

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2012

Zuzana Černá

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

**VYUŽITÍ UHLÍKATÝCH NANOTRUBIČEK PRO
ZVÝŠENÍ SELEKTIVITY SEPARACE
V KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZE**

Zuzana Černá

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana Černá**
Osobní číslo: **C09129**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Využití uhlíkových nanotrubiček pro zvýšení selektivity separace v kapilární elektroforéze**
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 dostupných literárních zdrojích vyhledejte odkazy zabývající se použitím uhlíkových nanotrubiček jako aditiv ke zvýšení selektivity separace v kapilární elektroforéze a zpracujte je formou literární rešerše.
2. Experimentálně ověřte vlivy použití uhlíkových nanotrubiček jako aditiv základních elektrolytů při separaci vybraných sloučenin v potravinářských vzorcích.
3. Získané výsledky kriticky zhodnoťte a diskutujte v kontextu s publikovanými pracemi.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Petr Česla, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Konzultant bakalářské práce:

doc. Ing. Jan Fischer, CSc.

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2012

Prohlašuji:

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

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

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 22. 6. 2012

Zuzana Černá

Poděkování

Především bych chtěla poděkovat Ing. Petru Česlovi, Ph.D. za ochotu a čas, který mi věnoval jako vedoucí bakalářské práce a za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi předával.

Velké poděkování patří mé rodině, která mi umožnila studium na vysoké škole a podporovala mě v průběhu celého studia.

Děkuji

Anotace

Cílem této bakalářské práce bylo ověření vlivu uhlíkatých nanotrubiček na ovlivnění selektivity separace přírodních antioxidantů kapilární elektroforézou. V teoretické části byly shrnuty vlastnosti nanotrubiček a byly diskutovány možnosti použití v micelární elektrokinetické chromatografii. V experimentální části práce byly použity tři typy uhlíkatých nanotrubiček, u kterých byl studován vliv na selektivitu separace a rozlišení přírodních antioxidantů.

Klíčová slova

Uhlíkaté nanočástice, Kapilární elektroforéza, Micelární elektrokinetická chromatografie, Separace flavonoidů, Selektivita separace

Title

Application of carbon nanotubes for improvement of separation selectivity in capillary electrophoresis

Annotation

The aim of the bachelor work was to verify the influence of carbon nanotubes on the separation selectivity of natural antioxidants by capillary electrophoresis. In the theoretical part, the properties of nanoparticles are reviewed and the possibilities of their application in micellar electrokinetic chromatography are discussed. The influence of three types of carbon nanotubes on separation selectivity and resolution of natural antioxidants was studied in the experimental part of the work.

Keywords

Carbon nanotubes, Capillary electrophoresis, Micellar electrokinetic chromatography, Separation of flavonoids, Selectivity of separation

Obsah

Použité zkratky	10
1. Úvod	11
2. Teorie.....	12
2.1. Úvod do kapilární elektroforézy.....	12
2.1.1. Princip kapilární elektroforézy	13
2.1.2. Rozdělení kapilárních elektromigračních technik	14
2.2. Elektrokinetické chromatografické metody	15
2.2.1. Micelární elektrokinetická chromatografie.....	16
2.3. Používání nanostruktur jako aditiv základního elektrolytu v kapilární elektroforéze.....	17
2.3.1. Historie nanočástic.....	17
2.3.2. Vývoj a vlastnosti nanočástic	18
2.3.3. Typy a vlastnosti uhlíkatých nanostruktur	20
2.3.4. Uhlíkaté nanotrubičky	20
2.3.5. Použití CNTs jako pseudostacionární fáze v elektrokinetické chromatografii	21
2.4. Separace flavonoidů a fenolických kyselin v MEKC pomocí uhlíkatých nanotrubic jako aditiv	23
2.4.1. Flavonoidy	23
2.4.2. Fenolické kyseliny.....	23
2.4.3. Separace flavonoidů a fenolických kyselin micelární elektrokinetickou chromatografií.....	24
3. Experimentální část	25
3.1. Chemikálie	25
3.2. Použitá instrumentace	26
3.2.1. Přístroj pro CE.....	26
3.2.2. Separační kapilára	26
3.3. Příprava základních elektrolytů	27
3.4. Příprava vzorků.....	28
3.5. Postup analýz.....	29
4. Výsledky a diskuze	30
4.1. Příprava elektrolytů s obsahem nanotrubiček	30
4.2. Separace standardních roztoků antioxidantů s využitím nanotrubiček.....	34
4.3. Aplikace metody na vzorky zeleného čaje	39
Závěr.....	43

Použitá literatura.....	44
Přílohy	46

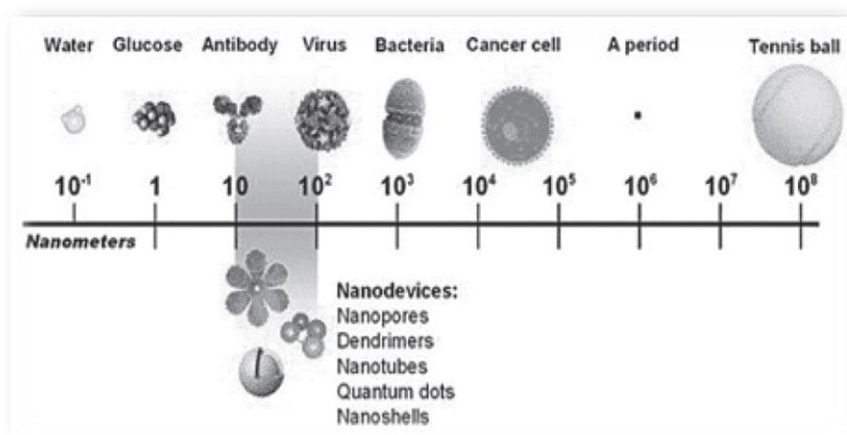
Použité zkratky

BGE	Základní elektrolyt
CE	Kapilární elektroforéza
CEC	Kapilární elektrochromatografie
CGE	Kapilární gelová elektroforéza
CIEF	Kapilární izoelektrická fokusace
CITP	Kapilární izotachoforéza
CMC	Kritická micelární koncentrace
CNPs	Uhlíkaté nanočástice
CNTs	Uhlíkaté nanotrubičky
CZE	Kapilární zónová elektroforéza
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MEKC	Micelární elektrokinetická chromatografie
MS	Molekulární spektrometrie
MWNTs	Vícestěnné uhlíkaté nanotrubičky
PSP	Pseudostacionární fáze
PSP-CEC	Kapilární elektrochromatografie s pseudostacionární fází
SC-SWNTs	Jednostěnné uhlíkaté nanotrubičky potažené povrchově aktivními látkami
SDS	Dodecylsírán sodný
SWNTs	Jednostěnné uhlíkaté nanotrubičky

1. Úvod

Nanotechnologie se řadí k jednomu z nejčastěji diskutovaných technologií současnosti. Jako nanotechnologie se obecně označuje vědní obor výzkumu a vývoje, který se zabývá cíleným vytvářením a využíváním struktur materiálů v měřítku několika nanometrů alespoň v jednom rozměru (0,1–100 nm).

Využití nanotechnologií a nanomateriálů je velmi rozsáhlé. Nalézají uplatnění v mnoha oblastech běžného života, a to v elektronice, ve zdravotnictví, strojírenství, stavebnictví, v chemickém průmyslu (např. nanotrubičky) [1]. Porovnání velikostí nanostruktur dle rozměrů s dalšími materiály je uvedeno na obrázku 1.



Obrázek 1: Porovnání velikostí běžných látek a vysvětlení pojmu nanomateriály [2].

V separačních metodách se zvyšuje počet prací zaměřených na aplikace nanočástic, které jsou využívány pro vývoj vyšších výkonností separačních technik. Významný pokrok byl zaznamenán při používání nanočástice jako stacionární nebo pseudostacionární fáze v kapilární elektrochromatografii, plynové a kapalinové chromatografii, ke zlepšení selektivity, chemické stability a separační účinnosti a zkrácení doby analýzy. Další aplikací je přidavek nanočástic do základního elektrolytu v elektroforéze [3].

2. Teorie

2.1. Úvod do kapilární elektroforézy

Kapilární elektroforéza (CE) je separační technika, schopna separovat složité směsi analytů. Je založena na působení elektrického pole a řadí se tedy mezi tzv. elektromigrační separační techniky.

V analytické chemii mají separační techniky nezastupitelný význam. Často se používají v kombinaci s vhodnou detekční metodou. Jsou založeny na různých fyzikálních a fyzikálně-chemických principech, které jsou charakterizovány svou selektivitou, rozsahem použitelnosti a frakcionační kapacitou [4].

Elektromigrační separační techniky využívají dvou elektrokinetických jevů – elektroforézy a elektroosmózy. Na rozhraní roztoku s nabitými částicemi a pevného povrchu stýkajícího se s roztokem, se vytvářejí elektrické dvojvrstvy. Časem vzniká určité rovnovážné rozdělení nábojů, které je v prostředí stejnosměrného elektrického pole narušeno a vyvolá jejich pohyb.

Princip elektroforézy spočívá v pohybu elektricky nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli, které je vytvořeno vložением konstantního stejnosměrného napětí mezi elektrody. Pohyblivost částic ovlivňuje mnoho faktorů, a to:

- *Fyzikálně-chemické vlastnosti samotných částic:* velikost, tvar, disociovatelnost povrchových skupin, schopnost adsorpce iontů a polárních molekul, tvorba komplexů a velikost náboje. Většina těchto faktorů ovlivňuje volbou vhodného separačního prostředí.
- *Vlastnosti prostředí* – elektrolyt, který se používá, má určitou koncentraci, iontovou sílu, pH, vodivost, teplotu, viskozitu a permitivitu. Pohyblivost částic mohou ovlivnit i neelektrolyty.
- *Vlastnosti nosiče* – používá se pouze u některých technik elektroforézy. Pohyblivost iontů je obvykle menší než při volné elektroforéze. Vedle speciálních technik kapilární elektroforézy se nosiče používají také v planárním uspořádání. Jako nosiče se používají různé druhy gelů a

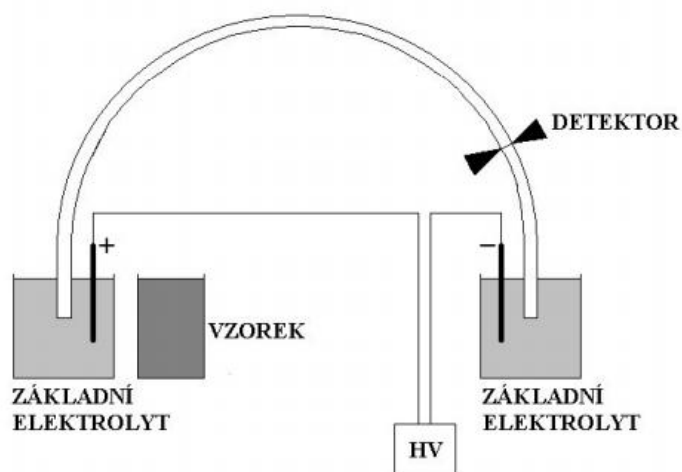
sorbentů.

- *Vlastnosti elektrického pole* – homogenita, intenzita a stabilita. Všechny tyto faktory ovlivňují rychlost migrace, ostrost a symetrii rozdělených zón [5-6].

2.1.1. Princip kapilární elektroforézy

Kapilární elektroforéza je modifikací elektroforézy, která se provádí jako volná bez nosiče v tenké kapiláře. Kapilára je zhotovena z taveného křemene. Vnitřní průměr má 10 až 100 μm , délku 50 – 100 cm a velmi malý objem, pod 10 μl . Křemenná kapilára je obalena polyimidovou vrstvou z důvodu lepší manipulace a ochrany kapiláry. Nepatrný vnitřní průměr omezuje promísení separovaných částic difuzí. O směru pohybu kapaliny rozhoduje elektroosmotický tok. V prostředí neutrálního až alkalického pufru získá povrch křemenné kapiláry záporný náboj a pufr naopak kladný.

Instrumentální uspořádání CE je založeno na systému dvou elektrod z inertního materiálu (Pt), ponořených do základního elektrolytu, který vede elektrický proud. Kapilára je naplněna základním elektrolytem a její konce jsou rovněž ponořeny do zásobníků s elektrolytem. Mezi elektrody je přiváděno vysoké stejnosměrné napětí (20 – 30 kV), které iniciuje elektromigraci analytů a elektroosmotický tok a dochází tak k separaci. Volba elektrolytu závisí na charakteru separované látky. Vzorek se dávkuje do kapiláry před začátkem analýzy. Objem vzorku je typicky v řádech nanolitrů. K detekci se nejčastěji používají fotometrické detektory založené na sledování absorpce UV záření. Záznam závislosti signálu na čase se nazývá elektroforegram. Je tvořen píky, jejichž plocha roste s obsahem složky a jejich poloha (tzv. migrační čas) je určena druhem složky. Na obrázku 2 je znázorněno schéma zařízení pro CE [6-8].



Obrázek 2: Základní schéma CE přístroje [9].

2.1.2. Rozdělení kapilárních elektromigračních technik

Mezi kapilární elektromigrační techniky patří:

- Kapilární zónová elektroforéza (*Capillary Zone Elektrophoresis - CZE*)
mechanismus separace je elektroforetická mobilita
- Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie
(*Micellar Elektrokinetic Capillary Chromatography – MEKC* nebo *MECC*)
mechanismus separace jsou hydrofilní a iontové interakce s micelami
- Kapilární elektrochromatografie (*Capillary ElektroChromatography – CEC*)
mechanismus separace je rozdělování mezi stacionární fází v kapiláře a tok mobilní fáze způsobený elektrickým polem
- Kapilární izotachoforéza (*Capillary IsoTachoPhoresis - CITP*)
mechanismus separace je elektroforetická mobilita (diskontinuální)
- Kapilární gelová elektroforéza (*Capillary Gel Elektrophoresis – CGE*)
mechanismus separace je využití síťového efektu (dělení podle molekulové hmotnosti, párů bází,...)
- Kapilární izoelektrická fokusace (*Capillary IsoElektric Focusing – CIEF*)
mechanismus separace je rozdělení analytů díky izoelektrickému bodu (pI) [5,9].

Tato bakalářská práce je zaměřena na využití nanostruktur při micelární elektrokinetické chromatografii, proto je následující text věnován výhradně této technice.

