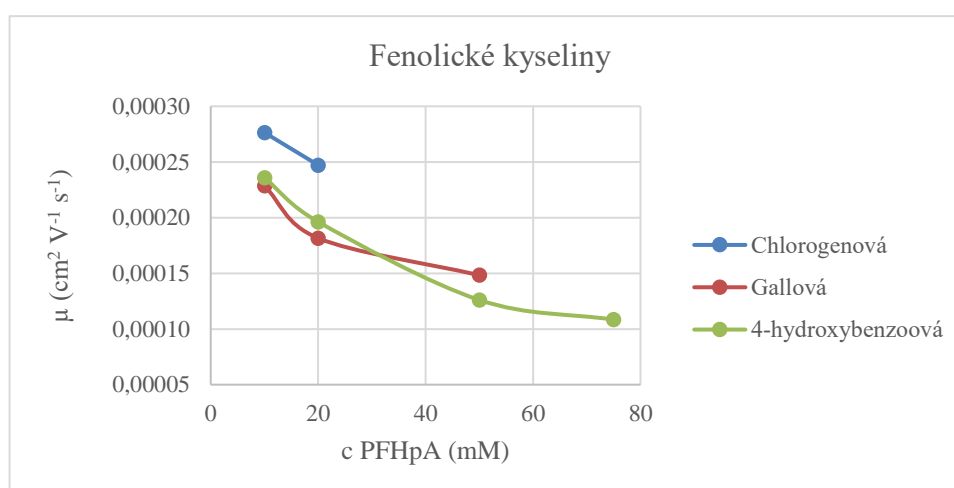
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	5,851	6,703	9,218	11,408
Káвовá kyselina	6,119	7,283	9,823	12,332
Vanilová kyselina	6,265	7,555	10,059	12,383
Chlorogenová kyselina	6,331	7,079	x	x
Gallová kyselina	7,657	9,636	11,799	x
4-hydroxybenzoová kyselina	7,416	8,918	13,885	16,145
Salicylová kyselina	8,082	9,871	17,665	21,205
p-kumarová kyselina	6,472	7,640	11,099	12,383
Ferulová kyselina	5,921	6,917	9,633	10,603

Tabulka 22: Zdánlivá pohyblivost fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

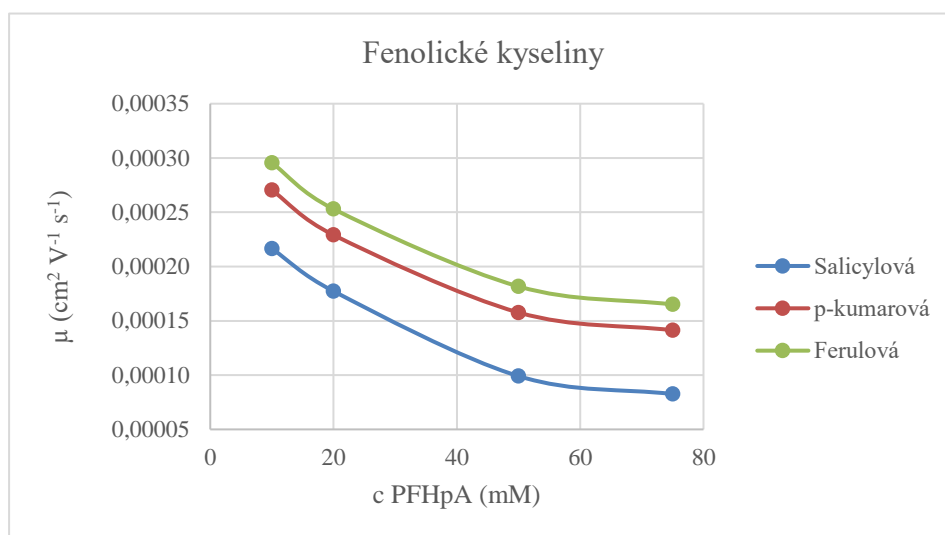
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Syringová kyselina	2,99	2,61	1,90	1,53
Kávová kyselina	2,86	2,40	1,78	1,42
Vanilová kyselina	2,79	2,32	1,74	1,41
Chlorogenová kyselina	2,76	2,47	x	x
Gallová kyselina	2,29	1,82	1,48	x
4-hydroxybenzoová kyselina	2,36	1,96	1,26	1,08
Salicylová kyselina	2,17	1,77	0,99	0,83
p-kumarová kyselina	2,70	2,29	1,58	1,41
Ferulová kyselina	2,96	2,53	1,82	1,65



Graf 25: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 26: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



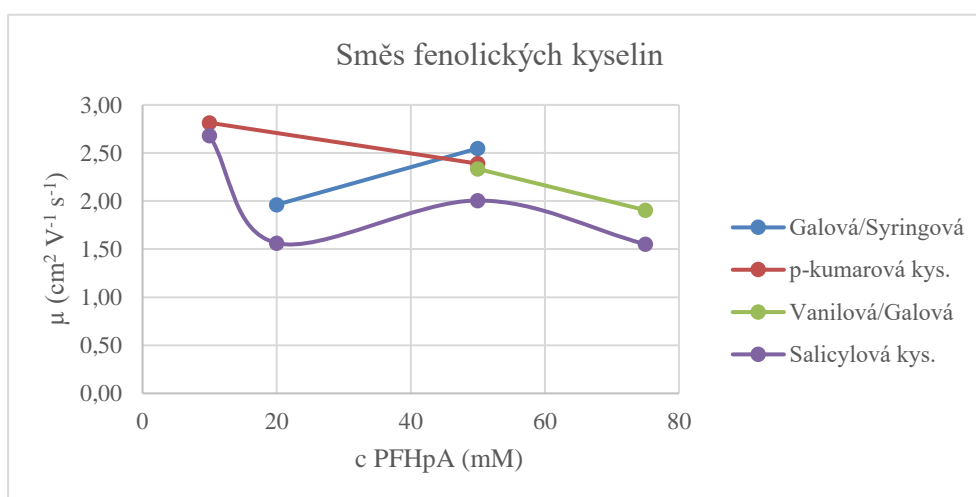
Graf 27: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

2.1.4 Směs fenolických kyselin

2.1.4.1 Směs fenolických kyselin bez organického rozpouštědla

Tabulka 23: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík
10 mM PFHpA	2,98	2,81	2,75	2,68	2,59	x
20 mM PFHpA	1,96	1,80	1,72	1,56	x	x
50 mM PFHpA	2,55	2,39	2,33	2,20	2,15	2,01
75 mM PFHpA	2,12	1,97	1,91	1,71	1,55	x

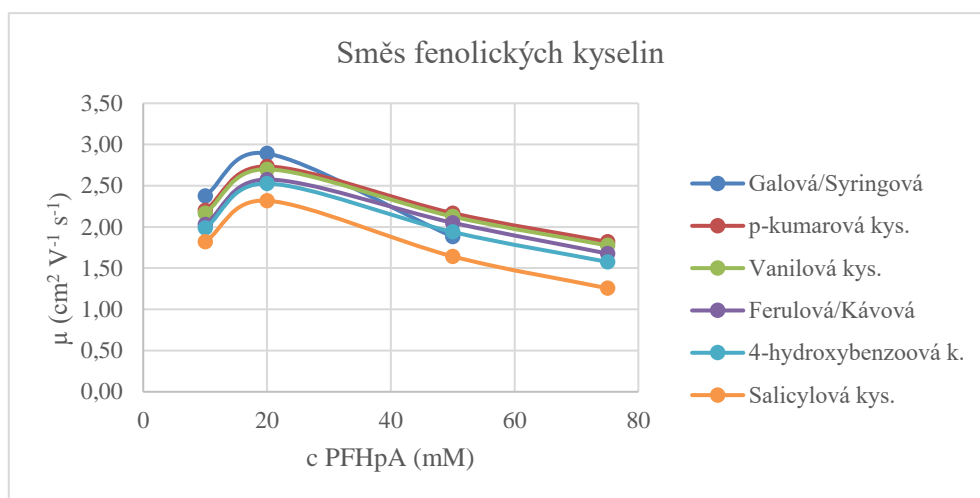


Graf 28: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFHpA.

2.1.4.2 Směs fenolických kyselin s přídavkem 10 % ACN

Tabulka 24: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFHpA	2,38	2,20	2,17	2,03	1,99	1,82	x
20 mM PFHpA	2,89	2,73	2,70	2,58	2,53	2,39	2,32
50 mM PFHpA	2,31	2,17	2,13	2,05	1,94	1,88	1,64
75 mM PFHpA	1,98	1,82	1,78	1,68	1,58	1,26	x

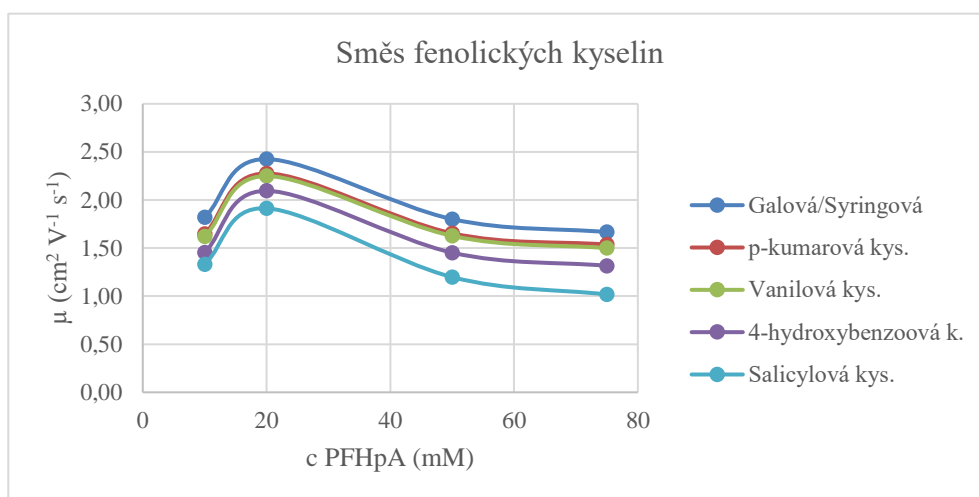


Graf 29: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFHpA s přídavkem 10 % ACN.

2.1.4.3 Směs fenolických kyselin s přídavkem 10 % MeOH

Tabulka 25: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti fenolických kyselin v elektrolytu PFHpA s přídavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFHpA	1,82	1,65	1,62	1,53	1,45	1,33	x
20 mM PFHpA	2,43	2,28	2,25	2,15	2,10	2,01	1,91
50 mM PFHpA	1,80	1,65	1,63	1,55	1,45	1,20	x
75 mM PFHpA	1,67	1,54	1,50	1,44	1,32	1,02	x



Graf 30: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

2.2 Flavony

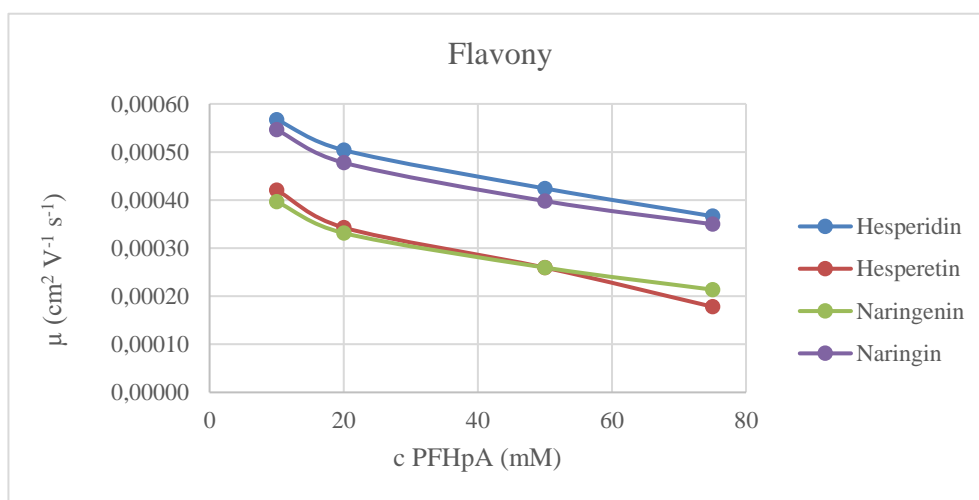
2.2.1 Flavony bez příměsí organického rozpouštědla

Tabulka 26: Migrační časy flavonů v elektrolytu PFHpA.

