UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Fakulta přírodovědecká

Katedra analytické chemie

ANALÝZA A VYUŽITÍ MAGNETICKÝCH NANOČÁSTIC V KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor práce:

Andrea Šebestová

Studijní obor:

Chemie

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Jan Petr, Ph.D.

Olomouc 2013

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

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

Mastroružní rodnic

.....

Vlastnoruční podpis

Poděkování

Chtěla bych zejména poděkovat mému vedoucímu doc. RNDr. Janu Petrovi, Ph.D., nejen za jeho odborné vedení, cenné rady, čas a pomoc při získávání experimentálních výsledků, ale především za jeho optimismus a pozitivní přístup.

Velký dík patří samozřejmě mým rodičům, kteří mi umožnili studovat a také mému příteli, který měl se mnou strpení.

Dále bych chtěla poděkovat týmu prof. RNDr. Radka Zbořila, Ph.D. za poskytnuté nanočástice.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora	Andrea Šebestová
Název práce	Analýza a využití magnetických nanočástic v kapilární elektroforéze
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Katedra analytická chemie
Vedoucí práce	doc. RNDr. Jan Petr, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2013

Klíčová slova	Kapilární elektroforéza, magnetické nanočástice, SDS, teplota
Počet stran	29
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname	Andrea Šebestová
Title	Analysis and applications of magnetic nanoparticles in capillary electrophoresis
Type of thesis	Bachelor
Department	Department of Analytical Chemistry
Supervisor	doc. RNDr. Jan Petr, Ph.D.
The year of presentation	2013

Keywords	Capillary electrophoresis, magnetic nanoparticles, SDS, temperature
Number of pages	29
Number of appendices	0
Language	Czech

Abstrakt

V této práci je popsáno chování magnetických nanočástic v kapilární elektroforéze. Poukazuje na využití kapilární elektroforézy pro separaci nanočástic a jejich charakterizaci v roztocích při změně teploty, napětí, délky nástřiku nebo také vliv nosného elektrolytu na analýzu. Cílem práce bylo vytvořit přehled syntéz magnetických nanočástic a ukázat, jak může být kapilární elektroforéza využita pro charakterizaci nanočástic.

Abstract

In this work, the behavior of magnetic nanoparticles in capillary electrophoresis is described. It refers to use of capillary electrophoresis for the separation and characterization of nanoparticles in solution. We characterized the magnetic nanoparticles with changing temperature, voltage, injection time, and we studied the influence of the background electrolyte on analysis. The aim of this work was to create a general overview of syntheses of magnetic nanoparticles and show how capillary electrophoresis can be used for the characterization of nanoparticles.

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1 NANOČÁSTICE	2
2.1.1 Magnetické nanočástice	3
2.1.1.1 Syntéza magnetických nanočástic	3
2.1.1.1.1 Syntéza koprecipitací	3
2.1.1.1.2 Reakce v reversních micelách	5
2.1.1.1.3 Hydrotermální a vysokoteplotní reakce	5
2.1.1.1.4 Reakce sol-gel	6
2.1.1.1.5 Polyolové metody	5
2.1.1.1.6 Průtokové injekční syntézy	7
2.1.1.1.7 Elektrochemické metody	7
2.1.1.1.8 Aerosolové/parní metody	7
2.1.1.1.9 Sonolytické reakce	8
2.1.1.2 Stabilizace magnetických nanočástic	8
2.2 KAPILÁRNÍ ELEKTROMIGRAČNÍ METODY	9
2.2.1 Teoretické základy kapilárních elektromigračních metod	9
2.2.1.1 Instrumentace kapilárních elektromigračních metod1	3
2.2.2 Rozdělení kapilárních elektromigračních metod	3
2.2.2.1 Kapilární zónová elektroforéza1	4