2.2. Elektrokinetické chromatografické metody

Elektrokinetická chromatografie (EKC) je analytická separační technika, která poskytuje rozlišení srovnatelné s kapilární plynovou chromatografií a často lepší než vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). EKC vychází z kapilární zónové elektroforézy (CZE), pracovní elektrolyt však obsahuje na rozdíl od CZE další složku, tzv. pseudostacionární fázi. V tabulce 1 je přehled elektrokinetických chromatografických metod podle použití pseudostacionární fáze [10].

Tabulka 1: typy EKC

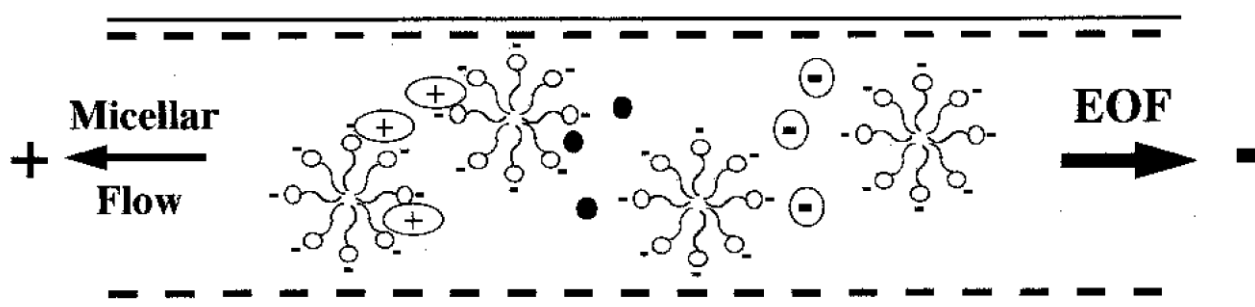
Typ	Zkratka	Pseudostacionární fáze	Vhodný analyt
Micelární EKC	MEKC	Micely	Neutrální a iontové látky
Nepřímá cyklodextrinová EKC	CD-MEKC	Micely	Hydrofobní látky, anantiomery
Mikroemulzní EKC	MEEKC	Mikroemulze	Hydrofobní látky
Afinitní EKC	AEKC	Protein, polysacharid	Enantiomery
Cyklodextrinová EKC	CDEKC	Nabíý cyklodextrin	Enantiomery
Iontově výměnná EKC	-	Ion polymeru	Iontové látky
Ligandově výměnná EKC	-	Ligand + ion kovu	Aminokyseliny
Dendrimerní EKC	-	Dendrimer	Hydrofobní látky
Suspenzní EKC	-	Chromatografické částice	Hydrofobní látky

2.2.1. Micelární elektrokinetická chromatografie

Z kapilárních elektromigračních technik se jedná o nejmladší separační techniku. V roce 1984 byla poprvé popsána Terabem a kol. Je to technika, která kombinuje principy micelární chromatografie a kapilární zónové elektroforézy. Byla vytvořena jako technika pro elektroforetickou separaci neutrálních částic. Jako pseudostacionární fáze se používá vhodný tenzid (viz. tabulka 2), jež se přidává do pracovního elektrolytu v koncentraci vyšších než tzv. kritická micelární koncentrace (CMC).

Micelární elektrokinetickou chromatografii lze rozdělit podle typu použitých kapilár na MEKC s vysokým elektroosmotickým tokem a MEKC s redukováným elektroosmotickým tokem.

Analyzované látky se rozdělují mezi micelární (pseudostacionární) fázi a vodnou (mobilní) fázi. V důsledku různých afinit složek vzorku k micelární pseudofázi jsou tyto složky rozdílně zpomalovány zpětným pohybem micel, což vede k rozdílné migrační rychlosti, a tudíž i k jejich separaci v pořadí zvyšující se afinity k micelární fázi. Velmi polární látky setrvávají jen ve vodné fázi a jsou unášeny pouze elektroosmotickým tokem a procházejí detektorem v nejkratším možném čase. Hydrofobní látky se vážou pouze do micel a jejich zóny jsou zaznamenány v čase odpovídající migračnímu času micel [10-11]. Na obrázku 3 je znázorněn princip separace pomocí micelární elektrokinetické chromatografie [12].



Obrázek 3: Princip separace pomocí MEKC [12]

Tabulka 2: Nejběžnější tenzidy používané v MECK

Typ tenzidu	Tenzid	CMC [mmol/l]	Agregační číslo
Aniontový	Dodecyl síran sodný, SDS	8,2	64
	Cholát sodný, SC	13	-
Kationtový	Dodecyltrimethylamonium bromid, DTAB	15	50
	Hexadecyltrimethylamonium bromid, CTAB	0,92	61
Neutrální	Polyoxyethylen lauryl ether, Brij 35	0,1	40

2.3. Používání nanostruktur jako aditiv základního elektrolytu v kapilární elektroforéze

2.3.1. Historie nanočástic

První zmínky o nanočásticích pocházejí z pátého nebo čtvrtého století př. n. l. z Egypta a Číny. Tehdy bylo objeveno „rozpuštěné zlato“, které bylo používáno jak pro estetické (výroba rubínového skla, barvení keramiky), tak pro léčivé účely (srdeční a sexuální problémy, úplavice, epilepsie a nádory a pro diagnózu syfilis). V roce 1857 Faraday oznámil získání koloidního zlata redukcí vodného roztoku tetrachlorozlatitanu. Termín koloid (z francouzského colle) byl vytvořen Grahamem v roce 1861. V tomto období byly také připraveny další koloidní kovy. Na rozkvět si ale tato oblast nanotechnologie, která je pokračováním koloidní chemie, musela počkat ještě jedno století. Z té doby pochází výrok laureáta Nobelovy ceny Richarda Feynmana „There is plenty of room at the bottom“ [13], kterým navrhl směr pro rychle se rozvíjející vědeckou oblast nanotechnologie. Koncem

20. století už uměli vědci manipulovat s atomy, molekulami a klastry na površích. Miniaturizace struktur konvenční a elektronovou litografií dosahuje teoretického limitu kolem 50 nm. Pro další miniaturizaci musely být vyvinuty alternativní metody. A tak vědci následující Feynmanovu vizi použili atomy a molekuly jako stavební jednotky pro kompletaci struktur v řádech nanometrů „zdola nahoru“ [14].

2.3.2. Vývoj a vlastnosti nanočástic

Požadavek rychlé a účinné analýzy chemických a biochemických vzorků vytváří stálý tlak na vývoj separačních metod, který se projevuje především miniaturizací jednotlivých klíčových prvků nebo celého separačního systému. Miniaturizace vede od zmenšování částic sorbentů, přes využití nanočástic až po technologie separací na čipu.

Od počátku roku 1960 byly v chromatografických systémech realizovány stacionární fáze zahrnující základní substrát s nanočásticemi, které byly různými způsoby uspořádány na povrchu substrátu [15]. V 1989, Wallingford a Ewing prokázali, že pseudostacionární fáze obsahující nanočástice o velikosti 20 nm sulfonátového polymeru zlepšuje separaci pěti katecholaminů. Ačkoliv rozlišení u těchto experimentů bylo nízké, účinnost nanomateriálů v separacích a význam nanomateriálů povrchové chemii byly jasně prokázány [16].

Modifikované nanočástice se v CE používají jako aditiva základního elektrolytu nebo modifikátory vnitřní stěny kapiláry. Ze dvou důvodů se využívají nanostruktury v CE, a to pro malý průměr částic, který umožňuje jejich plnění do použitých kapilár, a jednak jejich povrchový náboj, který podporuje elektroosmotický tok [17].

Přidáním nanočástic do základního elektrolytu má stejný efekt jako použití micel v MEKC a poskytuje tak analytům další možnosti interakcí. Pod vlivem elektrického pole se analyty pohybují a jsou děleny podle efektivního náboje, a také podle rozdělovací rovnováhy mezi roztokem pufru a nanočásticemi nebo PSP. Tento dodatečný rozdělovací efekt zvyšuje počet separačních stupňů volnosti a umožňuje separaci nejen nabitých částic, ale také neutrálních, za předpokladu, že nanočástice poskytnou zbytkový náboj. Změnou složení nanočástic lze kontrolovat povahu interakcí a přizpůsobit systém pro konkrétní analyt. Je třeba poznamenat,

že analyty a PSP mohou interagovat přes povrch PSP nebo určitou částí molekuly organické látky navázané na povrch nanočástice. Aby byly nanočástice účinné v EKC, musí splňovat následující požadavky:

- a) Jejich velikost by se měla pohybovat v rozmezí nanometrů.
- b) Jejich povrch by měl mít zbytkový náboj, aby usnadnili vytvoření stabilní suspenze a poskytoval elektroforetickou pohyblivost PSP. Ve skutečnosti nanočástice procházejí kapilárou v důsledku účinků elektroosmotického toku a jejich vlastní elektroforetické pohyblivosti.
- c) Měly by být schopné interakce s cílovými analyty a mezi interakcemi s dělenými analyty by měly být podstatné rozdíly.
- d) Měly by být kompatibilní s používaným systémem detekce analytů. Nanočástice jsou obvykle kompatibilní s UV/VIS a MS detektory.

Nanočástice se liší v chemickém složení a lze tedy očekávat, že se budou lišit i fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Ne všechny druhy nanočástic však mají vhodné elektrické vlastnosti nebo dostatečně velký povrch pro usnadnění interakcí s analyty. Vyšší rozlišení analytů získané v přítomnosti nanočástic lze obecně připsat interakcím mezi nanočásticemi a analyty, přesný mechanismus separace ale není detailně popsán. Orientace a agregace nanočástic v kapilární CE jsou mimořádně důležité, hlavně pro nanočástice v EKC, a přesto jsou málokdy vzaty v úvahu. Velmi často nanočástice způsobují sférické překážky, což se projeví vznikem topologických spletenců, kdy výsledkem je změna mobility. Také nanočástice mohou agregovat a tvořit síť poskytující další interakční místa nebo dokonce tvořit malé sítě pórů, kterými mohou analyty během separace pronikat. Z těchto podmínek, k separaci dochází podobně jako v molekulárním prosévání. Některé druhy nanočástic (tj. porézní polymery, otevřené CNTs a molekulárně vtištěné polymery) mají póry přístupnější k průniku analytů.

Někteří autoři objasňovali píkové rozšíření v systémech nanočástic, které připisovali podélným difúzím, adsorpčním/desorpčním kinetikám, radiálním teplotním gradientům, mezičásticovým přenosům hmoty a disperzím, z důvodu nanočásticové mobility. Z výše uvedených faktorů jsou přesto nanočástice komplexní systémy [18].

Nejčastěji používané nanočástice jsou fulereny, nanočástice na bázi křemíku,

drahých kovů a oxidů kovů a uhlíkaté nanočástice. Při přípravě těchto částic se využívá povrchové úpravy funkčních skupin molekul, aby se zabránilo agregaci částic a mohla se kontrolovat velikost. Tím se dosáhne vysoké selektivity [20]. Nás budou zajímat pouze uhlíkaté nanočástice (CNPs), a to uhlíkaté nanotrubic (CNTs).

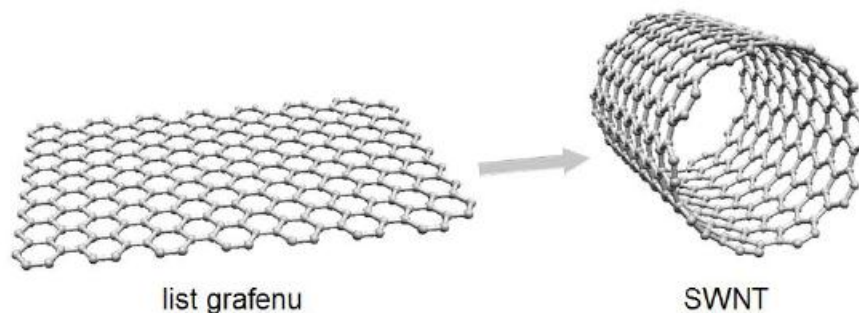
2.3.3. Typy a vlastnosti uhlíkatých nanostruktur

V posledních letech byly popsány různé alotropní CNPs, včetně fulerenů, nanostruktur cibulového tvaru, nanodiamantů, nanotubic, uhlíkatých nanorohů, peapodů, uhlíkatých nanovláken, nanotubicových kroužků a nanotubolů. V analytické chemii jsou nejrozšířenější dvě alotropické formy fulerenů a uhlíkatých nanotubic na základě jejich charakteristických vlastností [17].

2.3.4. Uhlíkaté nanotrubičky

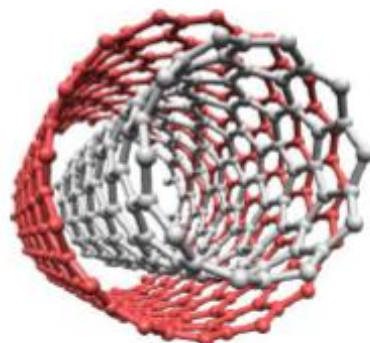
Uhlíkaté nanotrubičky (CNTs) patří k relativně novým materiálům. První pozorování a popis CNTs bylo provedeno v roce 1952 Radushkevichem a Lukaynovichem [19] a později v roce 1976 Oberlin a spol. pozorovali jednotěnné nebo dvoustěnné CNTs. Nicméně, objev uhlíkatých nanotrubiček je připisován Iijimovi, který v roce 1991 první popsal výrobní proces vícevěnných uhlíkatých nanotubic (MWNTs) a o dva roky později Iijima s Ichihashi popsali proces růstu jednotěnných uhlíkatých nanotubic (SWNTs) [21].

CNTs lze popsat jako grafitové desky (s hybridizací uhlíku sp^2) srolované do malých trubiček, které jsou až několik centimetrů dlouhé a několik desítek nanometrů v průměru. Jejich konstrukce je omezena fulerenovou velikostí. Grafitová deska má šestiuhlíkatou strukturu podobnou včelím plástvím [18]. Mají velký povrch, vysokou elektrickou vodivost, dobrou chemickou stabilitu a významnou mechanickou pevnost. CNTs jsou zpravidla špatně rozptýlitelné v čistých vodných roztocích a v některých organických rozpouštědlech, kvůli jejich vysoké hydrofobicitě [22]. Na obrázku 4 je znázorněno srolování listu grafenu do SWNT.



Obrázek 4: Srolování grafenu do SWNT [21].