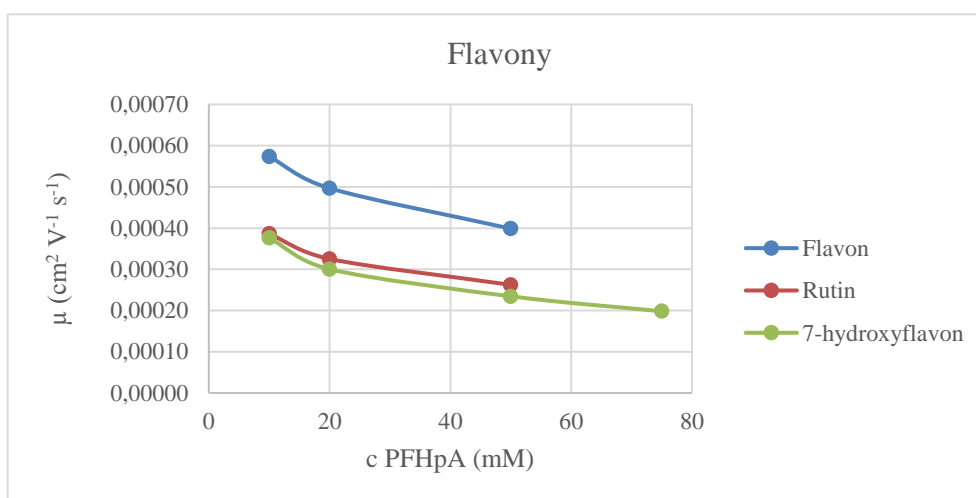
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	3,085	3,473	4,126	4,775
Hesperetin	4,159	5,104	6,744	9,822
Naringenin	4,411	5,281	6,741	8,190
Naringin	3,204	3,663	4,397	5,004
Flavon	3,051	3,523	4,389	x
Rutin	4,532	5,381	6,674	x
7-hydroxyflavon	4,653	5,826	7,463	8,834
4-hydroxykumarin	5,918	7,621	10,691	13,634
Katechin	4,228	4,835	5,525	x
Epikatechin	4,418	5,354	7,384	x
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 27: Zdánlivá pohyblivost flavonů v elektrolytu PFHpA.

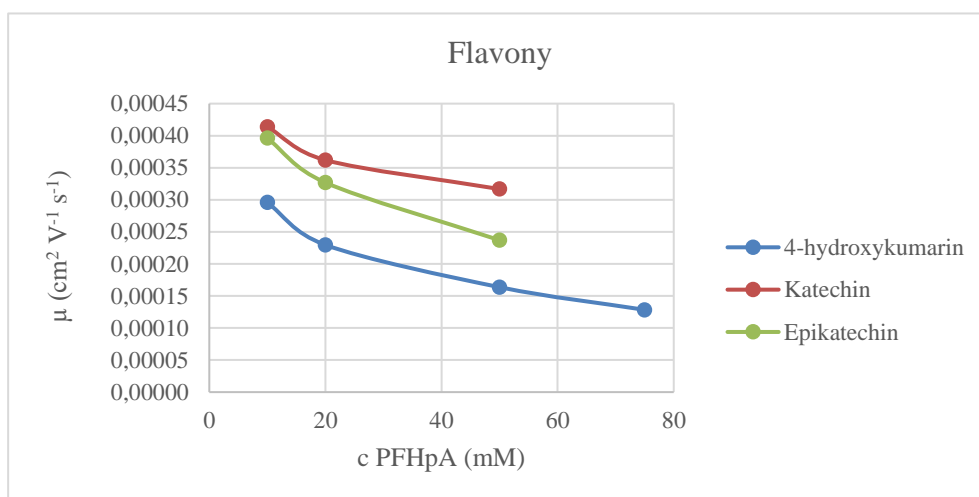
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	5,67	5,04	4,24	3,66
Hesperetin	4,21	3,43	2,59	1,78
Naringenin	3,97	3,31	2,60	2,14
Naringin	5,46	4,78	3,98	3,50
Flavon	5,74	4,97	3,99	x
Rutin	3,86	3,25	2,62	x
7-hydroxyflavon	3,76	3,00	2,34	1,98
4-hydroxykumarin	2,96	2,30	1,64	1,28
Katechin	4,14	3,62	3,17	x
Epikatechin	3,96	3,27	2,37	x
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 31: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA.



Graf 32: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA.



Graf 33: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA.

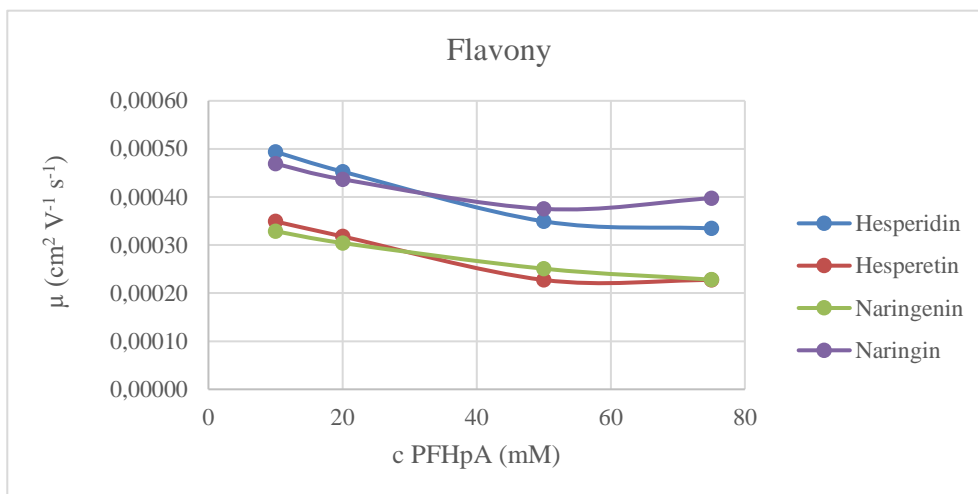
2.2.2 Flavony s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 28: Migrační časy flavonů v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

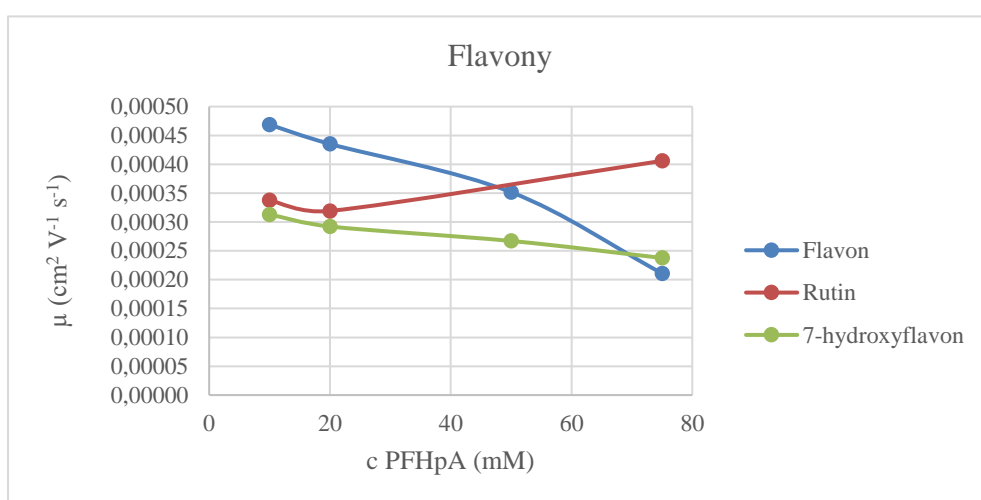
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	3,543	3,865	5,009	5,229
Hesperetin	5,012	5,504	7,694	7,696
Naringenin	5,322	5,751	6,975	7,671
Naringin	3,729	4,006	4,663	4,403
Flavon	3,734	4,021	4,976	8,297
Rutin	5,181	5,484	x	4,311
7-hydroxyflavon	5,590	5,989	6,552	7,364
4-hydroxykumarin	7,230	7,783	9,095	9,107
Katechin	4,133	4,322	4,556	4,666
Epikatechin	4,103	4,273	4,401	4,361
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 29: Zdánlivá pohyblivost flavonů v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

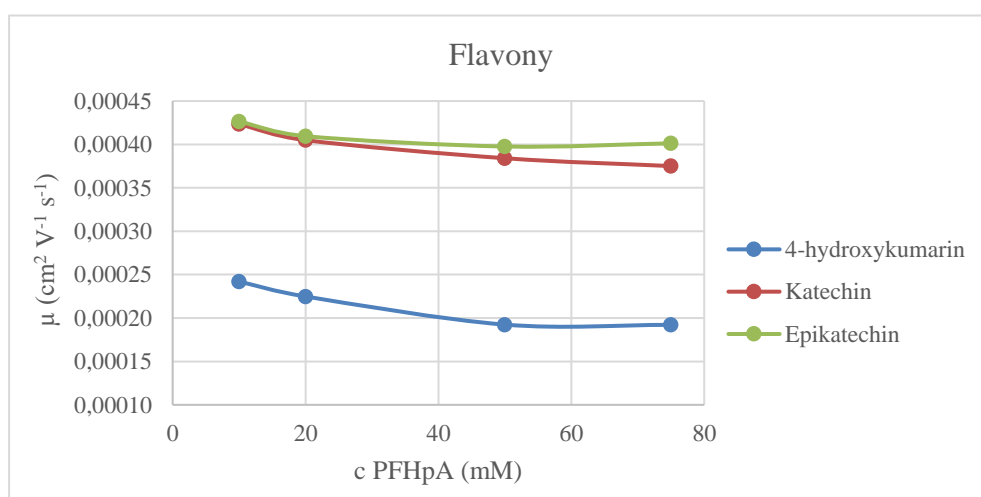
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	4,94	4,53	3,49	3,35
Hesperetin	3,49	3,18	2,27	2,27
Naringenin	3,29	3,04	2,51	2,28
Naringin	4,69	4,37	3,75	3,97
Flavon	4,69	4,35	3,52	2,11
Rutin	3,38	3,19	x	4,06
7-hydroxyflavon	3,13	2,92	2,67	2,38
4-hydroxykumarin	2,42	2,25	1,92	1,92
Katechin	4,23	4,05	3,84	3,75
Epikatechin	4,27	4,10	3,98	4,01
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 34: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 35: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 36: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

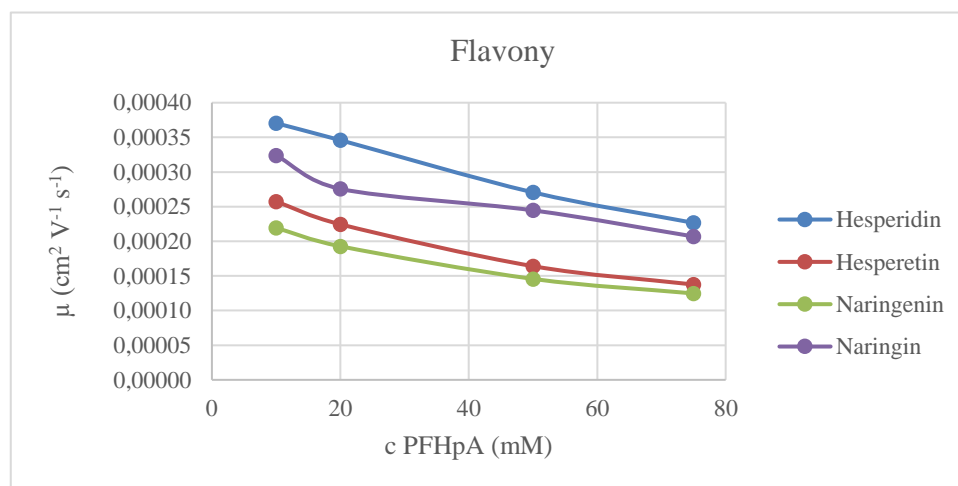
2.2.3 Flavony s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 30: Migrační časy flavonů v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