2.2.2.2 Kapilární gelová elektroforéza
2.2.2.3 Micelární elektrokinetická chromatografie15
2.2.2.4 Kapilární elektrochromatografie16
2.2.2.5 Kapilární izoelektrické fokusování17
2.2.2.6 Kapilární izotachoforéza17
2.2.2.7 Bioafinitní kapilární elektroforéza
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST19
3.1 Materiál19
3.1.1 Chemikálie19
3.1.2 Příprava elektrolytu
3.1.3 Magnetické nanočástice19
3.2 Instrumentace a experimentální podmínky19
4. VÝSLEDKY A DISKUZE
4.1 Volba elektrolytu21
4.2 Vliv koncentrace SDS
4.3 Vliv teploty
4.4 Vliv napětí
4.5 Vliv doby nástřiku25
5. ZÁVĚR
6. LITERATURA
7. SEZNAM ZKRATEK

1. ÚVOD

V dnešní době jsou nanotechnologie velmi populárním tématem, díky svým vlastnostem nacházejí uplatnění v průmyslu, vědních oborech i v mnoha oblastech běžného života.¹ Velmi zajímavé jsou i magnetické nanočástice, které se uplatňují v nejrůznějších oborech a aplikacích od záznamových medií až po medicínu.

Analýza magnetických nanočástic kapilární elektroforézou nám může přinést zajímavé informace o jejich chování v roztoku. Kapilární elektroforéza patří mezi moderní separační metody založené na rozdílných rychlostech pohybu analyzovaných látek v elektrickém poli. Výhodou kapilární elektroforézy je především vysoká rychlost analýz, malá spotřeba vzorku a činidel a vysoká účinnost separací. Pomocí této techniky je možné separovat jak nízkomolekulární látky (malé anorganické i organické ionty), tak vysokomolekulární látky (proteiny, peptidy) až vysokomolekulární útvary (nanočástice, viry, mikroorganismy).^{2,3}

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Nanočástice

Nanačástice najdeme všude kolem nás. Byly objeveny již v pátém nebo čtvrtém století před našim letopočtem v Egyptě a Číně. Tehdy bylo nalezeno "rozpustné zlato", které se používalo pro estetické (barvení keramiky), tak pro léčivé účely (srdeční a sexuální problémy). Roku 1857 získal Faraday redukcí vodného roztoku tetrachlorozlatitanu koloidní zlato. V roce 1861 byly připraveny další koloidní kovy. Pojem koloid (z francouzského colle) byl zaveden Grahamem.⁴

Nanočástice jsou charakterizovány velikostí od cca 1 do 100 nanometrů s definovanými vlastnostmi (rozměr, tvar, atomová struktura, mezifázové rozhraní, homogenní/heterogenní složení a chemické složení) a mohou být spojené nebo oddělené koalescencí, nebo podložkou a vytvářet nanotrubice, nanodrátky, nanokompozity, keramické nebo jiné tenké filmy a vrstvy.^{1,5,6} Počet různých druhů nanočástic prudce stoupá, avšak z analytického hlediska mohou být zařazeny do dvou skupin. Částice, které obsahují jako základní stavební materiál anorganické prvky, obvykle kovy a oxidy kovů (Fe₃O₄, Au, Ag), nebo organické molekuly (uhlíkové nanotrubice, liposomy).⁶ Nanočástice kovů (Au, Ag), sulfidů (CdS), selenidů (CdSe), oxidů (SiO₂, TiO₂) a polymerní nanočástice patří mezi nejrozšířenější typy nanočástic.⁴

Nanočástice jsou v poslední době středem zájmu v různých oborech chemie, fyziky, medicíny, materiálových věd a elektronice, díky jejich jedinečným fyzikálním a chemickým vlastnostem. Používají se v medicíně (např. diagnostika nádorů, likvidace tumorů, implantáty, desinfekční prostředky, opalovací ochranné krémy), potravinářství (např. zjišťování a neutralizace mikroorganismů nebo pesticidů), elektronice (např. čidla, detektory, fotočlánky), strojírenství (např. superpevné materiály, obráběcí nástroje, samočistící oděru vzdorné laky), stavebnictví (např. izolační materiály) a kosmickém průmyslu (např. odolné povrchy satelitů, katalyzátory, vysoce účinná paliva).⁷