Existují dva hlavní typy CNT, a to jednotěnné uhlíkaté nanotrubičky (SWNTs – obrázek 4) a víceštěnné uhlíkaté trubičky (MWNTs – obrázek 5), které tvoří koaxiální balení obsahující několik grafitových desek vložených do sebe.



Obrázek 5: Struktura MWNT [21].

Na základě jejich unikátních mechanických, elektrických, teplotních a magnetických vlastností, byly CNTs aplikovány pro různé účely, včetně nanoelektrických zařízení. CNTs mohou být kovové či polovodičové [22].

2.3.5. Použití CNTs jako pseudostacionární fáze v elektrokinetické chromatografii

První aplikace CNTs v PSP-CEC byla popsána Wangem a kol. [23], který použil jednotěnné nanotrubičky substituované karboxylovými skupinami pro separaci kofeinu a theobrominu s vyšším rozlišením. Aby bylo dosaženo stabilní suspenze ve vodné bázi elektrolytů, byly CNTs modifikovány hydroxylovou, karbonylovou, karboxylovou skupinou v koncentrované kyselině. Nárůst koncentrace SWNT způsobil zvýšení migračního času analytů. Proto, byly SWNTs navrženy tak, aby

v elektrolytu tvořily porézní síť, která by se chovala jako stacionární fáze. Nabité SWNTs potlačují elektrodifúzy a snižují adsorpci analytů na povrchu kapiláry a tím mohou být molekuly s různou velikostí separovány síťovým efektem.

MWNTs byly poprvé aplikovány v PSP-CEC pro separaci purinových a pyrimidinových bází RNA kvasinek. MWNTs interagují s molekulami pomocí elektrostatických interakcí a vodíkových vazeb. Při dosažení určité úrovně koncentrace MWNTs došlo ke zvýšení migračních časů analytů. Síť MWNTs byla navržena s vlastnostmi molekulárního síťování tak, aby se (díky velkému povrchu a funkčních skupin na povrchu MWNTs) snížily interakce mezi analyty a stěnou kapiláry [22].

CNTs jsou nerozpustné v nejběžnějších rozpouštědlech, ale pro použití jako pseudo-stacionární fáze (PSP), by měly tvořit homogenní elektrolyt stabilní v elektrickém poli. Pro vytvoření stabilní suspenze nanočástic je nutné použít povrchově aktivní látky. CNTs často mohou být solvatovány pomocí hydrofobní interakce s povrchově aktivními látkami, polymery, polysacharidy nebo proteiny, nicméně ne všechny jsou stabilní v elektrickém systému. Přesný mechanismus, kterým jsou povrchově aktivní látky uspořádány na povrchu CNP není znán, ale předpokládá se, že dochází k adsorpci micel na povrchu nanočástic a zapouzdření CNPs do povrchově aktivních micel [18]. Využitelnost CNTs v mnoha aplikacích je omezena jejich hydrofobicitou a agregací, a proto pro dosažení vhodné suspenze byly vytvořeny modifikované CNTs upravené kyselinou, kovalentní a nekovalentní stabilizací [24].

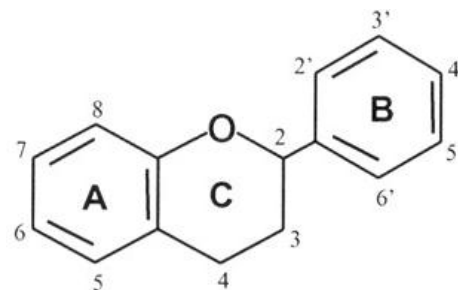
Protože nekovalentní povrch nanočástic je rozpustný za elektroforetických podmínek, musí být povrchově aktivní látky použity při vysokých koncentracích v CE [18]. Různé hodnoty koncentrací tenzidů mohou ovlivňovat elektroforetickou mobilitu. Čím nižší koncentrace povrchově aktivních látek jsou použity, tím vyšší změny elektroforetické mobility je dovoleno, díky přítomnosti CNTs jako PSP [25].

Na rozdíl od jiných typů nanočástic (křemenných, zlatých, polymerních), mají CNPs na svém povrchu aromatický delokalizovaný systém, který umožňuje separaci aromatických látek nebo látek schopných interagovat s aromatickými systémy pomocí π - π interakcí (Charge - Transfer komplexy) [18].

2.4. Separace flavonoidů a fenolických kyselin v MEKC pomocí uhlíkatých nanotrubic jako aditiv

2.4.1. Flavonoidy

Flavonoidy (jiným názvem bioflavonoidy) jsou přírodní produkty vznikající jako sekundární metabolity rostlin. Jedná se o skupinu (poly-)fenolických látek, které obsahují v molekule dvě benzenová jádra (A, B) spojená přes heterocyklus odvozený od pyranu nebo pyronu (C) (obrázek 6). Přírodní flavonoidy se nejčastěji vyskytují ve formě O-glykosidů a ve své molekule tedy zahrnují cukernou a necukernou složku. Podle polohy benzenového jádra (B) lze flavonoidy dále rozdělit na flavony, flavanoly, flavanony, flavonoly, antokyaniny, katechiny, leukoantokyaniny, izoflavonoidy, neoflavonoidy a další.



Obrázek 6: Struktura flavonu jako základní skelet flavonoidů

Dnes je známo více než 4000 flavonoidních látek rostlinného původu. Mají silné antioxidantní účinky, které jsou příznivé pro lidský organismus. Potravinám rostlinného původu dodávají barvu, vůni, chuť.

2.4.2. Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou prekurzory flavonoidů. Tvoří přibližně jednu třetinu polyfenolů přítomných v potravě. Stejně jako flavonoidy mají fenolické kyseliny antioxidantní účinky, kdy síla účinku závisí na koncentraci antioxidantu, na složení a na struktuře.

Fenolické kyseliny jsou rozšířené téměř ve všech rostlinách. Vyskytující se převážně v listech, květech, semenech, plodech a při zpracování rostlinného materiálu přecházejí do produktů rostlinného původu (např. med, víno, káva, čaj kakao...) [26].

2.4.3. Separace flavonoidů a fenolických kyselin micelární elektrokinetickou chromatografií

Nejčastěji používaná technika kapilární elektroforézy pro separaci a stanovení flavonoidů a fenolických látek je micelární elektrokinetická chromatografie, která nalezla uplatnění pro separaci těchto látek v čaji, víně, pivu, medu, rostlinách a rostlinných extraktech. Touto metodou lze v jedné analýze separovat jak neutrální flavonoidy, tak i fenolické kyseliny iontové povahy. MEKC separace flavonoidních látek jsou obvykle prováděny pomocí borátového základního elektrolytu o pH vyšší než 7. Nejpoužívanější pseudostacionární fází je dodecylsírán sodný [27].

Suárez a kol. a Moliner-Martinéz a kol. navrhli použití jednotěnných uhlíkatých nanotrubiček potažených povrchově aktivními látkami nebo MWNTs jako PSP v CE. Tyto metody byly použity ke změně elektrochromatografických vlastností fenolických sloučenin, ve vzorcích nesteroidních protizánětlivých přípravků, penicilinů, efedrinů, triazinů, které byly zajištěny díky různým interakcím mezi analyty a povrchem CNTs.

Cao a kol. vyvinuli novou elektroforetickou metodu pro stanovení flavonoidů a fenolických kyselin s použitím jednotěnných uhlíkatých nanotrubiček potažených povrchově aktivními látkami (SC-SWNTs) jako aditiv v základního elektrolytu. Optimalizovaná metoda s použitím SC-SWNTs byla použita pro analýzu devíti důležitých aktivních látek ve dvojici drog *Radix Astragali* a *Radix et Rhizoma Salvia Miltiorrhizae*. Přítomnost SC-SWNT v základním elektrolytu způsobila zvýšení elektroforetického rozlišení a zlepšení tvaru píku díky velké ploše a adsorpční kapacitě CNTs [24].

Využití nanotrubiček v separačních technikách představuje jeden z moderních směrů vývoje. Použití nanotrubiček pro separaci přírodních látek kapilární elektroforézou není prozatím příliš rozšířené, ale počet prací v této oblasti roste.

V této bakalářské práci byly ověřovány možnosti použití nanotrubiček pro separaci přírodních látek, konkrétně zastoupení fenolických antioxidantů v čaji.

3. Experimentální část

3.1. Chemikálie

Fenolické kyseliny a flavonoidy – struktury a další informace jsou uvedeny v příloze (tabulka 4).

Kyselina trihydrogenboritá, >99.5 % - Fluka (Buchs, Švýcarsko)

Dekahydrát tetraboritanu sodného, >99.0 % - Fluka (Buchs, Švýcarsko)

Dodecylsíran sodný, >98.0 % - Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)




Deionizovaná voda – připravená na zařízení Demiwa 5ROI (Watek, Ledec nad Sázavou) a SG UltraClear (SG, Hamburg, Německo)

Vzorky čaje – tabulka 3

Uhlíkaté nanotrubičky – jsou uvedeny v příloze tabulka 5

Tabulka 3

Vzorky čaje

Čaj	Navážka [g]/100 ml	
White tea citrus	1,6073	
Řecký zelený čaj	2,0311	
Ahmad tea – London	2,1614	

Pickwick	2,1125	
----------	--------	---

3.2. Použitá instrumentace

3.2.1. Přístroj pro CE

Analýzy byly prováděny pomocí kapilární elektroforézy Capel 105M (Lumex, St. Peterburg, Rusko) při napětí 20 kV. Vzorky byly analyzovány při teplotě 25 °C. pH elektrolytu bylo měřeno pomocí Orion 3 Star pH metrem (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). V případě borátového pufru o pH 9,05 byly standardy i směsi proměřovány při napětí 20 kV. Všechna měření byla provedena při vlnové délce 220 nm.



Obrázek 7: Kapilární elektroforéza Capel 105M

3.2.2. Separační kapilára

K analýze byla použita křemenná kapilára (Agilent, Palo Alto, CA, USA) o vnitřním průměru 50 μm a délce 50 cm, efektivní délka činila 40 cm. Na kapiláře bylo vytvořeno detekční okénko pomocí zapalovače. Stejným způsobem byly opáleny konce kapilár. Nová kapilára byla stabilizována promytím 0,5 M NaOH po dobu 10 minut, deionizovanou vodou dalších 10 minut a nakonec 10 minut základním elektrolytem. Na obrázku 8 je zobrazena křemenná kapilára.



Obrázek 8: Křemenná kapilára v kazetě

3.3. Příprava základních elektrolytů

Borátový pufr o pH 9,05 byl připraven smícháním 25 mmol/l kyseliny trihydrogenborité a 25 mmol/l tetraboritanu sodného (borax). Požadovaného pH bylo dosaženo vhodným poměrem kyseliny a boraxu průběžným měřením roztoku na pH-metru Orion 3 Star (Thermo, Scientific, Waltham, MA, USA). Před měřením pH byla provedena kalibrace pH-metru pomocí tří kalibračních pufrů o pH 4,00; 7,00; 10,01. Poté byly připraveny základní elektrolyty (BGE), a to:

- Dodecylsírán sodný (SDS) o koncentraci 20g/100ml;
- SDS + MWNTs - 1030 o koncentraci 1 μ g/25ml
- SDS + MWNTs - 1030 s přídavkem butanolu (20% v/v) o koncentraci 1 μ g/25ml
- SDS + MWNTs - 4060 o koncentraci 1 μ g/25ml
- SDS + MWNTs – 4060 s přídavkem butanolu (20% v/v) o koncentraci 1 μ g/25ml
- SDS + SWNTs s přídavkem butanolu (20% v/v) o koncentraci 1 μ g/25ml.

Dodecylsírán sodný byl pomocí ultrazvuku rozpuštěn v deionizované vodě, aby

jeho koncentrace byla 20g/100ml, a smíchan s borátovým pufrem a s nanotrubičkami.

3.4. Příprava vzorků

Ze zásobních roztoků jednotlivých standardů o koncentraci 0,5 g/l v metanolu byly připraveny roztoky k analýzám (viz. obrázek 9).



Obrázek 9: Zásobní roztoky standardů flavanoidů a fenolických kyselin

Do nádobek o objemu 1ml byly připraveny roztoky standardů, které byly naředěny deionizovanou vodou. Koncentrace analyzovaných roztoků byla 10 mg/l.

Dále byly připraveny roztoky vzorků čaje (viz. obrázek 10). Do 100 ml kádinek byly vloženy vzorky čaje a byly zality horkou vodou a louhovány po dobu 3 minut. Po vylouhování byly roztoky ochlazeny na laboratorní teplotu. Před převedením extraktu do nádobek byly roztoky zfiltrány pomocí injekční stříkačky s filtrem Millipore 0,45 μ m (Bredford, MA, USA).



Obrázek 10: Extrakty čajů

3.5. Postup analýz

Analýzy byly prováděny za použití 25 mmol/l borátového pufru o pH 9,05. Pracovní nádoby o objemu 1 ml byly naplněny jednotlivými elektrolyty, standardními roztoky fenolických kyselin a flavanoidů a extrakty čajů. Vzorky byly separovány MEKC. Analýzy probíhaly podle programu:

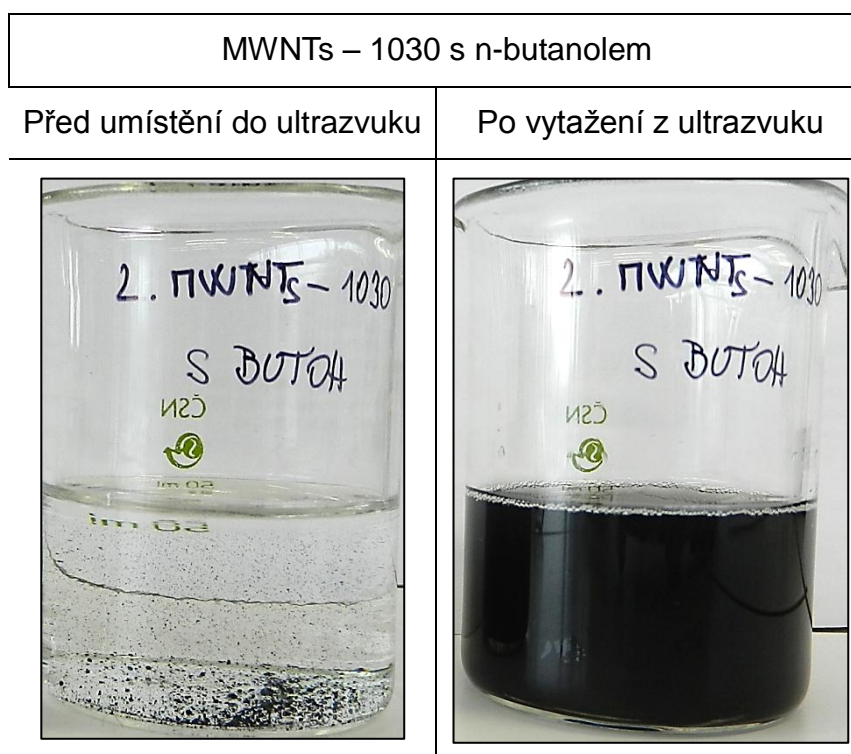
- I. Promytí kapiláry základním elektrolytem 2 minuty.
- II. Dávkování vzorku tlakem 50 mBar po dobu 10 s.
- III. Analýza při napětí 20 kV v elektrolytu o pH 9,05 při teplotě 25 °C. Analyzované látky byly detekovány při vlnové délce 220 nm.