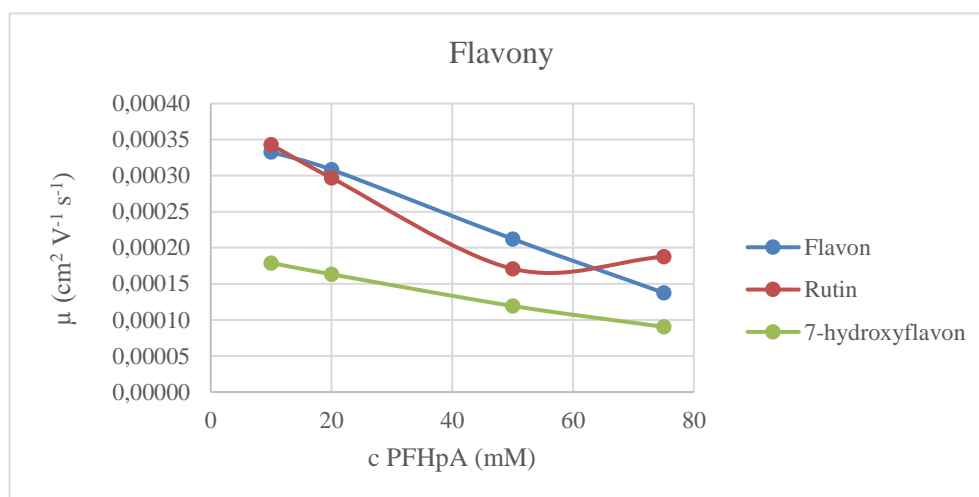
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	4,724	5,059	6,467	7,723
Hesperetin	6,798	7,796	10,668	12,722
Naringenin	7,975	9,078	12,013	14,031
Naringin	5,402	6,349	7,154	8,458
Flavon	5,260	5,674	8,246	12,708
Rutin	5,103	5,893	10,238	9,325
7-hydroxyflavon	9,779	10,718	14,663	19,354
4-hydroxykumarin	6,316	7,259	16,578	12,950
Katechin	7,459	7,323	7,298	x
Epikatechin	3,852	4,391	6,254	5,804
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 31: Zdánlivá pohyblivost flavonů v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

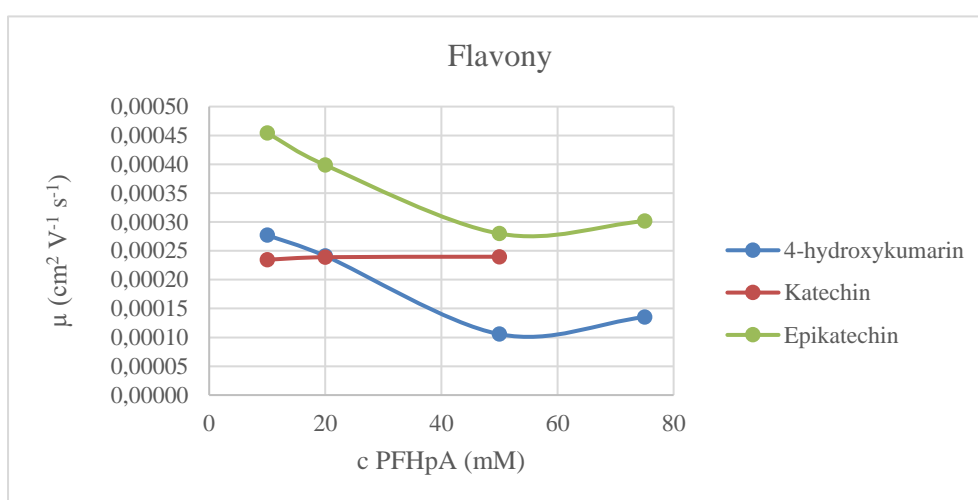
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFHpA	20 mM PFHpA	50 mM PFHpA	75 mM PFHpA
Hesperidin	3,70	3,46	2,71	2,27
Hesperetin	2,57	2,24	1,64	1,38
Naringenin	2,19	1,93	1,46	1,25
Naringin	3,24	2,76	2,45	2,07
Flavon	3,33	3,08	2,12	1,38
Rutin	3,43	2,97	1,71	1,88
7-hydroxyflavon	1,79	1,63	1,19	0,90
4-hydroxykumarin	2,77	2,41	1,06	1,35
Katechin	2,35	2,39	2,40	x
Epikatechin	4,54	3,99	2,80	3,02
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 37: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 38: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.



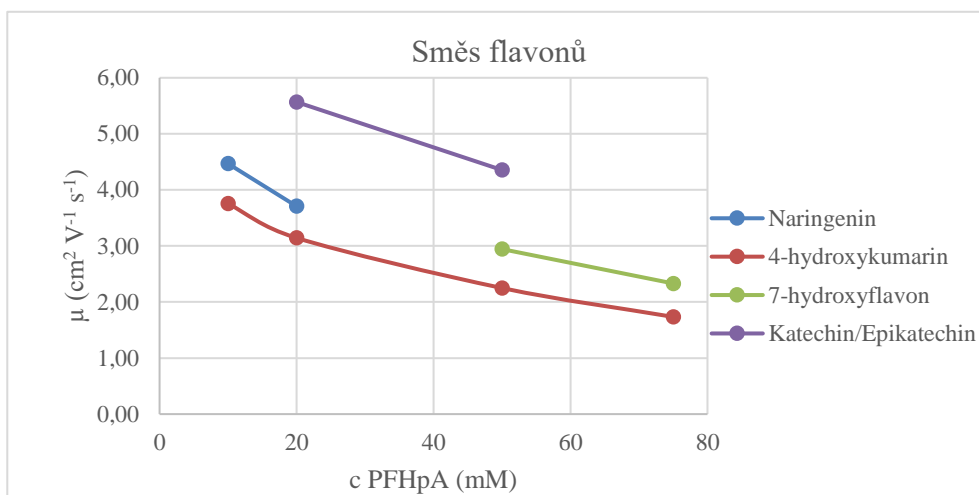
Graf 39: Závislost μ standardů flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

2.2.4 Směs flavonů

2.2.4.1 Směs flavonů bez přidavku organického rozpouštědla

Tabulka 32: Zdánlivá pohyblivost směsi deseti flavonů v elektrolytu PFHpA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)								
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík
10 mM PFHpA	6,16	4,60	4,49	4,47	3,75	x	x	x	x
20 mM PFHpA	5,57	3,83	3,71	3,14	x	x	x	x	x
50 mM PFHpA	4,35	4,18	3,09	2,99	2,94	2,87	2,25	x	x
75 mM PFHpA	4,13	4,04	2,72	2,58	2,53	2,45	2,34	2,33	1,73

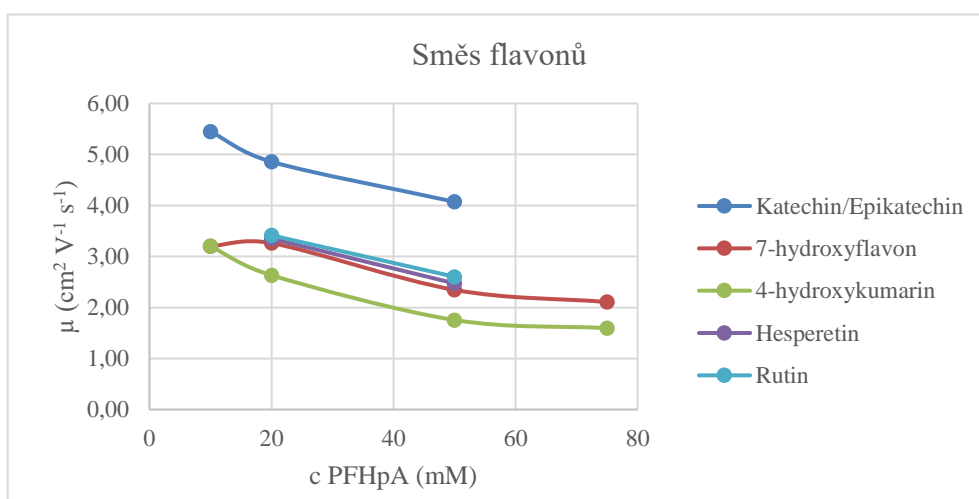


Graf 40: Závislost μ směsi flavonů na c PFHpA.

2.2.4.2 Směs flavonů s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 33: Zdánlivá pohyblivost směsi deseti flavonů v elektrolytu PFHpA s příměsí 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFHpA	5,45	3,88	3,81	3,20	x	x	x
20 mM PFHpA	4,86	4,75	3,41	3,35	3,26	2,63	x
50 mM PFHpA	4,07	3,23	2,60	2,47	2,36	2,35	1,75
75 mM PFHpA	2,54	2,32	2,27	2,19	2,11	1,60	x

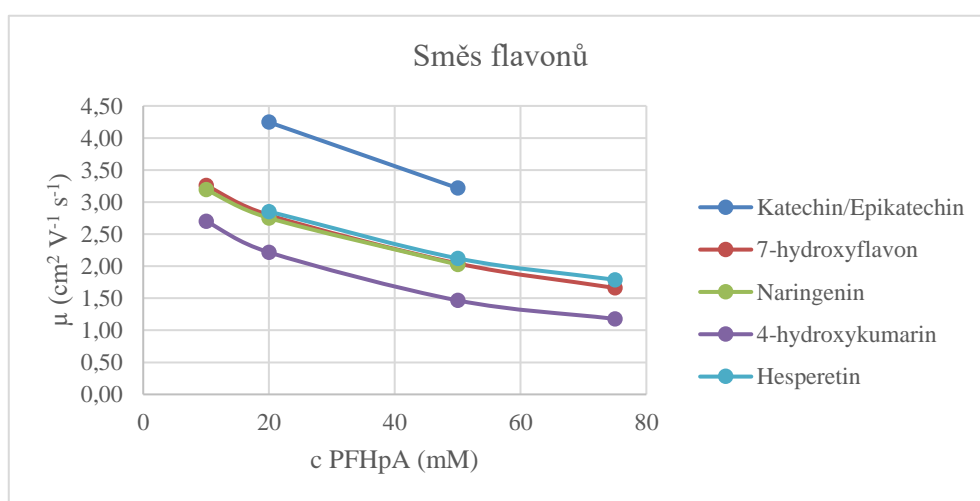


Graf 41: Závislost μ směsi flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

2.2.4.3 Směs flavonů s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 34: Zdánlivá pohyblivost směsí deseti flavonů v elektrolytu PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFHpA	4,75	3,29	3,26	3,19	2,70	x	x
20 mM PFHpA	4,25	2,92	2,85	2,80	2,75	2,22	x
50 mM PFHpA	3,22	2,87	2,25	2,12	2,04	2,02	1,47
75 mM PFHpA	3,27	2,78	1,92	1,79	1,71	1,66	1,18



Graf 42: Závislost μ směsi flavonů na c PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

2.3 Celková směs fenolických kyselin a flavonů

2.3.1.1 Celková směs fenolických kyselin a flavonů bez organického rozpouštědla

Tabulka 35: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	2,730	x	2,879	Kat./Epikat.	3,674	x	3,771	Naringenin
20 mM PFHpA	2,891	x	4,005	x	4,115	Naringenin	4,642	x
50 mM PFHpA	3,735	Kat./Epikat.	3,803	Flavon	5,098	Rutin	5,211	x
75 mM PFHpA	7,774	x	7,836	x	7,971	x	8,086	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	4,222	x	4,331	4-HK	4,386	p-kumarová k.	4,458	Vanilová k.
20 mM PFHpA	4,831	4-HK	4,931	Vanil./Galová	5,135	Ferul./Kávová	5,197	4-HB
50 mM PFHpA	5,266	7-hydroxyfl.	5,397	Naringenin	6,206	x	6,591	p-kumarová k.
75 mM PFHpA	12,109	x	13,728	x	x		x	

Koncentrace	Migrační čas píku (min)									
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík		13. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	4,655	x	4,790	Salicylová	4,969	Gal./Syring.	x		x	
20 mM PFHpA	5,450	Salicylová	5,510	Gal./Syring.	x		x		x	
50 mM PFHpA	6,701	4-HK	7,114	x	7,289	4-HB	7,791	Galová	7,914	Salicylová
75 mM PFHpA	x		x		x		x		x	

kde 4-HK je 4-hydroxykumarin a 4-HB je 4-hydroxybenzoová kyselina.