2.1.1 Magnetické nanočástice

Magnetické vlastnosti některých látek jsou známé už od pradávna. V posledních deseti letech probíhá intenzivní výzkum magnetických nanočástic. A to nejen pro vědecký zájem, ale i pro různé technologické využití. Magnetické nanočástice nalézají uplatnění v nejrůznějších oborech a aplikacích: magnetická záznamová média, inkousty, katalyzátory a čištění odpadních vod. V analytické nanotechnologii mají velký význam superparamagnetické nanočástice, díky snadnému oddělení od matrice vlivem magnetického pole bez zachování zbytkového magnetismu po odstranění magnetického pole.^{6,8,9} V medicíně a biologii jsou analyzovány a používány pro magnetické navádění léčiv, radiofarmak, při magnetickém rezonačním zobrazování a při čištění DNA a RNA.¹⁰ Tyto částice nejčastěji obsahují magnetit (Fe₃O₄) a jsou pokryty polymerní vrstvou (např. polyethylenglykol), aby nedocházelo na jejich povrchu k adsorpci proteinů.¹¹

2.1.1.1 Syntéza magnetických nanočástic⁹

Existuje celá řada metod vhodných k syntéze magnetických nanočástic. Například koprecipitací, rekce v reversních micelách, hydrotermální a vysokoteplotní reakce, reakce solgel, polyolové metody, průtokové injekční metody, elektrochemické metody, aerosolové metody, sonolytické metody. Nejběžněji používanou metodou pro přípravu magnetických nanočástic je chemická koprecipitace solí železa.¹²⁻¹⁴ Obrovský důraz je přikládán na kontrolu velikosti částic. Proto tyto syntetické metody zahrnují separační postupy vedoucí k homogennímu složení a blízké velikosti částic. Nejpoužívanější separační procesy jsou magnetická filtrace a ultracentrifugace.

2.1.1.1.1 Syntéza koprecipitací

Příprava magnetických nanočástic koprecipitací je nejúčinnější a zároveň nejjednodušší chemická metoda. Hlavní výhodou této metody je velké množství nanočástic, které může být takto syntetizováno. Oxidy železa jako jsou, oxid železnato-železitý a γ -oxid železitý se

připravují ze stechiometrické směsi železnatých a železitých solí ve vodném prostředí. Chemická reakce může být popsána rovnicí 1.

$$Fe^{2+} + 2Fe^{3+} + 8OH^{-} \rightarrow Fe_{3}O_{4} + 4H_{2}O$$
 (1)

Pro dokonalé vysrážení Fe₃O₄ je důležité pH v rozmezí 8-14 a molární poměr Fe³⁺ a Fe²⁺ 2:1 v neoxidujícím prostředí. Oxid železnato-železitý není moc stabilní a za přítomnosti kyslíku se oxiduje na γ -oxid železitý. Oxidace však není jediný způsob jak přeměnit Fe₃O₄ na γ -Fe₂O₃.

Koprecipitační syntéza zahrnuje dvě fáze. V první fázi, označované jako krátká nukleace, dochází k tvorbě jader budoucích krystalů překročením koncentrace kritického přesycení z rozpuštěných látek v roztoku. V druhé fázi dochází k pomalému růstu jader krystalů difůzí rozpuštěných látek v roztoku na povrchu krystalu. Obě tyto fáze by měly být odděleny a mělo by být zabráněno nukleaci během fáze růstu, aby se vytvořily monodisperzní nanočástice. Velikost monodisperzních částic je určena rychlostí nukleace.⁹

Pro kontrolu velikosti magnetické nebo povrchové vlastnosti může být nastaveno mnoho faktorů.¹⁵ Vhodnou úpravou pH, iontové síly, teploty, druhem solí (chloristany, chloridy, sírany a dusičnany), nebo koncentračním poměrem Fe²⁺/Fe³⁺ může být přizpůsobena velikost, složení a tvar magnetických nanočástic. Velikost vznikajících nanočástic oxidu železnato-železitého můžeme kontrolovat pomocí přídavku chelatonu organických látek (např. kyselina citrónová, gluonová, olejová) nebo polymerních povrchových komplexotvorných činitelů (např. dextran, škrob, polyvinylalkohol). Podle molárního poměru mezi organickými látkami a solemi železa může docházet k nukleaci, která vede ke tvorbě větších částic, nebo k zabránění růstu krystalového jádra, což vede k malým nanočásticím.