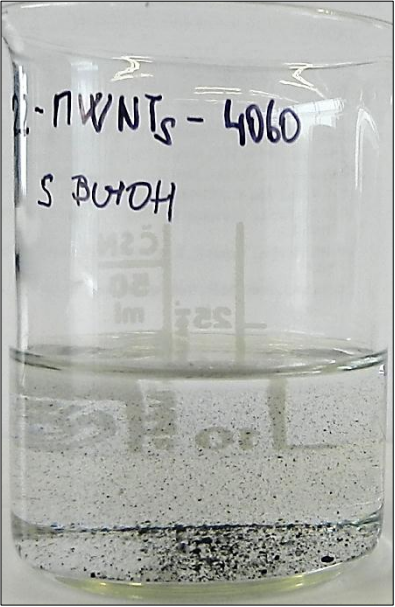
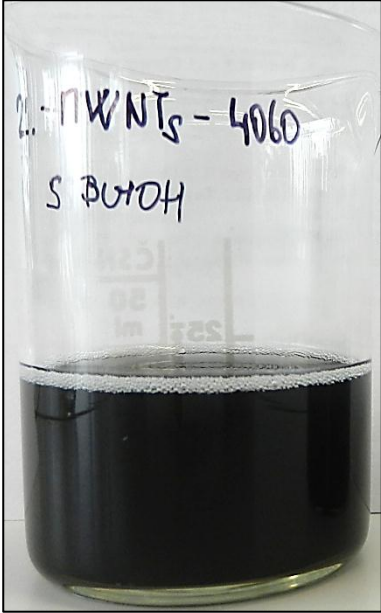
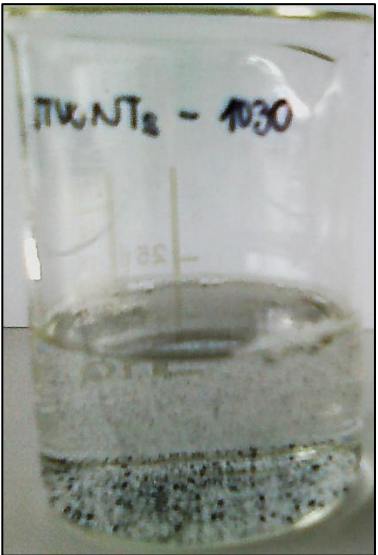
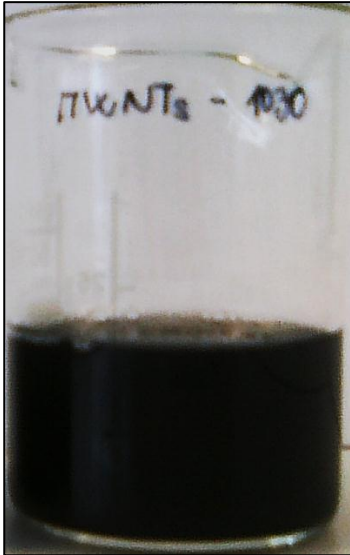
4. Výsledky a diskuze

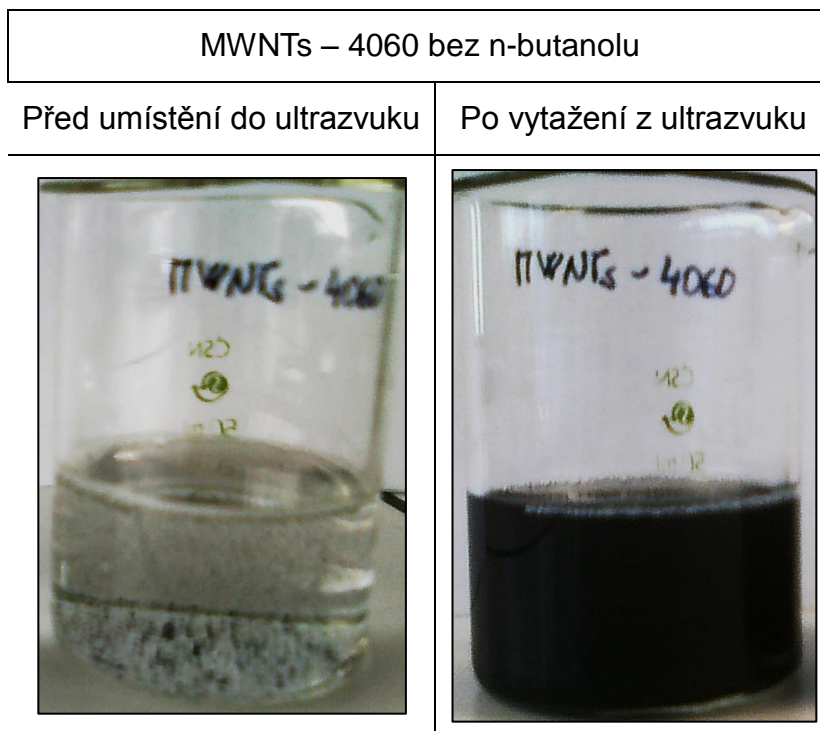
4.1. Příprava elektrolytů s obsahem nanotrubiček

Pro ověření možnosti použití nanotrubiček v MEKC byl zvolen jeden typ SWNTs a dva typy MWNTs (viz. experimentální část), které byly dostupné na Katedře analytické chemie. Z uvedených nanotrubiček byly nejprve připraveny zásobní suspenze v roztoku SDS a byla hodnocena jejich stabilita z hlediska sedimentace nanotrubiček. Dále byla hodnocena stabilita suspenzí s přidavkem n-butanolu. Oba typy suspenzí byly připraveny pro MWNT, u SWNTs byla připravena pouze suspenze s n-butanolem, protože bylo k dispozici pouze malé množství nanotrubiček toho typu. Po smíchání nanotrubiček s roztokem SDS a případně s n-butanolem byly suspenze umístěny na 15 minut do ultrazvukové lázně. Na obrázku 11 jsou fotografie suspenzí před umístěním a bezprostředně po vytažení z ultrazvuku.

Obrázek 11: Kádinky se suspenzemi před a umístěním a po vytažení z ultrazvuku.

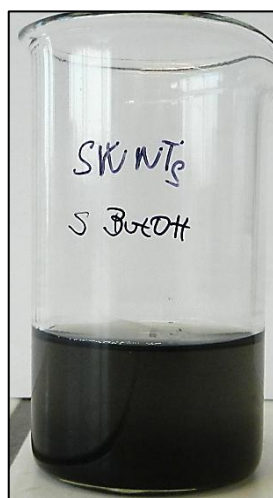


MWNTs – 4060 s n-butanolem	
Před umístění do ultrazvuku	Po vytažení z ultrazvuku
	
MWNTs – 1030 bez n-butanolu	
Před umístění do ultrazvuku	Po vytažení z ultrazvuku
	



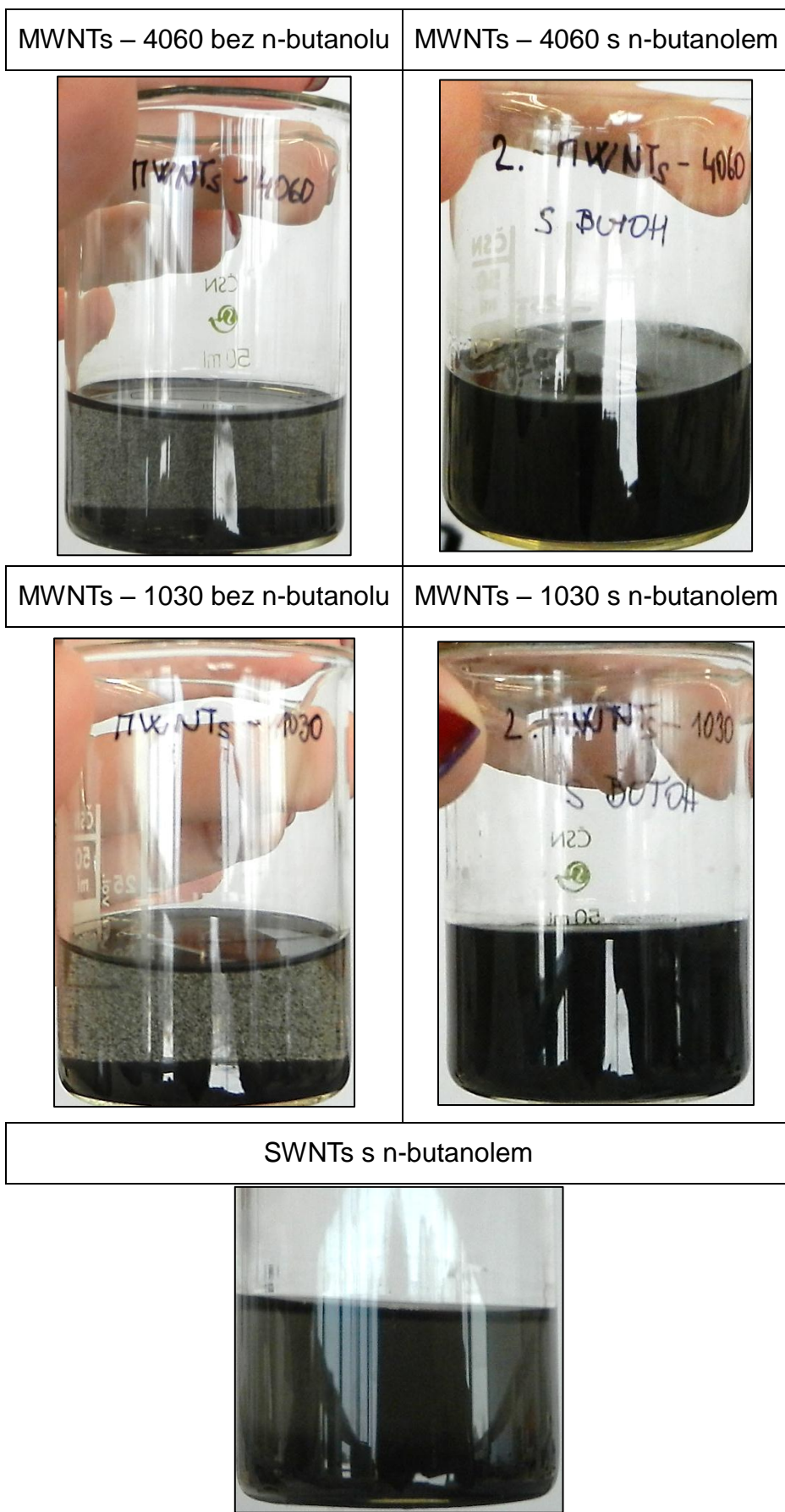
SWNTs s n-butanolem

Po vytažení z ultrazvuku



Další fotografie byly pořízeny po 24 hodinovém stání suspenzí (obrázek 12)

Obrázek 12: Suspenze po 24 hodinovém stání



Z obrázků 11 a 12 je patrné, že po umístění suspenzí do ultrazvuku měly nanotrubičky lepší schopnost být ve vznosu než po 24 hodinovém stání. Tuto schopnost bylo možno udržet i po 24 hodinovém stání tím, že do suspenze byl přidán roztok n-butanolu. Tento přídavek přesto nedocílil takového vznosu, kde by bylo možné považovat suspenzi za homogenní v celém objemu. Proto pro separaci standardů antioxidantů a vzorků čaje byly použity suspenze bezprostředně vytažené z ultrazvuku.

Byly vytvořeny čtyři typy základního elektrolytu, a to elektrolyt bez CNTs, elektrolyt s CNTs (SWNTs, MWNTs) a elektrolyt s CNTs a n-butanolem. BGE byl připraven rozpuštěním SDS v ultrazvuku. Po rozpuštění byl k roztoku přidán příslušný objem zásobní suspenze CNTs. Poté byl roztok pufrován borátovým puftrem, který byl připraven smícháním boraxu s kyselinou boritou. V připravených elektrolytech byly následně separovány standardy antioxidantů a byly zkoumány vlivy přítomnosti CNTs na separaci. Následně byly analyzovány také vzorky čaje.

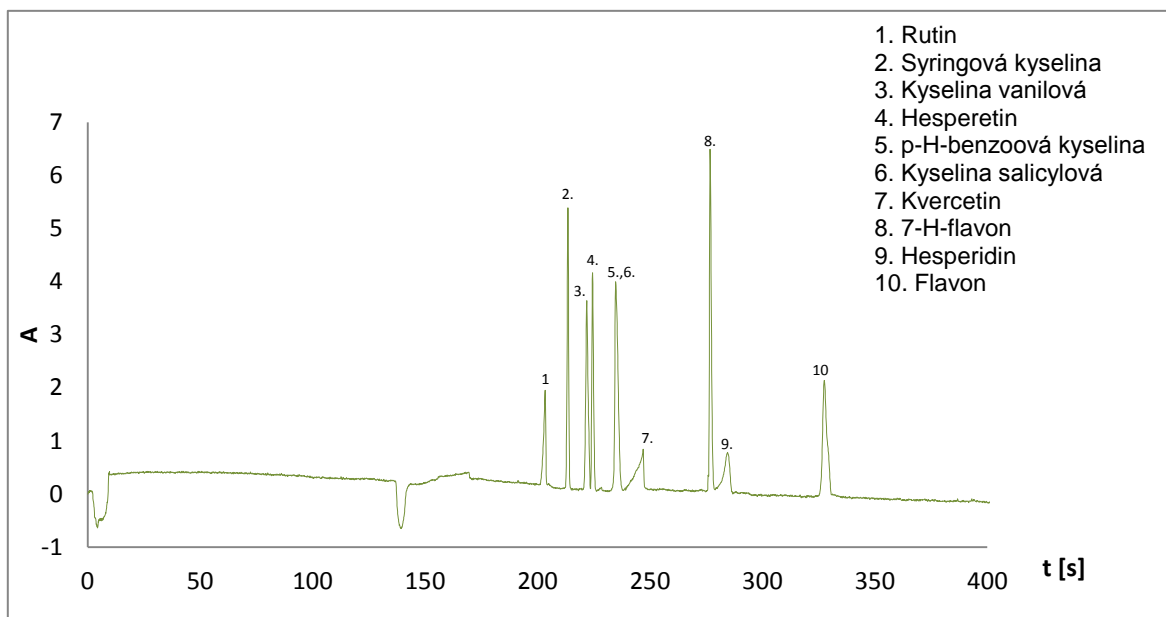
4.2. Separace standardních roztoků antioxidantů s využitím nanotrubiček

Nejprve byla provedena analýza standardů antioxidantů v elektrolytu bez nanotrubiček (viz. experimentální část), u kterých byly určeny migrační časy. Dále byla ve stejném elektrolytu separována směs standardů, ve které byly identifikovány jednotlivé látky na základě shody migračních časů (obrázek 13).