Tabulka 36: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)												
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík	13. pík
10 mM PFHpA	6,41	6,08	4,76	4,64	4,15	4,04	3,99	3,93	3,76	3,65	3,52	x	x
20 mM PFHpA	6,05	4,37	4,25	3,77	3,62	3,55	3,41	3,37	3,21	3,18	x	x	x
50 mM PFHpA	4,69	4,60	3,43	3,36	3,32	3,24	2,82	2,66	2,61	2,46	2,40	2,25	2,21
75 mM PFHpA	2,25	2,23	2,20	2,16	1,45	1,27	x	x	x	x	x	x	x

2.3.1.2 Celková směs fenolických kyselin a flavonů s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 37: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	2,974	x	3,984	x	4,065	x	4,501	x
20 mM PFHpA	3,304	Katechin/Epikatechin	3,379	x	4,600	x	4,698	x
50 mM PFHpA	4,413	x	4,654	x	6,326	Flavon	7,236	x
75 mM PFHpA	4,506	x	4,615	x	8,209	x	8,445	Naringenin

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	4,674	p-kumarová k.	4,731	Vanilová k.	4,795	4-hydroxykum.	4,860	Ferul/Kávov.
20 mM PFHpA	5,247	x	5,494	p-kumarová k.	5,562	Vanilová k.	5,626	x
50 mM PFHpA	7,497	x	7,684	x	8,741	Syringová k.	9,356	x
75 mM PFHpA	8,684	x	9,161	x	9,746	x	10,752	Vanilová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	4,973	4-hydroxyb.	5,089	Galová k.	5,383	Salicylová k.	x	x
20 mM PFHpA	5,743	4-hydroxyk.	5,910	4-hydroxybenz.	5,981	Galová k.	6,633	Salicylová
50 mM PFHpA	9,773	x	10,712	x	11,259	4-hydroxykum.	16,733	Salicylová
75 mM PFHpA	10,755	x	11,950	x	12,411	4-hydroxykum.	18,802	Salicylová

Tabulka 38: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)											
	1. pík	2. pík	3. pík	5. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík
10 mM PFHpA	5,88	4,39	4,30	3,89	3,74	3,70	3,65	3,60	3,52	3,44	3,25	x
20 mM PFHpA	5,30	5,18	3,80	3,72	3,34	3,19	3,15	3,11	3,05	2,96	2,93	2,64
50 mM PFHpA	3,97	3,76	2,75	2,42	2,33	2,28	2,00	1,87	1,79	1,63	1,55	1,05
75 mM PFHpA	3,88	3,79	2,13	2,07	2,02	1,91	1,80	1,63	1,63	1,46	1,41	0,93

2.3.1.3 Celková směs fenolických kyselin a flavonů s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka: 39: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	3,440	x	4,702	x	4,813	x	5,355	x
20 mM PFHpA	3,752	Kat./Epikat.	3,814	Flavon	5,305	x	5,385	7-hydroxyflavon
50 mM PFHpA	7,082	x	7,226	x	8,260	x	8,603	x
75 mM PFHpA	5,448	x	5,657	x	11,019	x	10,998	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	5,590	p-kumarová k.	5,667	Vanilová k.	5,699	4-hydroxykum.	5,796	Ferul./Kávov.
20 mM PFHpA	5,460	Naringenin	6,103	x	6,427	p-kumarová k.	6,499	Vanilová k.
50 mM PFHpA	10,702	Galov./Syring.	11,844	x	12,136	x	13,997	4-hydroxykum.
75 mM PFHpA	12,615	7-hdroxyflav.	14,719	x	15,783	Vanil./Syring.	18,269	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFHpA	5,965	4-hydroxybenz.k.	6,062	Galová k.	6,480	Salicylová k.	x	
20 mM PFHpA	6,623	4-hydroxykum.	6,923	4-hydroxybenz.	7,046	Galová k.	7,731	Salicylová k.
50 mM PFHpA	14,355	4-hydroxybenz.k.	x		x		x	
75 mM PFHpA	x		x		x		x	

Tabulka 40: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFHpA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost (* $10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)											
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík
10 mM PFHpA	5,09	3,72	3,64	3,27	3,13	3,09	3,07	3,02	2,93	2,89	2,70	x
20 mM PFHpA	4,66	4,59	3,30	3,25	3,21	2,87	2,72	2,69	2,64	2,53	2,48	2,26
50 mM PFHpA	2,47	2,42	2,12	2,03	1,64	1,48	1,44	1,25	1,22	x	x	x
75 mM PFHpA	3,21	3,09	1,59	1,59	1,39	1,19	1,11	0,96	x	x	x	x

PŘÍLOHA 3:
PERFLUOROOKTANOVÁ KYSELINA

3.1 Fenolické kyseliny

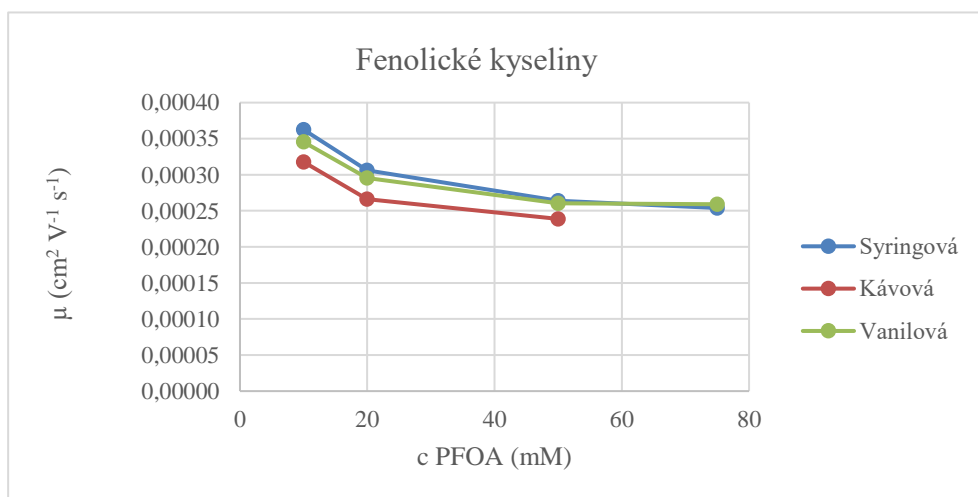
3.1.1 Fenolické kyseliny bez organického rozpouštědla

Tabulka 41: Migrační časy standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFOA.

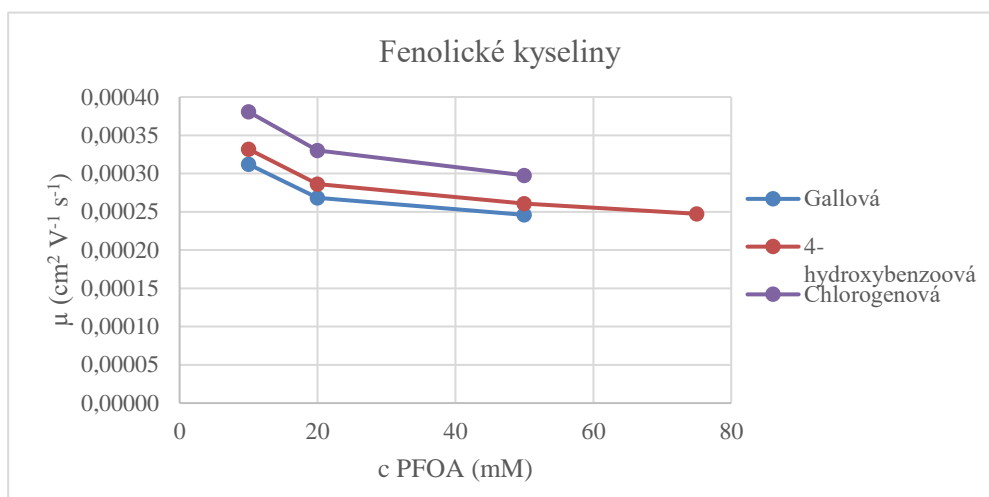
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	4,827	5,717	6,633	6,893
Kávová kyselina	5,507	6,576	7,329	x
Vanilová kyselina	5,066	5,926	6,720	6,754
Chlorogenová kyselina	4,598	5,298	5,881	x
Gallová kyselina	5,607	6,523	7,116	x
4-hydroxybenzoová kyselina	5,273	6,116	6,717	7,076
Salicylová kyselina	5,605	6,644	6,991	7,364
p-kumarová kyselina	5,136	5,930	6,634	6,897
Ferulová kyselina	5,223	5,839	6,491	6,686

Tabulka 42: Zdánlivá pohyblivost fenolických kyselin v elektrolytu PFOA.

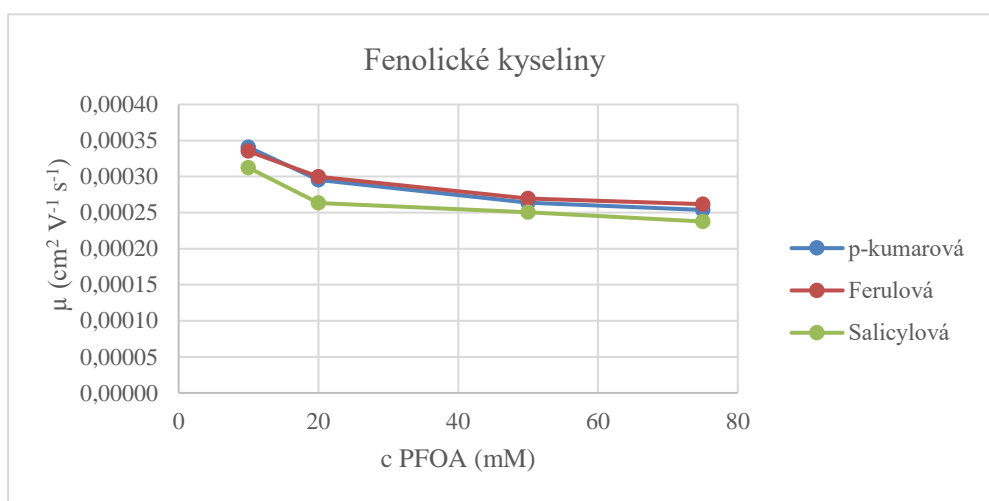
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	3,63	3,06	2,64	2,54
Kávová kyselina	3,18	2,66	2,39	x
Vanilová kyselina	3,45	2,95	2,60	2,59
Chlorogenová kyselina	3,81	3,30	2,98	x
Gallová kyselina	3,12	2,68	2,46	x
4-hydroxybenzoová kyselina	3,32	2,86	2,61	2,47
Salicylová kyselina	3,12	2,63	2,50	2,38
p-kumarová kyselina	3,41	2,95	2,64	2,54
Ferulová kyselina	3,35	3,00	2,70	2,62



Graf 43: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA.



Graf 44: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA.



Graf 45: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA.