Citrátové ionty přidávané do reakční směsi mohou vést k redukci rozměrů magnetických nanočástic γ -Fe₂O₃ až na 8 až 3 nm. Chelatace s železnými ionty zabraňuje nukleaci a adsorpcí citrátu na jádrech dochází k hydrolýze, ta tlumí růst nukleace.¹⁶ Přidáním elektrolytu do koloidního roztoku, může dojít k vysrážení velkých částic, zatímco menší částice zůstanou v suspenzi. Příkladem může být použití chloridu sodného jako elektrolytu, kterým můžeme rozdělit částice s velikostí 7 nm při redukci citrátem.¹⁷

Nejvýznamnější faktor, který ovlivňuje syntézu je molární poměr Fe²⁺/Fe³⁺. S rostoucí velikostí poměru Fe²⁺/Fe³⁺ se snižuje výtěžek. Jen složky syntetizované s poměrem mezi 0,4-0,6 jsou dostatečně účinné, aby mohly být použity jako kontrastní činidla. Druhý nejdůležitější faktor je koncentrace železa, která je pro tyto aplikace optimální mezi 39 a 78 mM.¹⁵

2.1.1.1.2 Reakce v reversních micelách

Vedle syntézy magnetických nanočástic koprecipitací, se používají i další metody na tvorbu velmi malých částic s lépe definovanými rozměry. Reversní micely jsou amfoterní povrchově aktivní látky micelární struktury v nepolárním rozpouštědle, cyklodextriny, fosfolipidové membrány, a jiné. Tenzidy mohou vytvářet malé kapičky různých rozměrů, micely (1 - 10 nm), nebo emulze voda - olej (10 - 100 nm). Vodné roztoky železa jsou obklopeny povrchově aktivními látkami, které je oddělují od organického roztoku. Surfaktant omezuje růst a nukleaci částic. Velikost částic bývá ovlivňována teplotou a koncentrací povrchově aktivní látky. Hlavní výhodou této syntézy v reversních micelách nebo emulzích je velká rozmanitost získaných nanočástic nejrůznější povahy.⁹

2.1.1.1.3 Hydrotermální a vysokoteplotní reakce

Syntéza nanočástic Fe₃O₄ hydrotermální metodou je prováděna v autoklávech nebo reaktorech ve vodném prostředí při vyšší teplotě a tlaku. Na výsledné vlastnosti produktu mají velký vliv reakční podmínky, jako je teplota, rozpouštědlo a čas. Prodloužením reakční doby dochází ke zvýšení velikosti částic Fe₃O₄ a vyšší obsah vody způsobuje srážení větších částic Fe₃O₄. Velikost částic v hydrotermálních syntézách závisí na nukleaci a růstu zrn. Při vyšších teplotách může být nukleace rychlejší než růst zrn, což vede ke snížení velikosti částic. Prodloužením reakční doby dojde k růstu krystalů.

Vysokoteplotním rozkladem některých organických sloučenin železa (např. $Fe(CO)_5$, $Fe(C_5H_7O_2)_3$) získáme nanočástice s řízenou velikostí a vysokými hodnotami monodisperzity, za použití organických rozpouštědel a povrchově aktivních látek. Morfologie a velikost

nanočástic závisí na teplotě, koncentraci a poměru reagujících složek, povaze rozpouštědla a výchozích látkách.¹⁸

2.1.1.1.4 Reakce sol-gel

Tento proces je vhodný k syntéze oxidů kovů mokrou cestou a je založen na hydroxylaci a kondenzaci molekulárních prekurzorů v roztoku (za vzniku nanočástic). Další kondenzací a anorganickou polymerací dochází ke vzniku trojrozměrné sítě oxidu kovu (jedná se o gel). Finální krystalický stav vyžaduje tepelné úpravy, protože tyto reakce jsou prováděny při pokojové teplotě. Vlastnosti výsledného gelu ovlivňuje struktura vytvořená v sol-gel procesu. Parametry ovlivňující hydrolýzu, kondenzační reakce, kinetiku růstových reakcí a následkem toho vlastnosti a strukturu gelů jsou rozpouštědla, teplota, pH, druh a koncentrace výchozích látek a míchání.¹⁹ Přímým tepelným zpracováním gelů při 400°C můžeme získat nanočástice γ -Fe₂O₃ o velikosti 6-15 nm. Výhodou této metody je možnost získat materiály s předem danou strukturou shodnou s experimentálními podmínkami (získat čisté amorfní fáze, monodisperzní, s dobrou kontrolou velikosti částic a možnost vložit molekuly, které udržují jejich stabilitu a vlastnosti ve formě sol-gel).