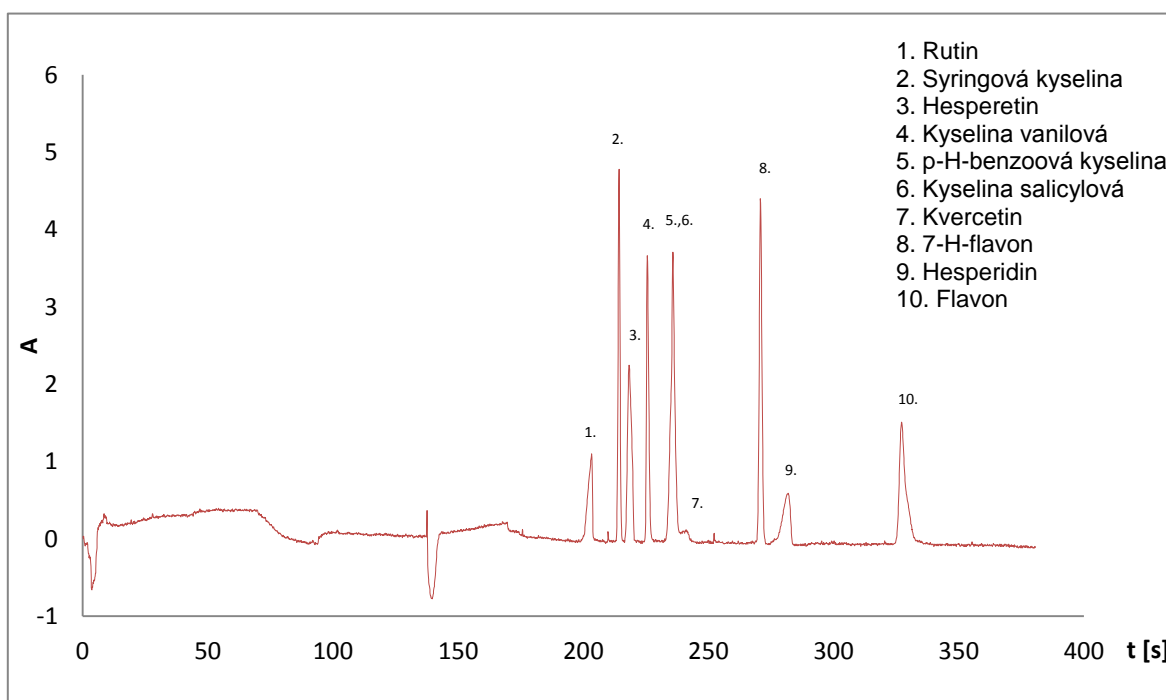
Podobným způsobem byly proměřeny standardy antioxidantů a jejich směs také ostatních elektrolytů s nanotrubičkami (obrázek 14 a 15). Z porovnání separací v BGE bez a s obsahem nanotrubiček je patrné, že s přídavkem nanotrubiček dochází k částečné změně selektivity separace. Při použití MWNTs v elektrolytech bez n-butanolu (obrázek 14 a 16) je ovlivněna migrace hesperetinu a kvercetinu, přičemž větší vliv na migrační časy mají MWNTs s většími rozměry (obrázek 14). V elektrolytech s n-butanolem (obrázek 15 a 17) je opět ovlivněna migrace kvercetinu, kde v MWNTs 4060 migruje stejnou rychlostí jako p-hydroxybenzoová kyselina a kyselina salicylová a není od těchto kyselin oddělen (obrázek 15).

Použití SWNTs s n-butanolem má odlišný vliv na selektivitu a ovlivňuje především migraci fenolických kyselin (obrázek 18). V tomto elektrolytu dochází ke změně migračního času kyseliny vanilové a p-hydroxybenzoové a je částečně rozdělen kritický pár p-hydroxybenzoová s kyselinou salicylovou. Z hlediska rozlišení této dvojice látek tedy přináší použití SWNTs pozitivní vliv na separaci při porovnání s elektrolytem bez nanotrubiček (obrázek 13).

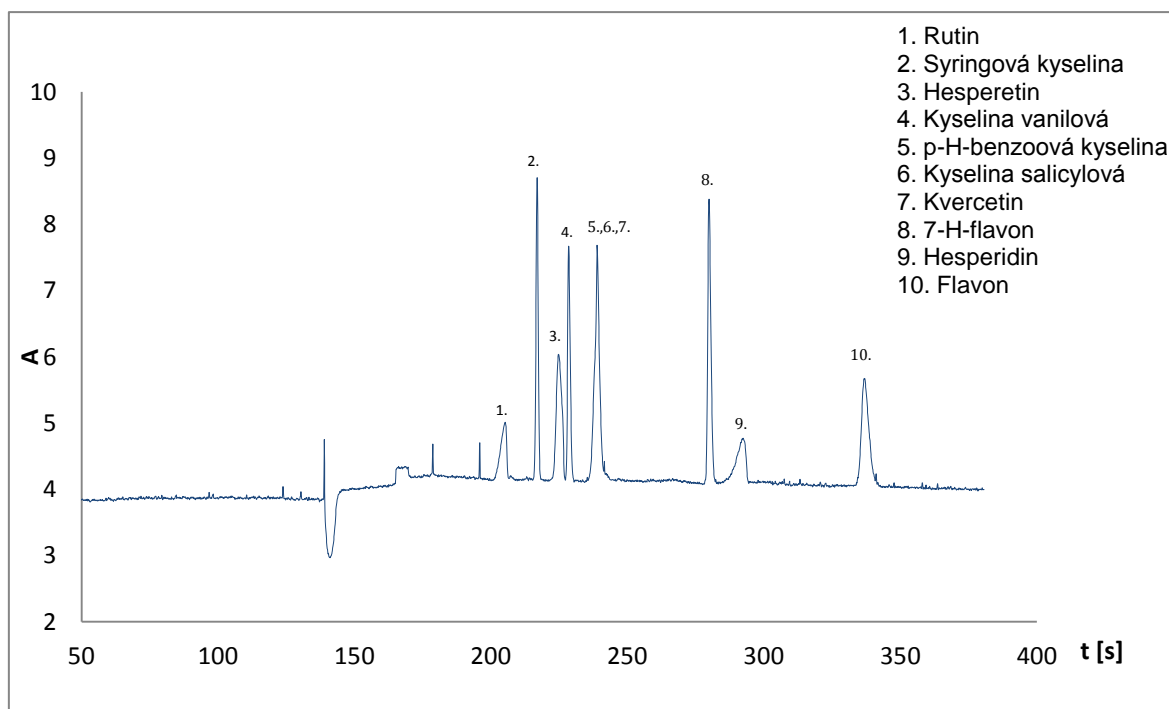
Dále byl studován vliv koncentrace nanotrubiček v základním elektrolytu v rozmezí 0,2-1 mg/25ml na separaci antioxidantů. Separace standardů antioxidantů v elektrolytech s přídavkem 0,4-1 mg/25 ml SWNTs a obou použitých MWNTs a s přídavkem n-butanolu je znázorněn na grafech v příloze (příloha – obrázky 23 – 25).



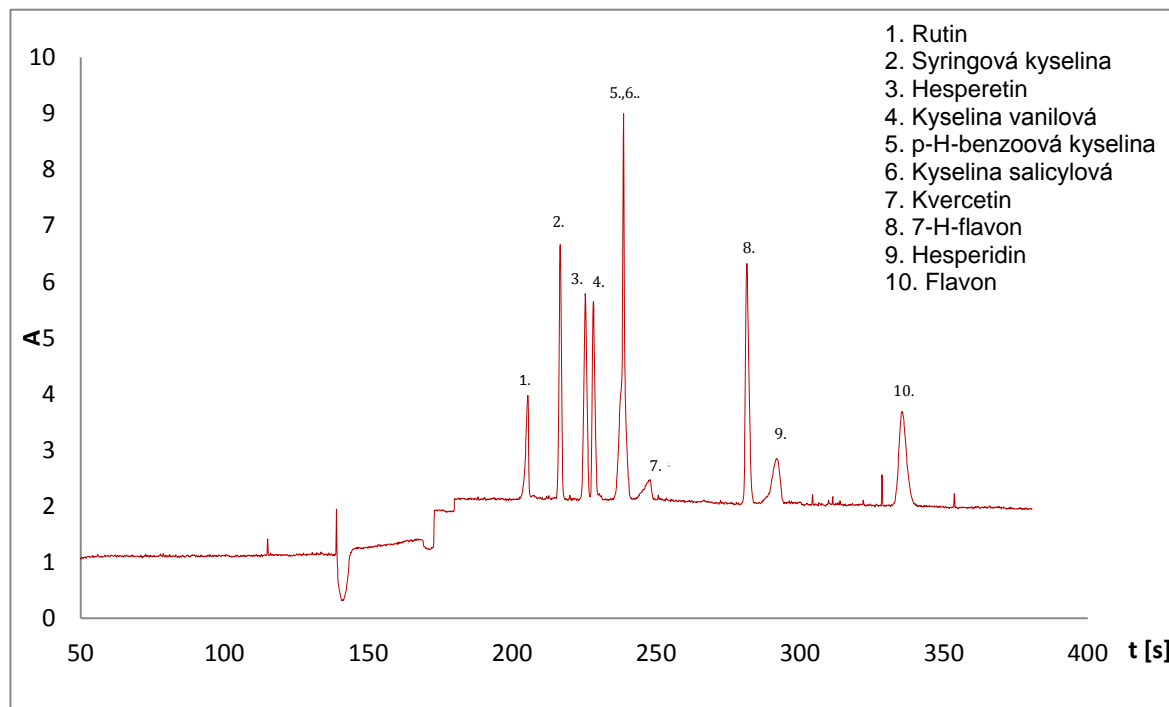
Obrázek 13: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt bez CNTs** po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



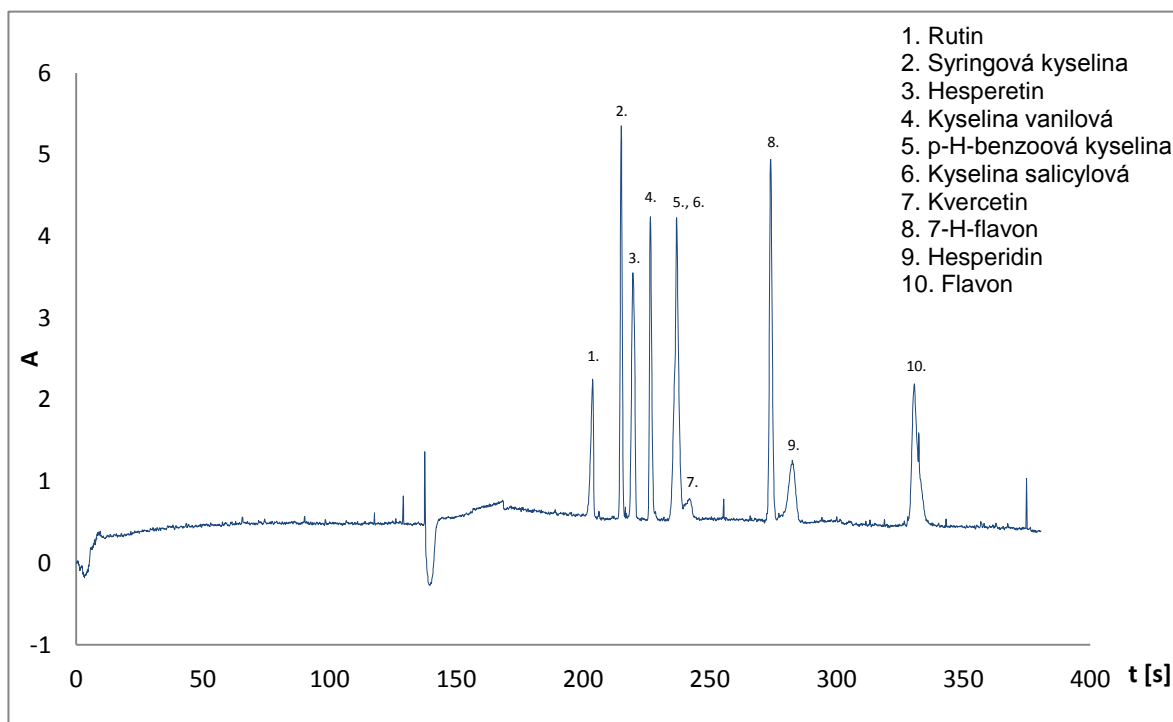
Obrázek 14: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt s MWNTs – 4060 bez n-butanolu** o koncentraci 0,2 mg/25ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