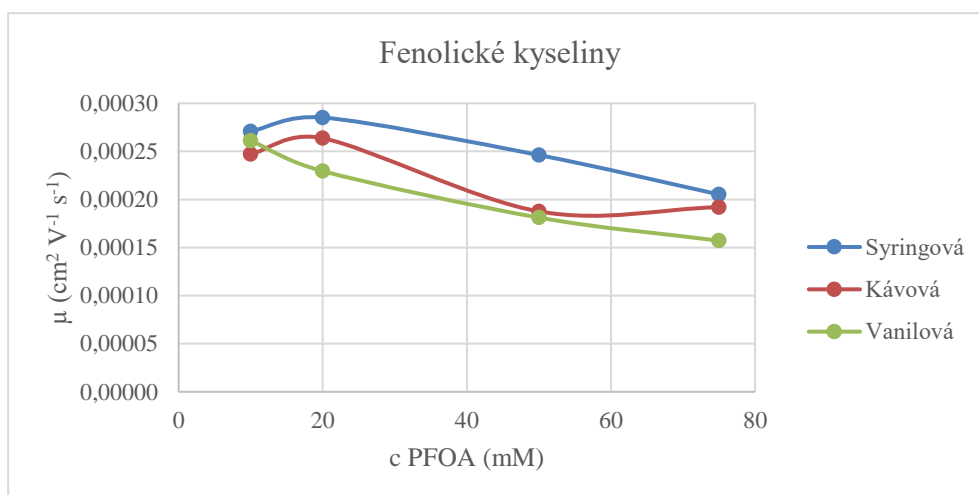
3.1.2 Fenolické kyseliny s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 43: Migrační časy standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

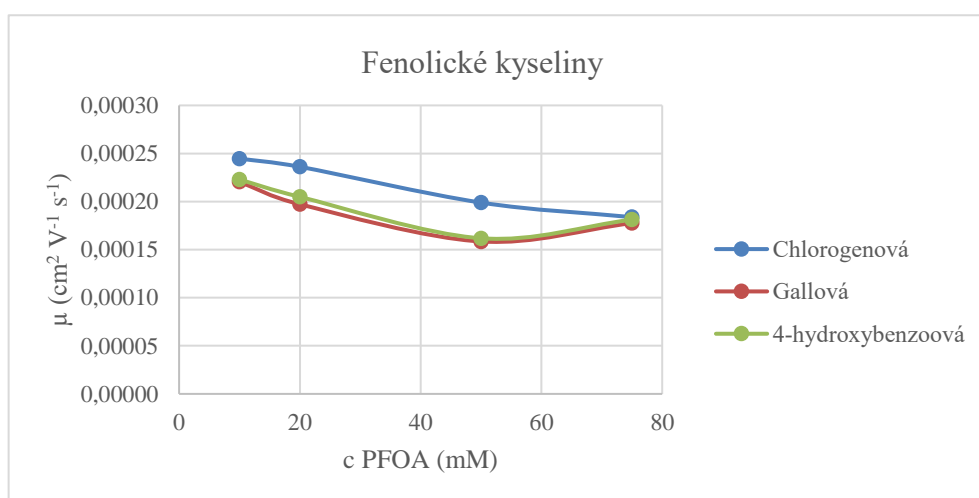
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	6,461	6,136	7,109	8,527
Kávová kyselina	7,084	6,637	9,328	9,114
Vanilová kyselina	6,701	7,625	9,661	11,135
Chlorogenová kyselina	7,153	7,410	8,797	9,520
Gallová kyselina	7,937	8,874	11,041	9,853
4-hydroxybenzoová kyselina	7,850	8,541	10,814	9,657
Salicylová kyselina	9,164	8,796	11,146	12,833
p-kumarová kyselina	7,725	6,647	7,771	8,571
Ferulová kyselina	8,885	6,898	7,595	8,658

Tabulky 44: Zdánlivá pohyblivost standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

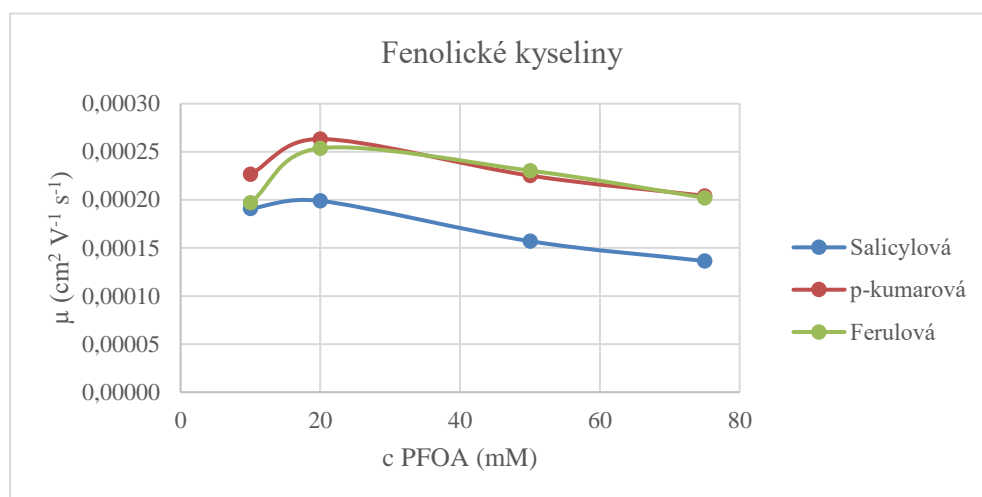
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	2,71	2,85	2,46	2,05
Kávová kyselina	2,47	2,64	1,88	1,92
Vanilová kyselina	2,61	2,30	1,81	1,57
Chlorogenová kyselina	2,45	2,36	1,99	1,84
Gallová kyselina	2,20	1,97	1,59	1,78
4-hydroxybenzoová kyselina	2,23	2,05	1,62	1,81
Salicylová kyselina	1,91	1,99	1,57	1,36
p-kumarová kyselina	2,27	2,63	2,25	2,04
Ferulová kyselina	1,97	2,54	2,30	2,02



Graf 46: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 47: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 48: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.

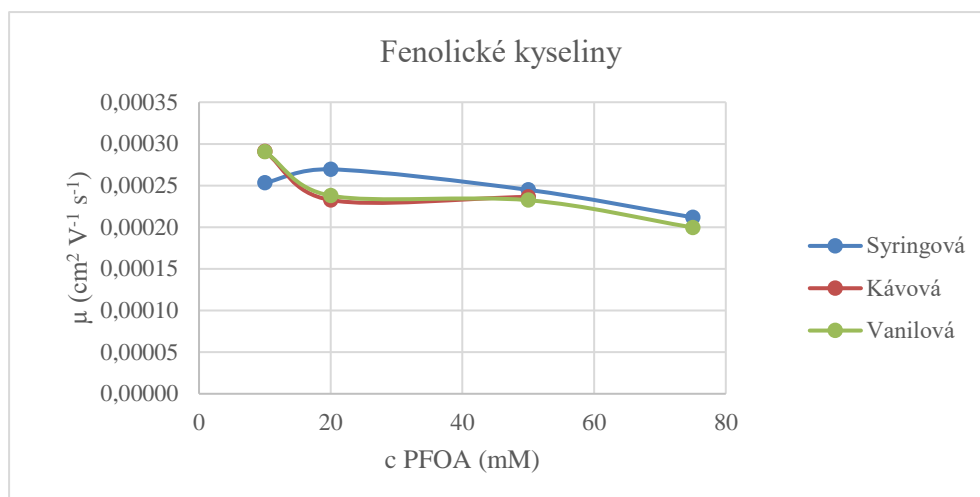
3.1.3 Fenolické kyseliny s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 45: Migrační časy standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

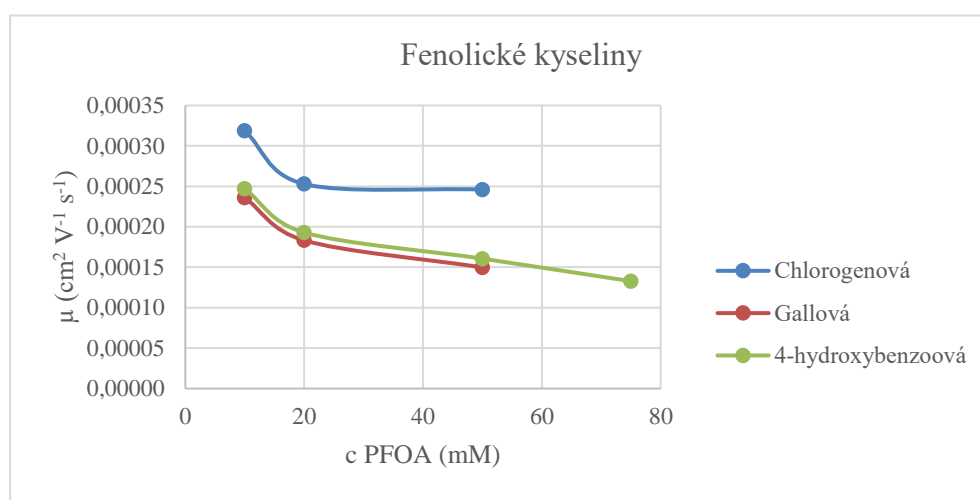
Fenolické kyseliny	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	6,912	6,495	7,149	8,264
Káвовá kyselina	6,017	7,525	7,404	x
Vanilová kyselina	6,019	7,359	7,530	8,766
Chlorogenová kyselina	5,489	6,919	7,112	x
Gallová kyselina	7,409	9,550	11,685	x
4-hydroxybenzoová kyselina	7,083	9,068	10,896	13,178
Salicylová kyselina	7,698	10,095	12,532	16,234
p-kumarová kyselina	6,301	7,898	8,994	10,524
Ferulová kyselina	5,829	7,232	8,122	9,181

Tabulka 46: Zdánlivá pohyblivost standardů fenolických kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

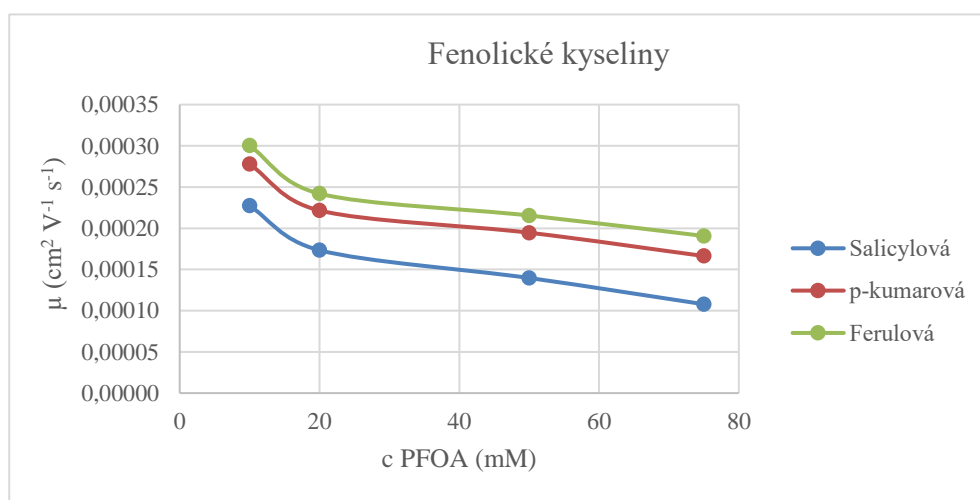
Fenolické kyseliny	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Syringová kyselina	2,53	2,69	2,45	2,12
Káвовá kyselina	2,91	2,33	2,36	x
Vanilová kyselina	2,91	2,38	2,32	2,00
Chlorogenová kyselina	3,19	2,53	2,46	x
Gallová kyselina	2,36	1,83	1,50	x
4-hydroxybenzoová kyselina	2,47	1,93	1,61	1,33
Salicylová kyselina	2,27	1,73	1,40	1,08
p-kumarová kyselina	2,78	2,22	1,95	1,66
Ferulová kyselina	3,00	2,42	2,15	1,91



Graf 49: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 50: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.