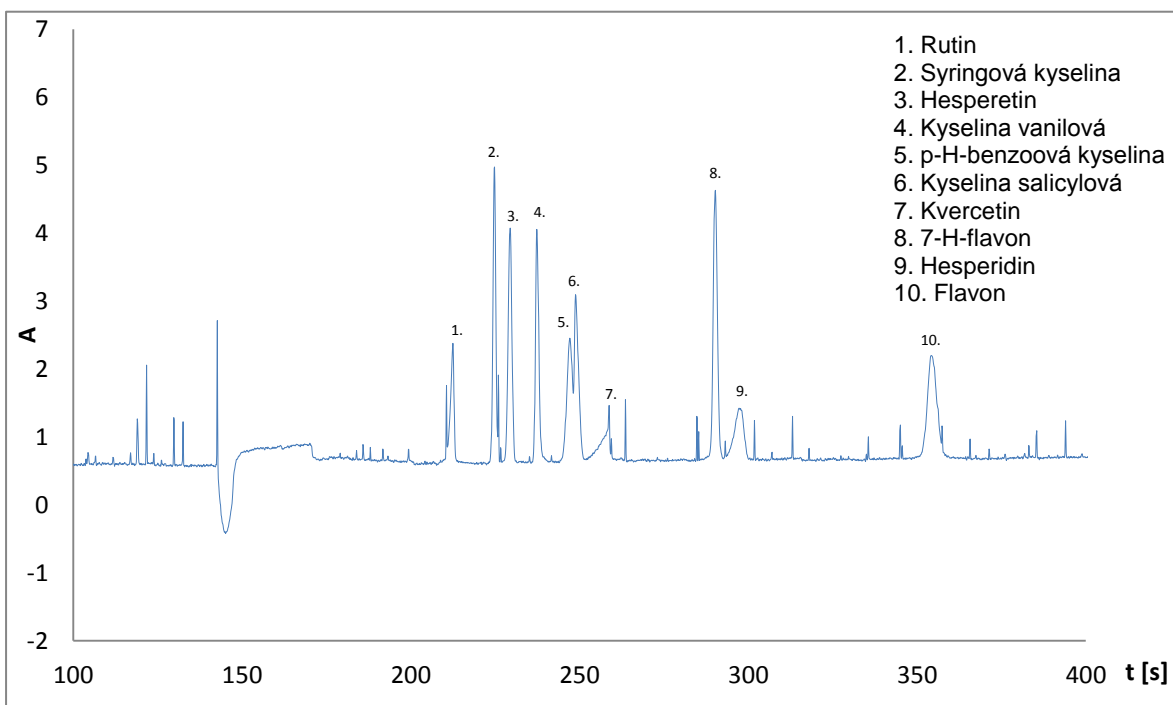
Obrázek 15: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt s MWNTs – 4060 s n-butanolem** o koncentraci 0,2 mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 16: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt s MWNTs – 1030 bez n-butanolu** o koncentraci 0,2 mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 17: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt s MWNTs-1030 s n-butanolem** o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.

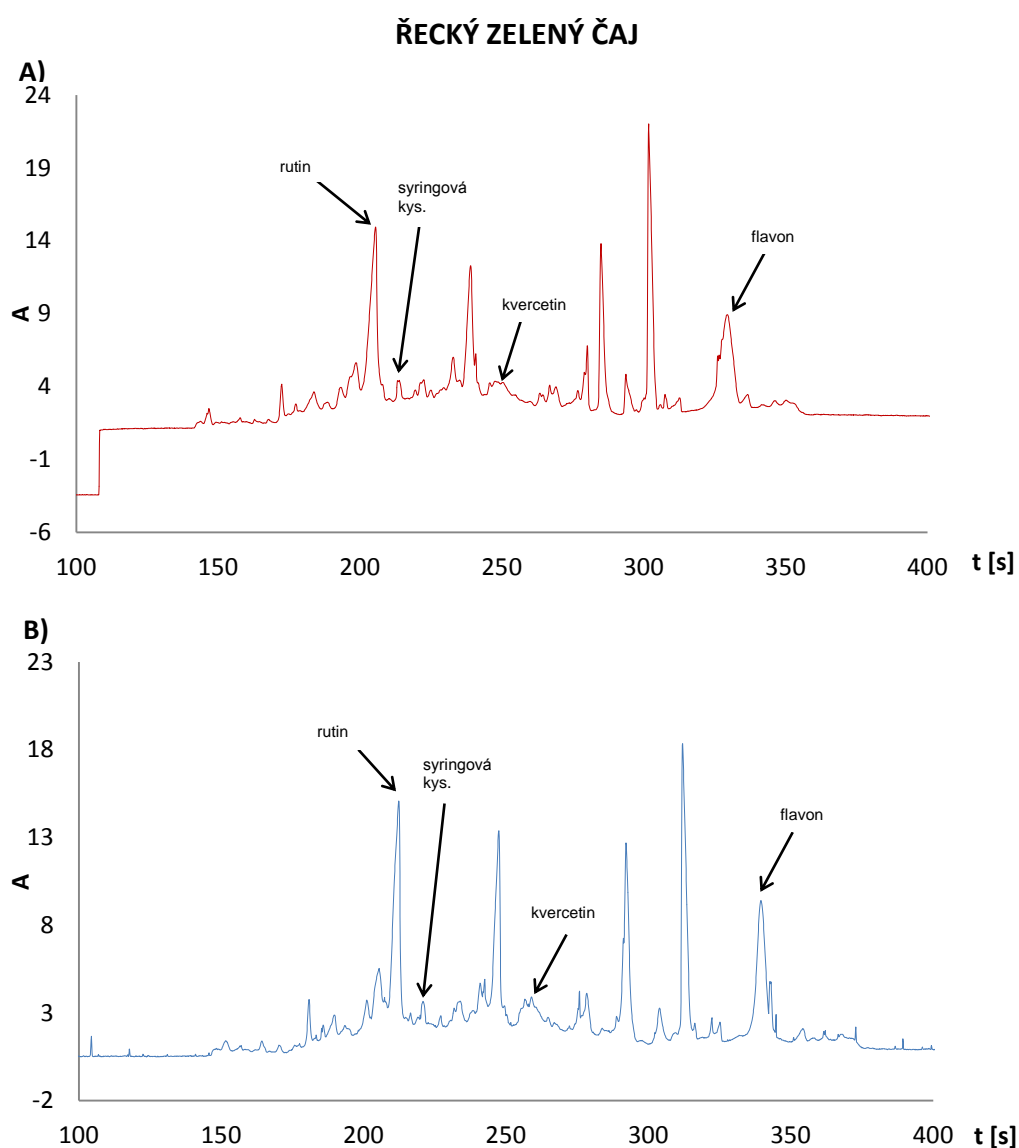


Obrázek 18: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, **základní elektrolyt s SWNTs s n-butanolem** o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.

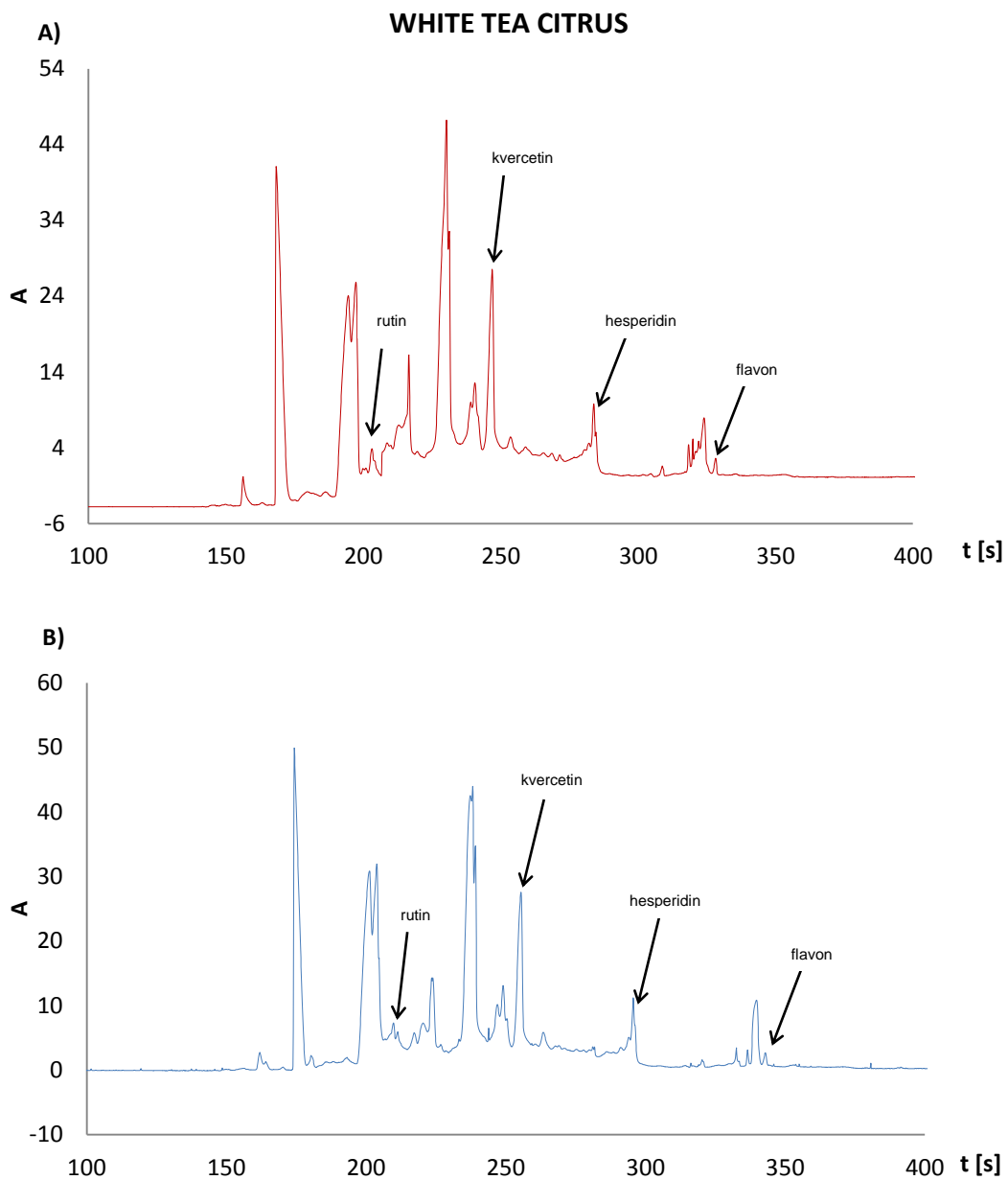
4.3. Aplikace metody na vzorky čaje

Po analýze standardů byly připraveny vzorky čtyř různých čajů. Sáčky čajů byly zality vroucí vodou. Po třech minutách vylouhování byly sáčky vyjmuty z výluhu. Před analýzou byly extrakty zfiltrány.

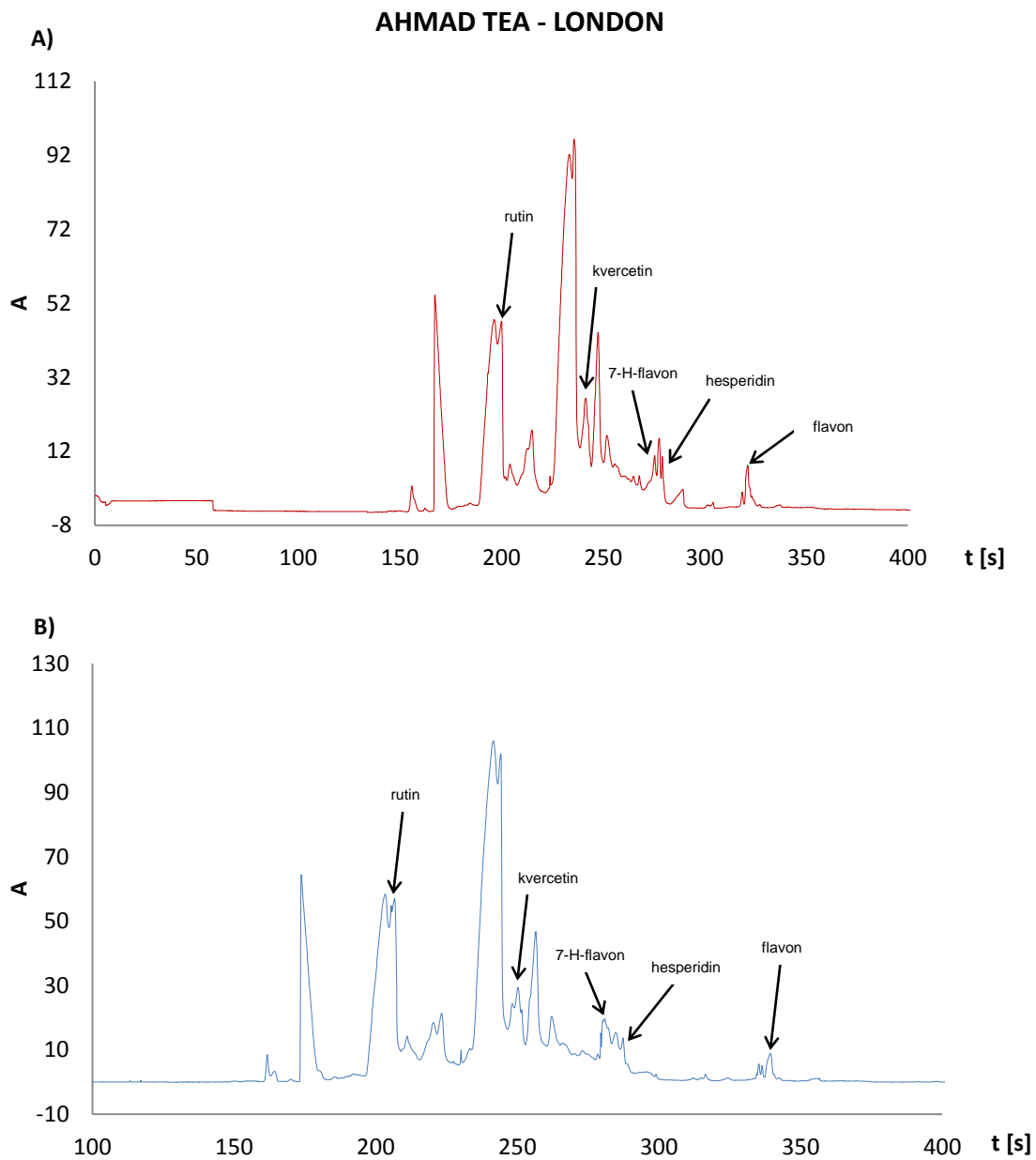
Nejprve byla analýza čajů provedena v elektrolytu bez uhlíkatých nanočástic, u kterých byly zjištěny migrační časy. Poté byla provedena analýza v elektrolytu s uhlíkatými nanočásticemi. Srovnání elektroforegramů jsou zobrazeny na obrázcích 19-22.



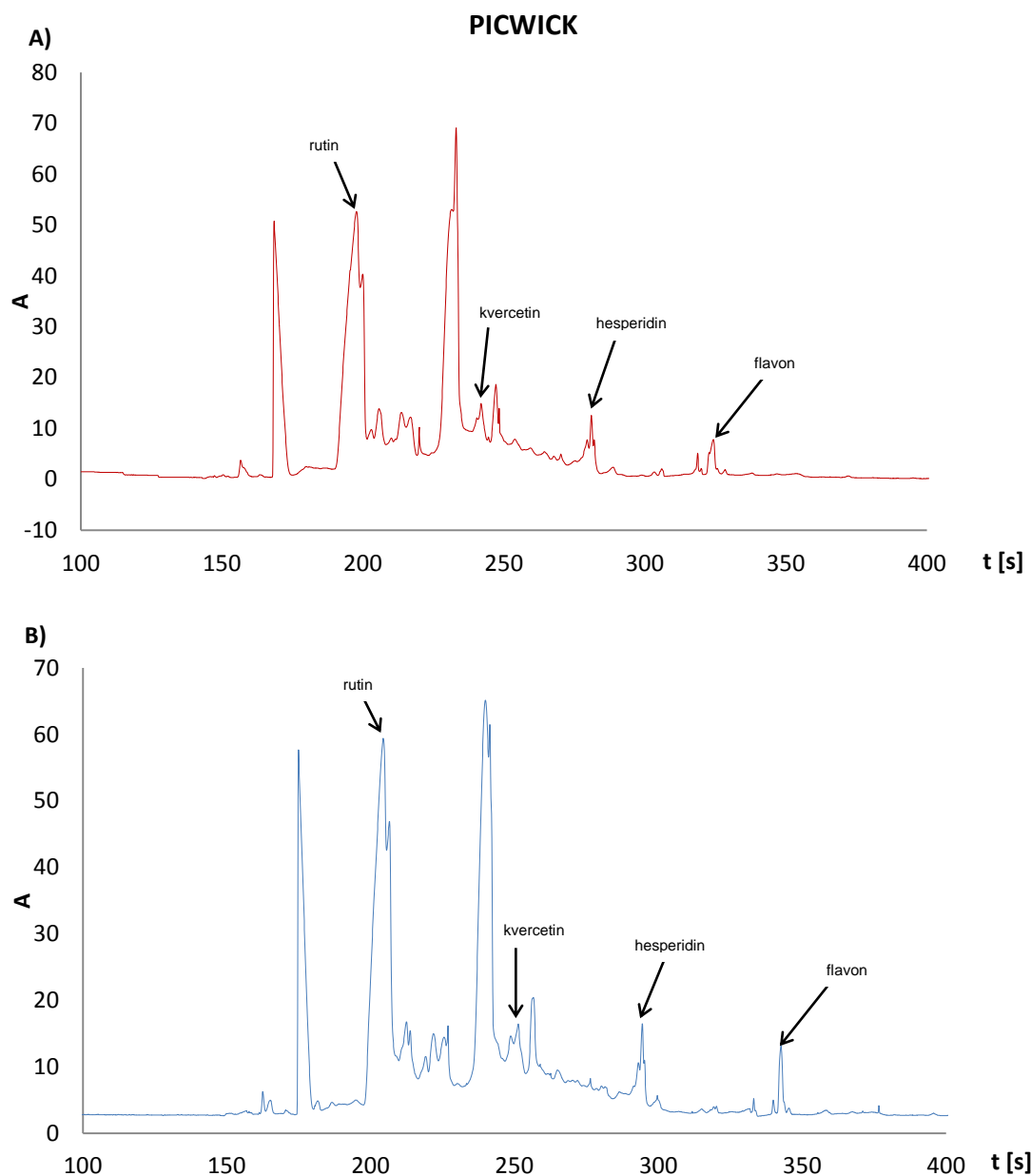
Obrázek 19: Separace vzorku zeleného čaje, základní elektrolyt **A) bez CNTs**, **B) s SWNTs *n*-butanolem** o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 20: Separace vzorku bílého čaje, základní elektrolyt **A)** bez CNTs, **B)** s SWNTs s *n*-butanolem o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 21: Separace vzorku zeleného čaje, základní elektrolyt **A)** bez CNTs, **B)** s SWNTs s *n*-butanolem o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 22: Separace vzorku zeleného čaje, základní elektrolyt **A) bez CNTs, B) s SWNTs s *n*-butanolem** o koncentraci 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.

Z obrázku je patrné, že vzorky čajů jsou komplexní směsi látek, které je možné úspěšně separovat pomocí kapilární elektroforézy. Přítomnost nanotrubiček v základním elektrolytu ovlivňuje rozlišení látek přítomných v zeleném čaji, ovšem pro detailnější popis vlivů nanotrubiček na takto komplexní směs by bylo nutné provést celkovou identifikaci látek přítomných v těchto vzorcích. Detailnější popis vlivů nanotrubiček na separaci a jejich vztah se strukturou analyzovaných látek přesahuje svým rozsahem rámec této práce.

Závěr

Tato předložená bakalářská práce se v teoretické části zabývala vlivem uhlíkatých nanotrubiček na separaci směsí přírodních látek, které obsahovaly flavonoidy a fenolické kyseliny, pomocí kapilární elektroforézy. Použití nanotrubiček pro separaci přírodních látek kapilární elektroforézou není prozatím příliš rozšířené. Proto byla experimentální část zaměřena na separaci čtyř vzorků čaje pomocí micelární elektrokinetické chromatografii s použitím uhlíkatých nanotrubiček jako aditiv.

Analýzy vzorků čaje byly prováděny v elektrolytech obsahujících 25mmol/l borátového pufru s 20g/100ml SDS, ke kterým byly přidány uhlíkaté nanotrubičky s koncentracemi v rozmezí 0,2-1 mg/25 ml. Pro zvýšení stability suspenzí nanotrubiček v roztocích SDS byl použit přídavek n-butanolu.

Z měření bylo patrné, že přítomnost CNTs ovlivňuje selektivitu separace a rozlišení flavonoidů i fenolických kyselin, které jsou přítomny ve vzorcích čaje. Uvedené hodnoty se zvyšují se zvyšující se koncentrací CNTs.

Použitá literatura

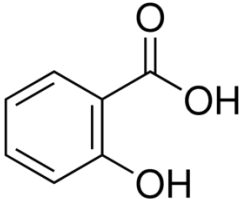
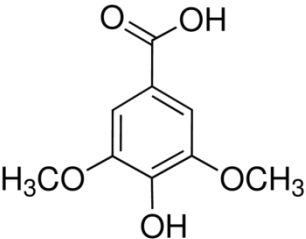
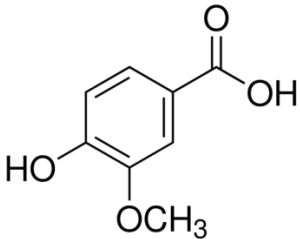
- [1] Navrátil V.: *Rozvoj nanotechnologií a lidské zdraví*, dostupné na: http://www.ped.muni.cz/z21/2007/konference_2007/sbornik_2007/sb07_soucasny_diskurs/cze/navratil_cz.pdf, staženo 12. 3. 2012.
- [2] Taniguchi N., *Proc.of the Int.Congress on Prod.Eng.*, Japan, str. 974.
- [3] Duan A. H., *Nanoparticles as stationary and pseudo-stationary phases in chromatographic and electrochromatographic separation*, TRAC-Trend Anal. Chem., svazek 30., vydání 3., str. 484-491.
- [4] Vondrák D.: *Analytická chemie*, Praha; SNTL 1985, str. 219.
- [5] Klouda P.: *Moderní analytické metody*, Ostrava; nakladatelství P. Klouda, 2003, str. 33-38.
- [6] Churáček J. a kol.: *Analytická separace látek*, Praha; SNTL 1990, str. 305-306.
- [7] Elektroforéza, [on-line], dostupné na http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/cze/CZE.pdf, staženo 5. 4. 2012.
- [8] Volka K. a kol.: *Analytická chemie II*, Praha VŠCHT, 1995, str. 208 – 211.
- [9] Dušek M.: *Disertační práce*, VŠCHT Praha, 2004 .
- [10] Fischer J., Česla P.: *Analýza organických látek*, 2Theta – Analytical standards and equipment, 2005, ISBN: 80-86380-29-7, str. 428-437.
- [11] Kašička V.: *Teoretické základy a separační principy kapilárních elektromigračních metod*, Chem. Listy, 1997, svazek 91, str. 320-329.
- [12] *Micelární elektrokinetická chromatografie*, [on-line], dostupné na <http://www.babonline.org/bab/027/0009/bab0270009f05.htm?resolution=HIGH>, staženo 5. 4. 2012.
- [13] Feynman R., *There's plenty of room at the bottom*, Engeneering and Science Magazine, 1960, svazek 23, str. 22-26.
- [14] Řezanka P., Záruba K. Král V., *Potenciál modifikovaných nanočástic v analytické chemii*, Chem. Listy, 2007, svazek 101, str. 881-885.
- [15] Duan A. H., Xie S. M., *Nanoparticles as stationary and pseudo-stationary phases in chromatographic and electrochromatographic separations*, TRAC-Trend Anal. Chem., 2011, svazek 30, vydání 3., str. 484-491.
- [16] Ivanov M. R., Heas A. J., *Nanomaterials surface chemistry desing in capillary electrophoresis modes*, Analyst, 2011, svazek 136, str. 54-63.
- [17] Guihen E., Glennon J. D., *Nanoparticles in separation science - Recent developments*, Anal. Lett., 2003, svazek 36, vydání 15., str. 3309-3336.

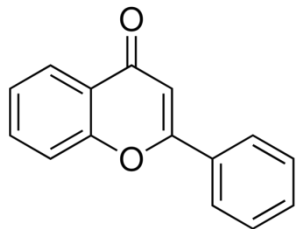
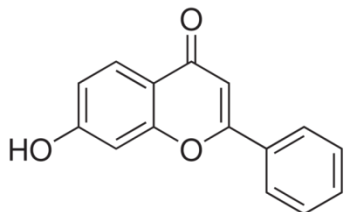
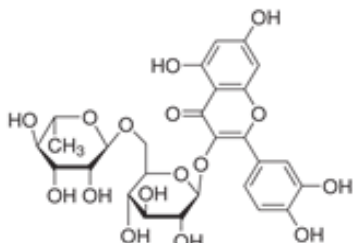
- [18] Moliner-Martínez Y., Cárdenas S., *Recent developments in capillary EKC based on carbon nanoparticles*, Electrophoresis, 2009, svazek 30, str. 169-175.
- [19] Radushkevich L. V., Lukyanovich V. M., *O strukture ughleroda, obrazujucesgja pri termiceskom razlozenii okisi ughleroda na zeleznom kontakte (About the structure of carbon formed by thermal decomposition of carbon monoxide on iron substrate)*, Zurn. Fisic. Chim., 1952, svazek 26, str. 88-95.
- [20] Zhang Z., Yan B., Liao Y., *Nanoparticle: is it in capillary electrophoresis?*, Anal. and Bioanal. Chem., 2008, svazek 391, str. 925-927.
- [21] Prášek J., *Uhlíkaté nanočástice: Grafen, nanotrubičky, fullerény*, dostupné na:
<http://www.umel.feec.vutbr.cz/nanoteam/data/soubory/CTN,%20grafen,%20fullerenCNTs+grafen+fullereny.pdf> , staženo 21. 2. 2012.
- [22] Nilsson Ch., Nilsson S., *Use of nanoparticles in capillary and microchip electrochromatography*, J. Chromatogr. A, 2007, svazek 1168, str. 212-224.
- [23] Wang Z. H., Luo G. A., *Carbon nanotubes as separation carrier in capillary electrophoresis*, Electrophoresis, 2003, svazek 23, str. 4181-4188.
- [24] Cao J., Qu H., Cheng Y., *Separation of flavonoids and phenolic acids in complex natural products by microemulsion electrokinetic chromatography using surfactant-coated and carboxylic single-wall carbon nanotubes as additives*, Electrophoresis, 2010, svazek 31, str. 1689-1696.
- [25] Moliner-Martínez Y., Barrios M., Cárdenas S., Valcárcel M., *Comparative study of carbon nanotube and C60 fullerenes as pseudostationary phases in electrokinetic chromatography*, J. Chromatogr. A, 2008, svazek 1194, str. 128-133.
- [26] *Biológia, ekológia, Chémia; Časopis pro školy*, 2010, číslo 1, ISSN 1338-1024, dostupné na : http://bech.truni.sk/prilohy/BECH_1_2010.pdf#page=12 staženo 16. 4. 2012
- [27] Česla P., Fischer J., Jandera P., *Separation of phenolic acids and flavone natural antioxidants by two-dimensional method combining liquid chromatography and micellar electrokinetic capillary chromatography*, Electroforesis, 2010, svazek 31., str. 2200-2010.