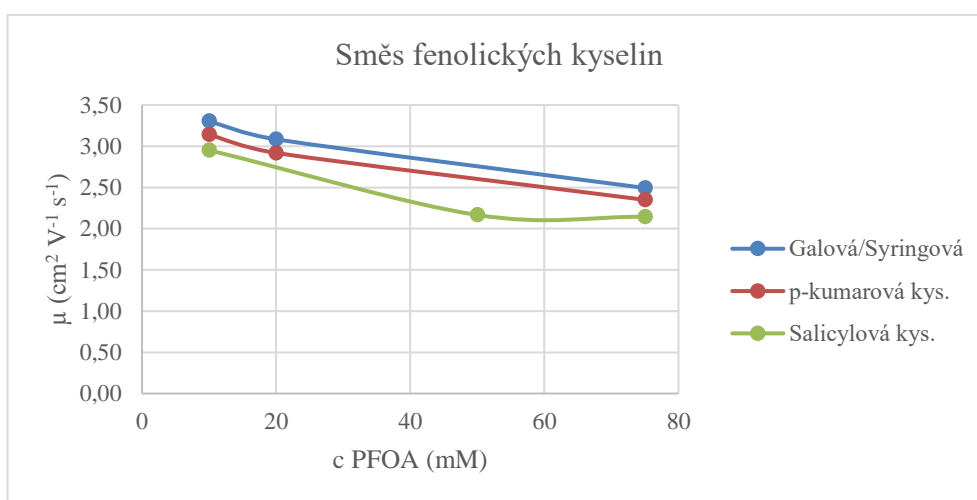
Graf 51: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

3.1.4 Směs fenolických kyselin

3.1.4.1 Směs fenolických kyselin bez organického rozpouštědla

Tabulka 47: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti fenolických kyselin v elektrolytu PFOA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík
10 mM PFOA	3,31	3,14	3,09	2,95	x	x
20 mM PFOA	3,08	2,92	2,86	2,70	2,45	x
50 mM PFOA	2,50	2,37	2,30	2,17	2,10	x
75 mM PFOA	2,49	2,35	2,27	2,14	2,08	1,87

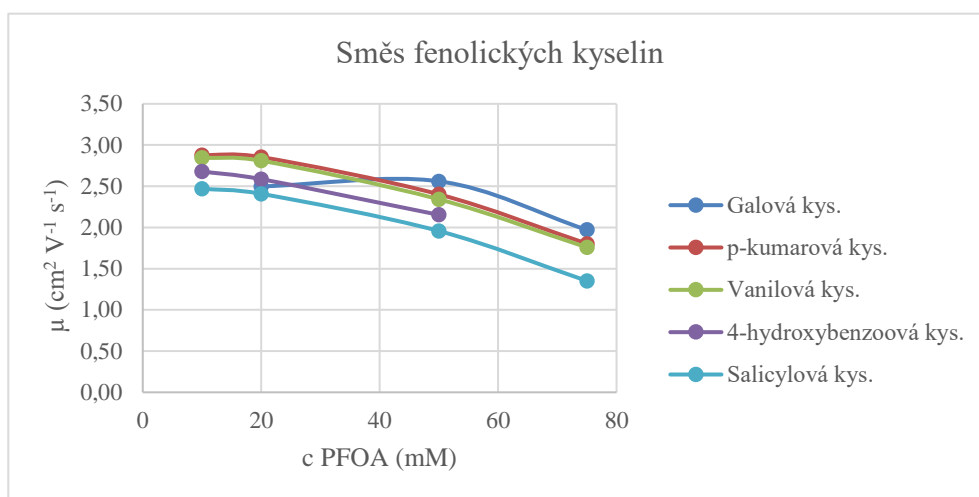


Graf 52: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFOA.

3.1.4.2 Směs fenolických kyselin s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 48: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFOA	3,03	2,88	2,84	2,72	2,68	2,47	x
20 mM PFOA	2,98	2,85	2,81	2,68	2,59	2,50	2,41
50 mM PFOA	2,56	2,40	2,34	2,22	2,15	1,96	x
75 mM PFOA	1,97	1,94	1,80	1,76	1,61	1,56	1,35

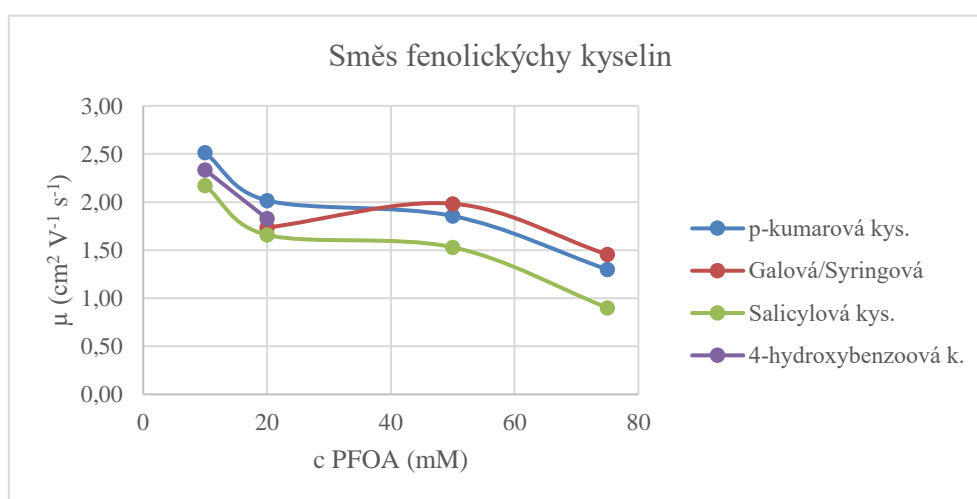


Graf 53: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.

3.1.4.3 Směs fenolických kyselin s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 49: Zdánlivá pohyblivost směsi devíti kyselin v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFOA	2,67	2,51	2,49	2,37	2,33	2,17	x
20 mM PFOA	2,17	2,02	1,99	1,88	1,83	1,73	1,66
50 mM PFOA	1,98	1,96	1,85	1,82	1,70	1,65	1,53
75 mM PFOA	1,45	1,44	1,30	1,26	1,13	1,09	0,90



Graf 54: Závislost μ směsi fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

3.2 Flavony

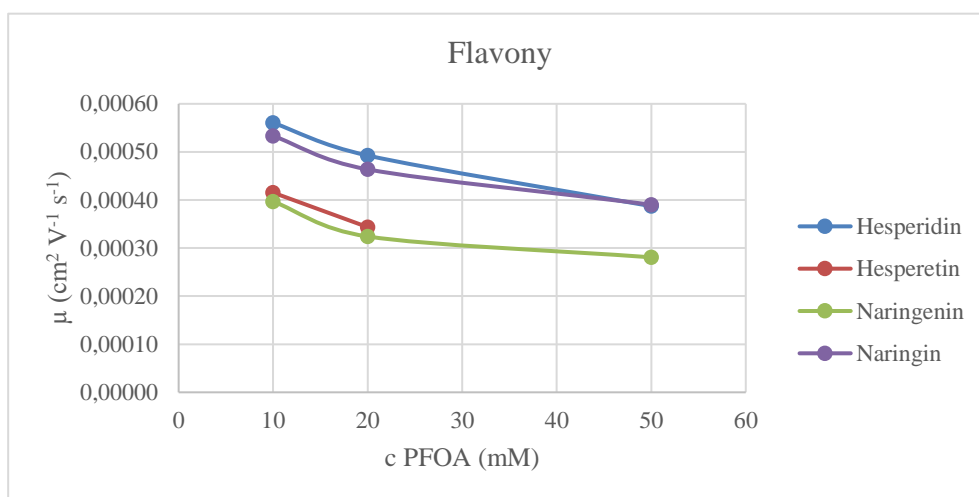
3.2.1 Flavony bez organického rozpouštědla

Tabulka 50: Migrační časy standardů flavonů v elektrolytu PFOA.

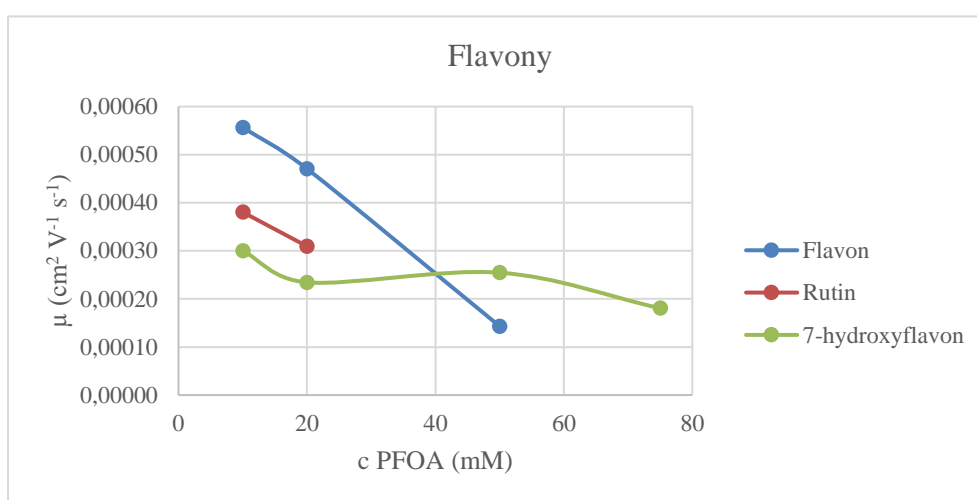
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	3,123	3,553	4,520	x
Hesperetin	4,214	5,094	x	x
Naringenin	4,409	5,399	6,233	x
Naringin	3,281	3,774	4,483	x
Flavon	3,145	3,718	12,225	x
Rutin	4,599	5,655	x	x
7-hydroxyflavon	5,831	7,464	6,873	9,687
4-hydroxykumarin	6,151	8,372	8,319	9,365
Katechin	4,111	4,857	x	x
Epikatechin	4,391	4,686	x	x
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 51: Zdánlivá pohyblivost standardů flavonů v elektrolytu PFOA.

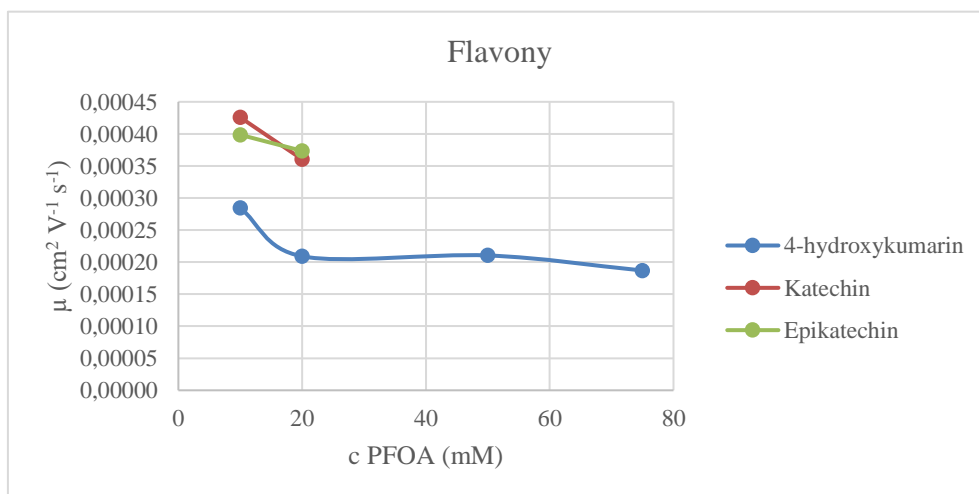
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	5,60	4,93	3,87	x
Hesperetin	4,15	3,44	x	x
Naringenin	3,97	3,24	2,81	x
Naringin	5,33	4,64	3,90	x
Flavon	5,56	4,71	1,43	x
Rutin	3,81	3,09	x	x
7-hydroxyflavon	3,00	2,34	2,55	1,81
4-hydroxykumarin	2,85	2,09	2,10	1,87
Katechin	4,26	3,60	x	x
Epikatechin	3,99	3,73	x	x
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 55: Závislost μ standardů flavonů na c PFOA.



Graf 56: Závislost μ standardů flavonů na c PFOA.



Graf 57: Závislost μ standardů flavonů na c PFOA.