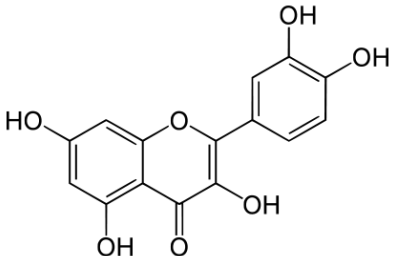
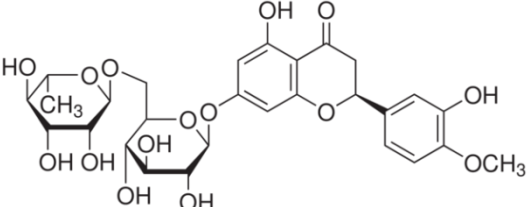
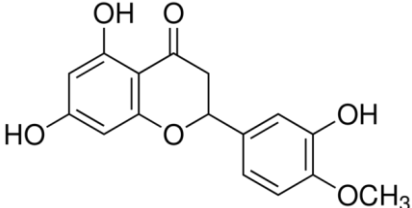
Přílohy

Tabulka 4

Přehled použitých fenolických kyselin a flavonoidů

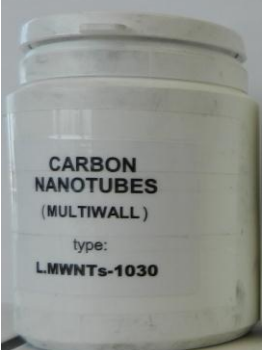

Fenolická kyselina	Struktura	Systematický název	Molekulová hmotnost [g/mol]	Výrobce	Čistota
Kyselina salicylová		2-hydroxybenzoová kyselina	138,12	Sigma	≥99.0%
Kyselina syringová		3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoová kyselina	198,17	Sigma	≥95.0%
Kyselina vanilová		4-hydroxy-3-methoxybenzoová kyselina	168,15	Fluka	≥97.0%


Flavanoid	Struktura	Systematický název	Molekulová hmotnost [g/mol]	Výrobce	Čistota
Flavon		2-fenyl-4H-1-benzopyran-4-on 2-fenyl-4H-1-benzopyran-4-on	222,24	Fluka	≥99.0%
7-H-flavon		7-hydroxyflavon	238,24	Aldrich	98.0%
Rutin		Kvercetin-3-rutinosid hydrát	610,52	Sigma	≥94.0%

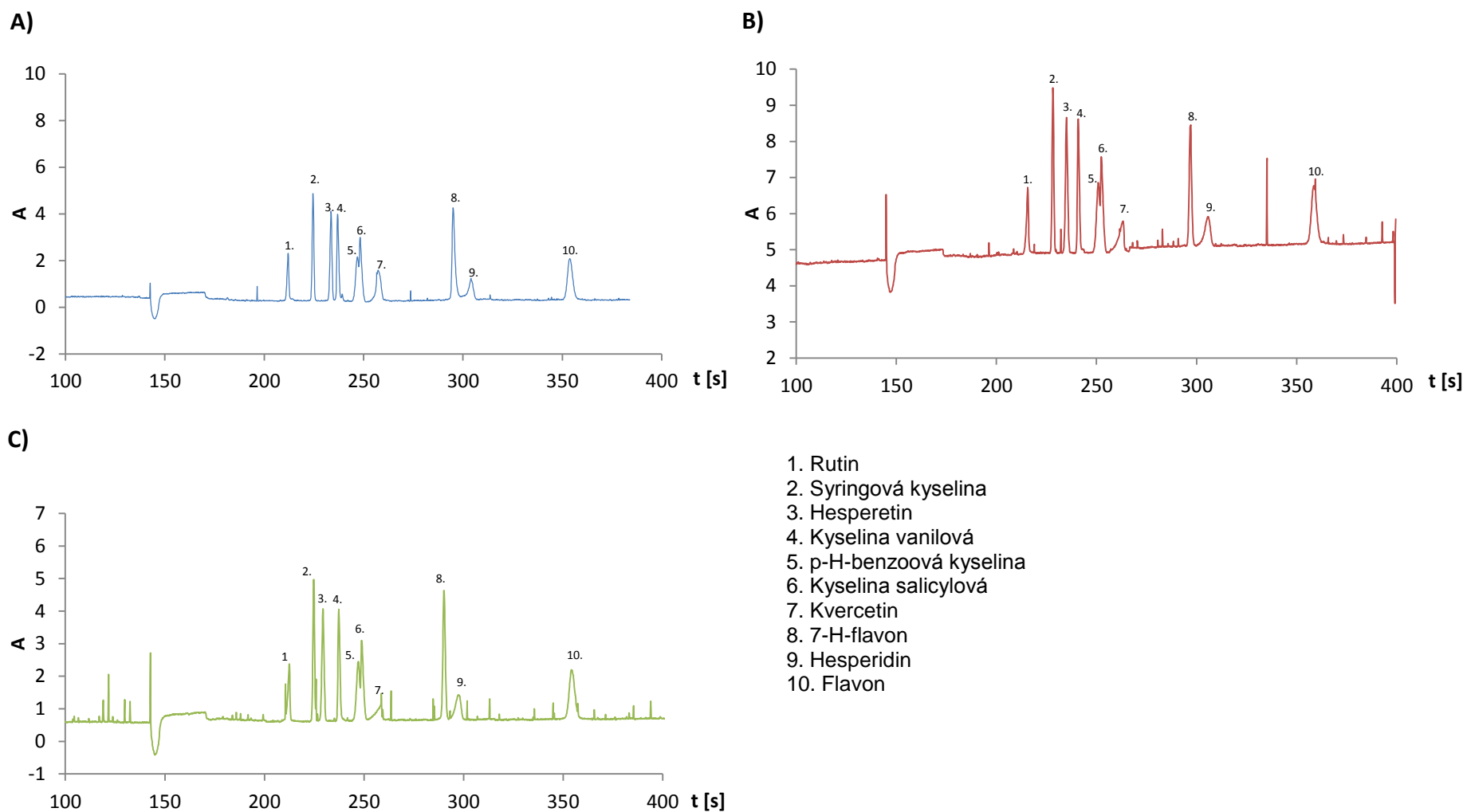
<p>Kvercetin</p>		<p>2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-on</p>	<p>302,24</p>	<p>Sigma</p>	<p>≥98.0%</p>
<p>Hesperidin</p>		<p>Hesperetin 7-rhamnoglucosid, Hesperetin-7-rutinosid</p>	<p>610,56</p>	<p>Sigma</p>	<p>≥80.0%</p>
<p>Hesperetin</p>		<p>(2S)-5,7-Dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4-chromanone 3',5,7-Trihydroxy-4-methoxyflavanone</p>	<p>302,28</p>	<p>Aldrich</p>	<p>≥95%</p>

Tabulka 5

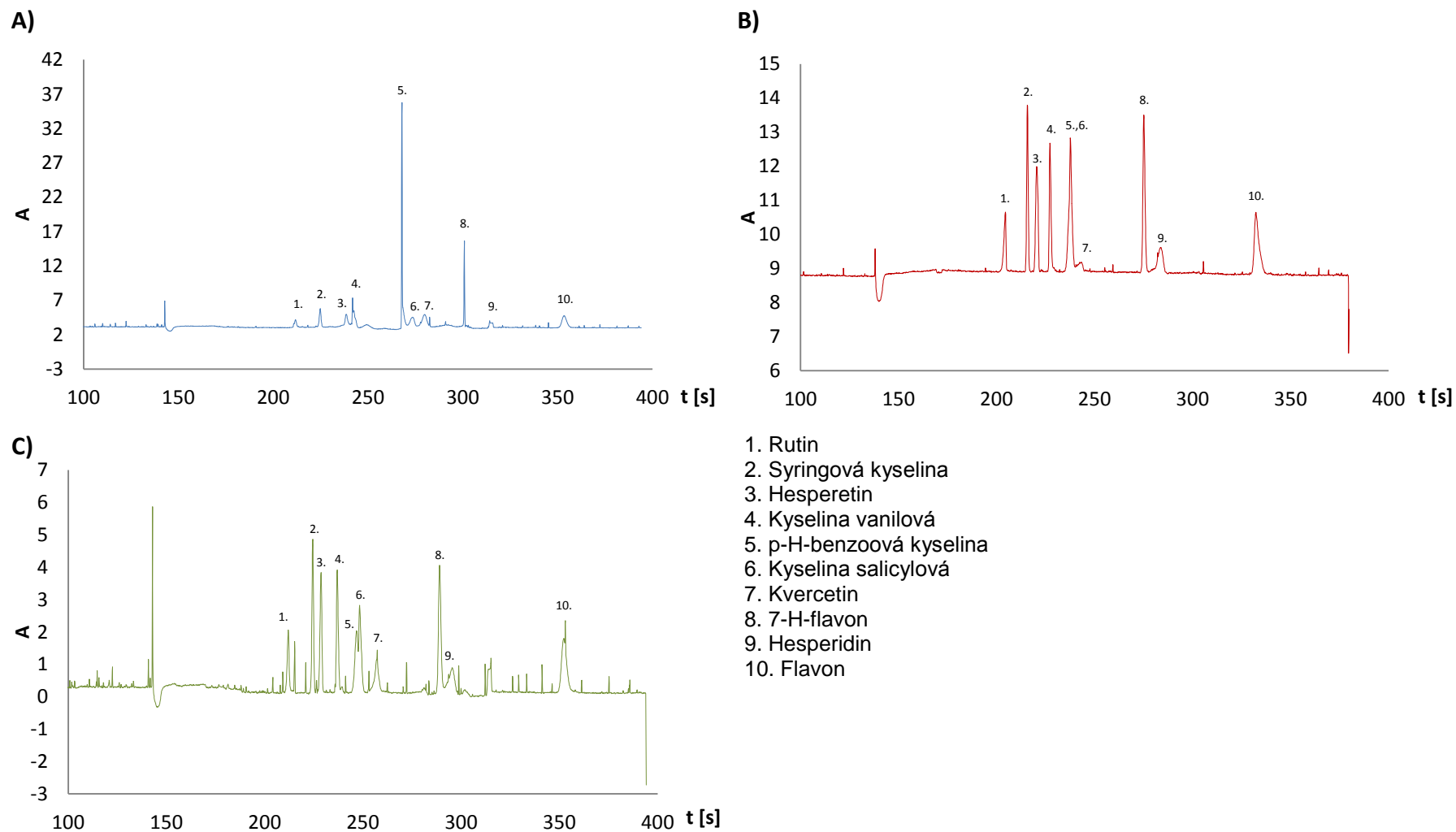
Přehled použitých nanotrubiček

Nanoturbička		rozměr	Výrobce
MWNTs-1030		Průměr: 10-30 nm délka: 5-15 μm čistota: $\geq 95\%$ speciální povrch: 40-300 m^2/g	Shenzhen Nanotech Port Co.,Ltd.
MWNTs-4060		Průměr: 40-60 nm délka: 5-15 μm čistota: $\geq 95\%$ speciální povrch: 40-300 m^2/g	Shenzhen Nanotech Port Co.,Ltd.

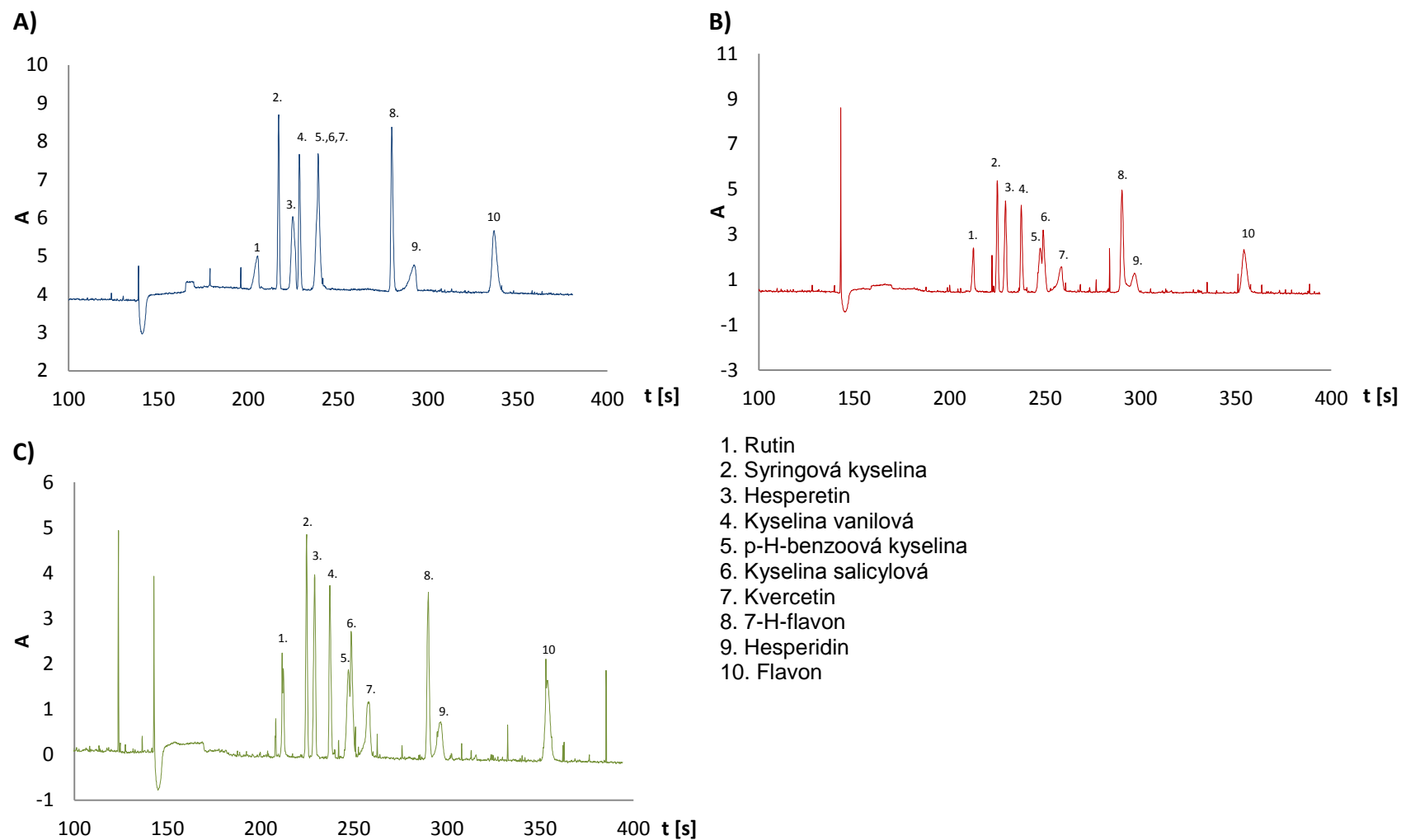
<p>SWNTs</p>		<p>Průměr: <2 nm délka: 5-15 μm čistota CNTs: ≥90 % čistota SWNTs: >50% speciální povrch: >400 m²/g</p>	<p>Shenzhen Nanotech Port Co.,Ltd.</p>
---------------------	---	---	--



Obrázek 23: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, základní elektrolyt s SWNTs s n-butanolem o koncentracích A) 0,4mg/25ml, B) 0,6 mg/25 ml, C) 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 24: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, základní elektrolyt s MWNTs-1030 s n-butanolem o koncentracích A) 0,4mg/25ml, B) 0,6 mg/25 ml, C) 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.



Obrázek 25: Separace směsi standardů o koncentraci 10mg/l v metanolu, základní elektrolyt s MWNTs-4060 s n-butanolem o koncentracích **A)** 0,4mg/25ml, **B)** 0,6 mg/25 ml, **C)** 1mg/25 ml po dobu 10 s, dávkování tlakem 50mBar, teplota 25°C, napětí 20kV.