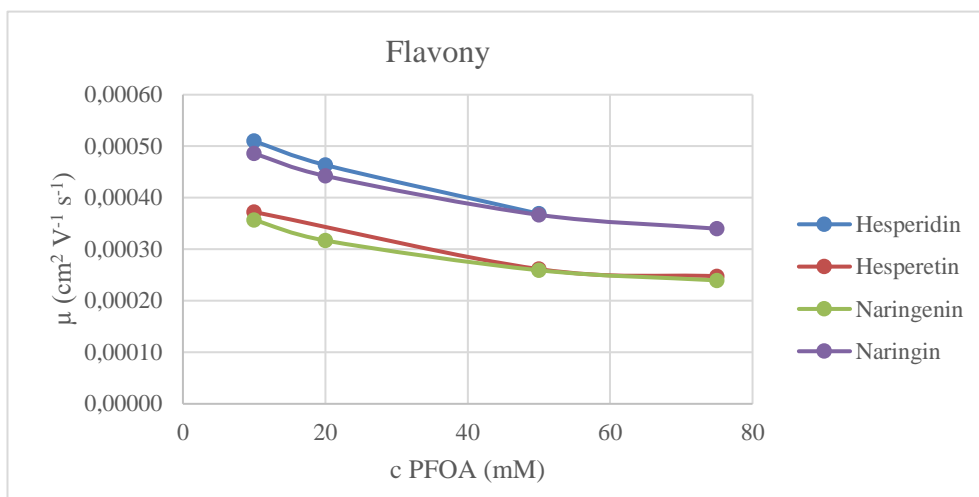
3.2.2 Flavony s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 52: Migrační časy standardů flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

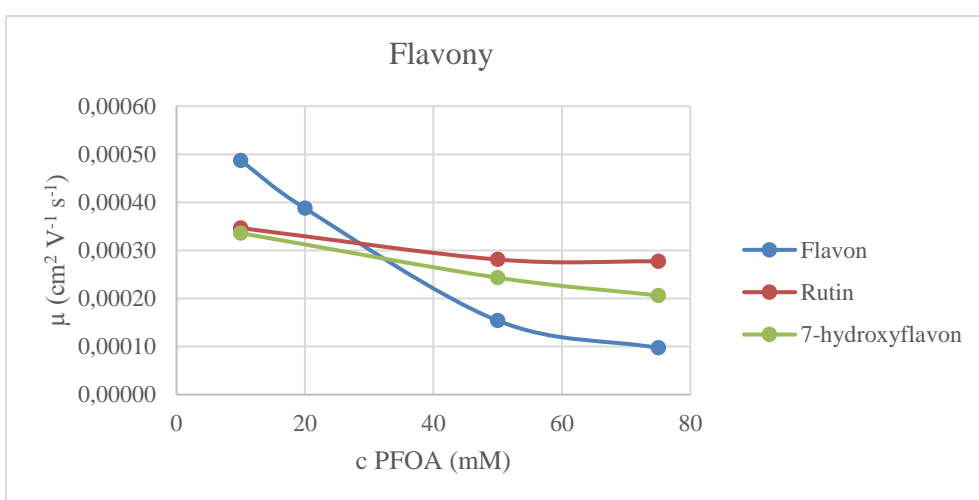
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	3,432	3,775	4,744	x
Hesperetin	4,700	x	6,693	7,067
Naringenin	4,903	5,521	6,752	7,304
Naringin	3,601	3,956	4,771	5,148
Flavon	3,592	4,515	11,362	17,991
Rutin	5,051	x	6,224	6,313
7-hydroxyflavon	5,209	x	7,192	8,483
4-hydroxykumarin	6,520	7,109	8,709	9,493
Katechin	4,062	4,321	4,763	4,907
Epikatechin	4,001	4,211	4,705	4,929
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 53: Zdánlivá pohyblivost standardů flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

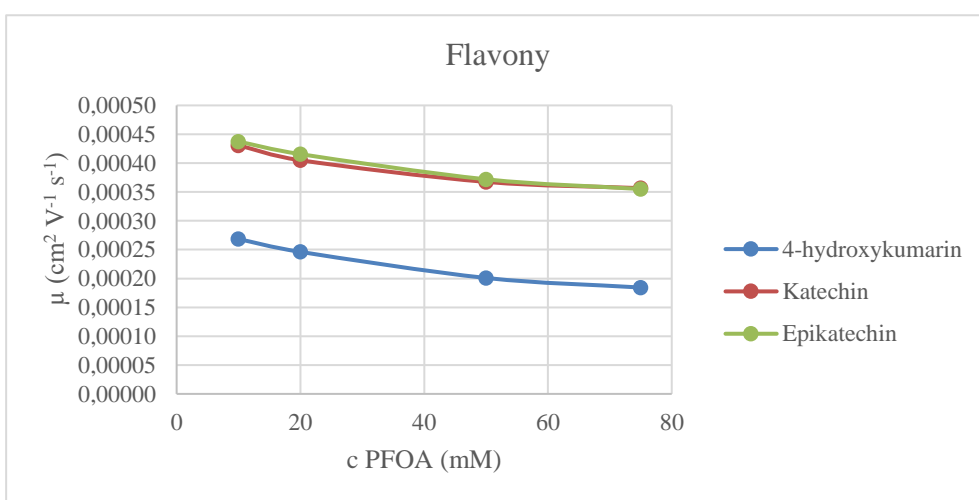
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	5,10	4,64	3,69	x
Hesperetin	3,72	x	2,61	2,48
Naringenin	3,57	3,17	2,59	2,40
Naringin	4,86	4,42	3,67	3,40
Flavon	4,87	3,88	1,54	0,97
Rutin	3,46	x	2,81	2,77
7-hydroxyflavon	3,36	x	2,43	2,06
4-hydroxykumarin	2,68	2,46	2,01	1,84
Katechin	4,31	4,05	3,67	3,57
Epikatechin	4,37	4,16	3,72	3,55
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 58: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 59: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.



Graf 60: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.

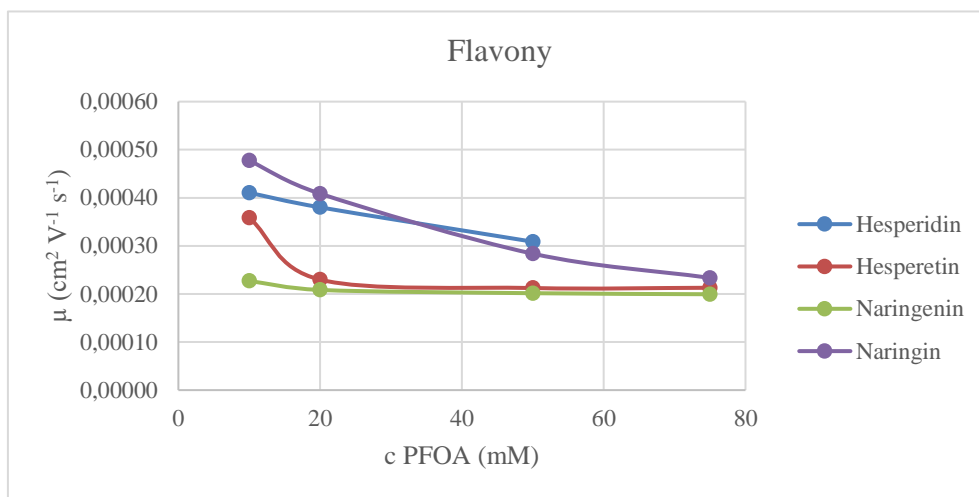
3.2.3 Flavony s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 54: Migrační časy standardů flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

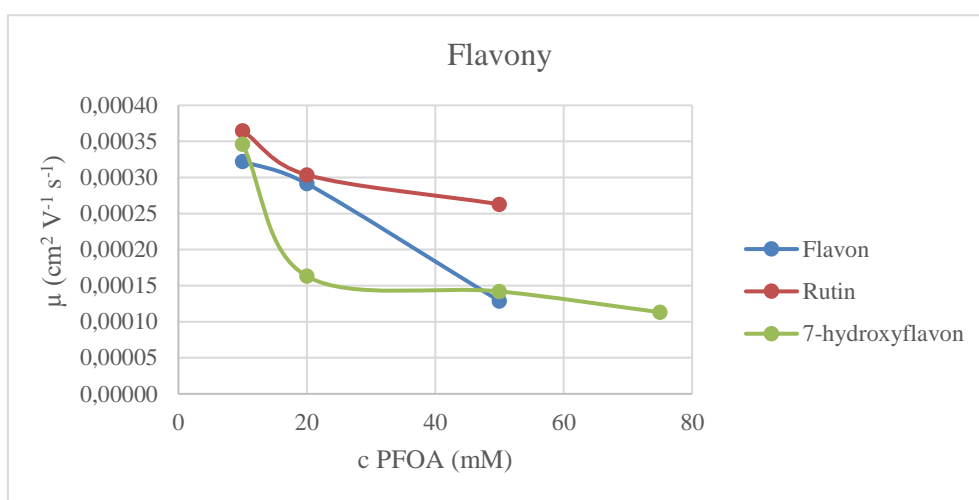
Flavony	Migrační čas (min)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	4,264	4,604	5,670	x
Hesperetin	4,881	7,617	8,242	8,221
Naringenin	7,709	8,400	8,681	8,775
Naringin	3,666	4,283	6,168	7,497
Flavon	5,433	6,003	13,604	x
Rutin	4,796	5,763	x	6,656
7-hydroxyflavon	5,053	10,727	12,317	15,464
4-hydroxykumarin	6,234	7,551	8,693	9,093
Katechin	6,835	7,169	x	x
Epikatechin	3,701	4,295	4,604	4,872
Kvercetin	x	x	x	x

Tabulka 55: Zdánlivá pohyblivost standardů flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

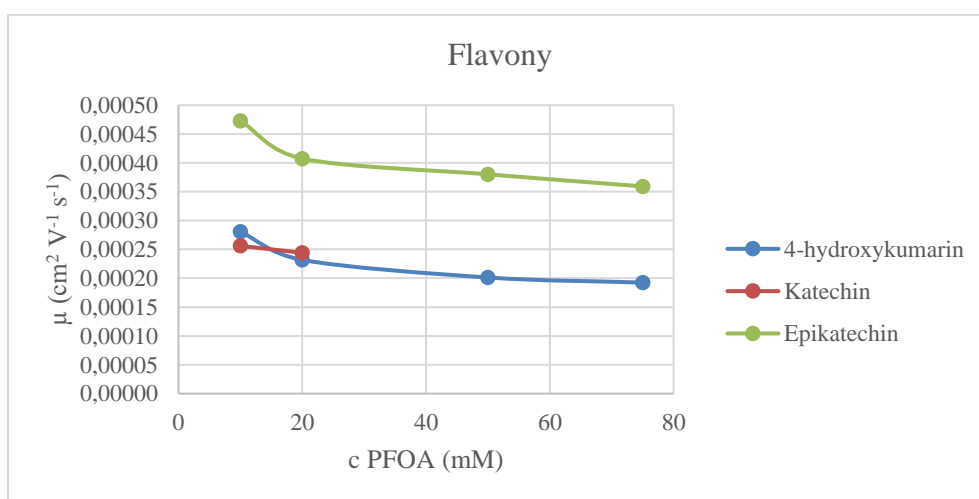
Flavony	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)			
	10 mM PFOA	20 mM PFOA	50 mM PFOA	75 mM PFOA
Hesperidin	4,10	3,80	3,09	x
Hesperetin	3,59	2,30	2,12	2,13
Naringenin	2,27	2,08	2,02	1,99
Naringin	4,77	4,09	2,84	2,33
Flavon	3,22	2,92	1,29	x
Rutin	3,65	3,04	x	2,63
7-hydroxyflavon	3,46	1,63	1,42	1,13
4-hydroxykumarin	2,81	2,32	2,01	1,92
Katechin	2,56	2,44	x	x
Epikatechin	4,73	4,07	3,80	3,59
Kvercetin	x	x	x	x



Graf 61: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.



Graf 62: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.



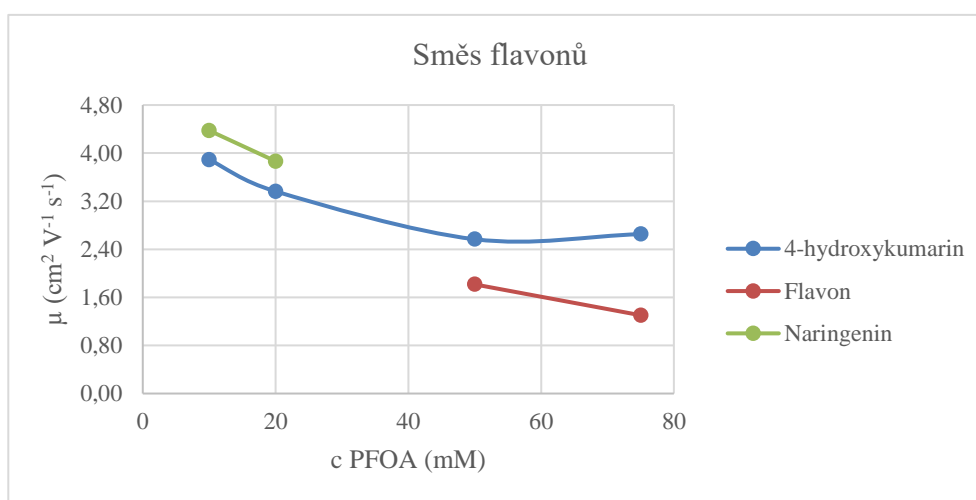
Graf 63: Závislost μ standardů fenolických kyselin na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

3.2.4 Směs flavonů

3.2.4.1 Směs flavonů bez organického rozpouštědla

Tabulka 56: Zdánlivá pohyblivost směsi deseti flavonů v elektrolytu PFOA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)						
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík
10 mM PFOA	6,28	5,65	4,52	4,38	3,89	x	x
20 mM PFOA	5,52	5,36	5,07	4,00	3,87	3,36	x
50 mM PFOA	4,32	3,95	3,08	3,01	2,87	2,57	1,82
75 mM PFOA	2,89	2,84	2,65	1,30	x	x	x

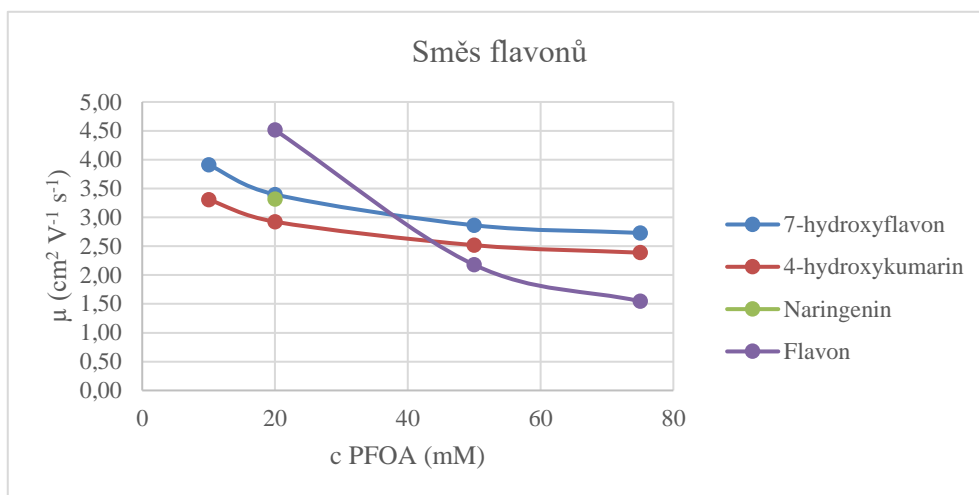


Graf 64: Závislost μ směsi flavonů na c PFOA.

3.2.4.2 Směs flavonů s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 57: Zdánlivá pohyblivost směsi deseti flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)							
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík
10 mM PFOA	5,49	5,33	3,98	3,91	3,31	x	x	x
20 mM PFOA	5,27	5,03	4,51	3,60	3,53	3,40	3,32	2,92
50 mM PFOA	2,94	2,90	2,86	2,52	2,18	x	x	x
75 mM PFOA	2,95	2,91	2,85	2,73	2,39	1,55	x	x

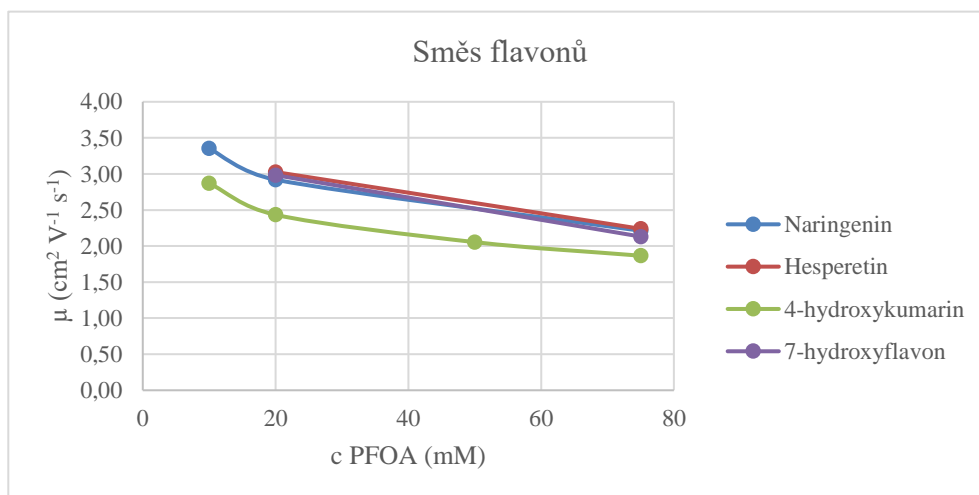


Graf 65: Závislost μ směsi flavonů na c PFOA s přidavkem 10 % ACN.

3.2.4.3 Směs flavonů s přidavkem 10 % MeOH

Tabulka 58: Zdánlivá pohyblivost směsi deseti flavonů v elektrolytu PFOA s přidavkem 10 % MeOH

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)					
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík
10 mM PFOA	4,90	4,50	3,45	3,35	2,87	x
20 mM PFOA	4,25	4,04	3,03	2,98	2,92	2,43
50 mM PFOA	2,21	2,05	1,55	x	x	x
75 mM PFOA	2,25	2,24	2,21	2,13	1,87	x



Graf 66: Závislost μ směsi flavonů na c PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

3.3 Celková směs fenolických kyselin a flavonů

3.3.1 Celková směs fenolických kyselin a flavonů bez organického rozpouštědla

Tabulka 59: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	3,278	x	4,684	x	4,834	Naringenin	5,515	Galov./Syring.
20 mM PFOA	3,833	Kat/Epikat	3,908	Kat/Epikat	3,961	Flavon	5,498	Rutin
50 mM PFOA	6,081	x	7,458	x	7,830	x	8,310	7-hydroxyflavon
75 mM PFOA	7,669	x	8,582	x	8,964	7-hydroxyflavon	9,177	p-kumarová k.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	5,786	p-kumarová	5,852	Vanilová k.	5,983	4-hydroxykum.	6,291	4-hydroxybenz.
20 mM PFOA	5,695	x	5,912	Naringenin	6,953	Galov./Syring.	7,428	p-kumarová k.
50 mM PFOA	8,637	x	9,125	p-kumarová	9,580	4-hydroxykum.	10,043	x
75 mM PFOA	9,471	4-hydroxyk.	9,562	x	10,201	x	10,662	4-hydroxybenz.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)									
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík		13. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	6,45	Galová k.	6,98	Salicylová k.	x		x		x	
20 mM PFOA	7,61	4-hydroxyk.	8,02	Ferul./Kávov.	8,35	4-hydroxyb.	8,95	Galová	9,09	Salicylová
50 mM PFOA	10,50	4-hydroxyb.	11,21	Galová k.	11,97	Salicylová	x		x	
75 mM PFOA	12,18	Salicylová k.	x		x		x		x	

Tabulka 60: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)												
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík	13. pík
10 mM PFOA	5,34	3,74	3,62	3,17	3,02	2,99	2,92	2,78	2,71	2,50	x	x	x
20 mM PFOA	4,57	4,48	4,42	3,18	3,07	2,96	2,52	2,36	2,30	2,18	2,09	1,95	1,92
50 mM PFOA	2,88	2,35	2,23	2,11	2,03	1,92	1,83	1,74	1,67	1,56	1,46	x	x
75 mM PFOA	2,28	2,04	1,95	1,91	1,85	1,83	1,72	1,64	1,44	x	x	x	x

3.3.2 Celková směs fenolických kyselin a flavonů s přidavkem 10 % ACN

Tabulka 61: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	3,664	Kat/Epikat	5,384	x	5,501	x	5,987	Chlorogenová k.
20 mM PFOA	4,014	Flavon	5,007	Hesperetin	5,123	x	5,737	x
50 mM PFOA	7,815	x	8,136	x	8,378	x	9,144	x
75 mM PFOA	5,839	x	6,084	Hesperetin	6,202	Naringenin	6,789	7-hydroxyflavon

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	6,308	x	6,390	Syringová	6,726	p-kumarová k.	6,992	Vanilová k.
20 mM PFOA	6,081	Vanilová k.	6,183	x	6,342	4-hydroxykum.	6,669	4-hydroxybenz.
50 mM PFOA	9,690	Syring/Gal	10,521	x	10,861	Vanil./Syring.	11,184	x
75 mM PFOA	6,865	x	7,225	p-kumarová	7,374	Vanilová k.	7,724	4-hydroxykum.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	7,235	Galová/Syring.	7,381	4-hydroxyk.	7,222	4-hydroxyb.	8,546	Salicylová
20 mM PFOA	6,771	x	6,985	Galová k.	7,412	Salicylová k.	x	
50 mM PFOA	11,797	4-hydroxykum.	12,466	4-hydroxyb.	12,830	Galová k.	17,294	Salicylová
75 mM PFOA	8,035	4-hydroxybenz.	8,226	Galová k.	9,442	Salicylová k.	x	

Tabulka 62: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA s přidavkem 10 % ACN.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost ($\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)											
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík
10 mM PFOA	4,78	3,25	3,18	2,92	2,77	2,74	2,60	2,50	2,42	2,37	2,42	2,05
20 mM PFOA	4,36	3,50	3,42	3,05	2,88	2,83	2,76	2,62	2,58	2,52	2,36	x
50 mM PFOA	2,24	2,15	2,09	1,91	1,81	1,66	1,61	1,56	1,48	1,40	1,36	1,01
75 mM PFOA	3,00	2,88	2,82	2,58	2,55	2,42	2,37	2,27	2,18	2,13	1,85	x

3.1.1 Celková směs fenolických kyselin a flavonů s přídavkem 10 % MeOH

Tabulka 63: Identifikace a migrační časy pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA s přídavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	1. pík		2. pík		3. pík		4. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	4,210	Kat/Epikat	6,368	x	6,467	x	6,585	x
20 mM PFOA	4,474	x	4,569	Kat/Epikat	4,669	Kat/Epikat	4,847	Flavon
50 mM PFOA	5,931	Kat/Epikat	9,744	x	9,841	x	10,222	7-hydroxyflavon
75 mM PFOA	7,274	Rutin	7,576	Hesperetin	7,665	Naringenin	8,566	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	5. pík		6. pík		7. pík		8. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	7,018	Chlorogen. k.	7,389	Galová/Syring.	7,852	p-kumarová	7,960	Vanilová k.
20 mM PFOA	6,513	x	6,668	7-hydroxyflav.	6,751	Naringenin	7,741	x
50 mM PFOA	10,957	x	11,773	p-kumarová k.	12,130	Vanilová	12,788	4-hydroxyk.
75 mM PFOA	8,676	7-hydroxyflav.	9,080	p-kumarová k.	9,278	Vanilová	9,470	x

Koncentrace	Migrační čas píku (min)							
	9. pík		10. pík		11. pík		12. pík	
	čas	standard	čas	standard	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	8,347	4-hydroxykum.	8,461	Galová k.	8,650	4-hydroxyb.	10,343	Salicylová k.
20 mM PFOA	8,254	p-kumarová k.	8,405	Vanilová k.	8,575	x	8,778	4-hydroxykum.
50 mM PFOA	13,726	4-hydroxybenz.	14,024	Galová k.	17,664	Salicylová	x	
75 mM PFOA	9,786	4-hydroxykum.	10,304	Galová k.	12,481	Salicylová	x	

Koncentrace	Migrační čas píku (min)			
	13. pík		14. pík	
	čas	standard	čas	standard
10 mM PFOA	x		x	
20 mM PFOA	9,195	x	10,809	Salicylová k.
50 mM PFOA	x		x	
75 mM PFOA	x		x	

Tabulka 64: Zdánlivé pohyblivosti pro směs devíti fenolických kyselin a deseti flavonů v PFOA s přidavkem 10 % MeOH.

Koncentrace	Zdánlivá pohyblivost (* $10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)													
	1. pík	2. pík	3. pík	4. pík	5. pík	6. pík	7. pík	8. pík	9. pík	10. pík	11. pík	12. pík	13. pík	14. pík
10 mM PFOA	4,16	2,75	2,71	2,66	2,49	2,37	2,23	2,20	2,10	2,07	2,02	1,69	x	x
20 mM PFOA	3,91	3,83	3,75	3,61	2,69	2,62	2,59	2,26	2,12	2,08	2,04	1,99	1,90	1,62
50 mM PFOA	2,95	1,80	1,78	1,71	1,60	1,49	1,44	1,37	1,27	1,25	0,99	x	x	x
75 mM PFOA	2,41	2,31	2,28	2,04	2,02	1,93	1,89	1,85	1,79	1,70	1,40	x	x	x