2.1.1.1.5 Polyolové metody

Na tyto metody můžeme nahlížet jako na reakce sol-gel, kde jsou jako rozpouštědla používány polyoly (např. polyethylenglykol). Polyoly slouží jako redukční činidla, stabilizátory růstu částic a zabraňují mezičásticové agregaci (shlukování). Polyoly mají vysokou dielektrickou konstantu, mají schopnost rozpouštět anorganické sloučeniny a mají vysoké body varu, což nám umožňuje pracovat v daném teplotním rozsahu a připravovat tak anorganické sloučeniny.

Polyolové metody mají ve srovnání s metodami využívajícími vodu hned několik výhod. Při přípravě nanočástic magnetitu je usnadněno jejich rozptýlení ve vodných nebo jiných polárních rozpouštědlech díky okamžitému pokrytí povrchu hydrofilními polyolovými ligandy. Tyto systémy mají poměrně vyšší krystalizaci a tedy i vyšší magnetizaci v důsledku

vyšší reakční teploty. Velikostní rozdělení nanočástic je mnohem menší než u částic připravených jinými metodami.⁹

2.1.1.1.6 Průtokové injekční syntézy

Tyto metody spočívají v kontinuálním nebo segmentovaném promíchání reagencií pod laminárním tokem v kapilárním reaktoru. Mezi výhody této syntézy patří vysoká reprodukovatelnost, vysoká směšovací homogenita a možnost přesného řízení procesu. Získané nanočástice magnetitu mají velikost v rozmezí 2-7 nm.²⁰

2.1.1.1.7 Elektrochemické metody

Reakce probíhají ve vodném prostředí. Železná anoda (která se během reakce "spotřebovává") je zdrojem nanočástic (jejich velikost ovlivňuje nastavený proud). Nevýhodou této metody je velká spotřeba elektrické energie.⁹

2.1.1.1.8 Parní /aerosolové metody

Aerosolové technologie (spreje a laserové pyrolýzy) patří mezi nepřetržité chemické procesy. Laserová pyrolýza se může používat pro snížení reakčního objemu. Plynná směs železného prekurzoru a tekoucí směs plynu jsou zahřívány laserem. Produktem jsou malé, úzké částice, které nepodléhají agregaci. Magnetické nanočástice s velikostí v rozsahu 2 až 7 nm můžeme získat vhodnou úpravou experimentálních podmínek.

Při sprejové pyrolýze se nastříká roztok železité soli a redukční činidlo v organickém rozpouštědle do řady reaktorů. Dojde ke kondenzaci aerosolových rozpuštěných látek a odpaření rozpouštědla.²¹ Výsledná velikost je závislá na původní velikosti kapek. Při použití různých solí železa v alkoholickém roztoku získáme částice s různými tvary a velikostí v rozmezí 5 až 60 nm.²²

2.1.1.1.9 Sonolytické reakce

Další vhodná metoda pro přípravu nanočástic. Je založená na tepelném, nebo sonolytickém rozkladu organokovových prekurzorů (např. vodný roztok Fe(CO)₅). Teplota rozkladu ovlivňuje velikost částic (velikost ovlivňuje vlastnosti nanočástic). Sonolytické reakce využívají k rozkladu organokovových prekurzorů ultrazvuk, nebo akustické vlny. Účinkem ultrazvuku se vytvářejí bubliny v kapalině. Rychlým kolapsem bublin dochází k vytváření vysoké teploty při které dochází k přeměně solí železa na magnetické nanočástice.²³

2.1.1.2 Stabilizace magnetických nanočástic

Rozhodujícím požadavkem pro použití magnetických nanočástic je stabilita. Obnažené mají tendenci agregovat (aby snížily energii spojenou s jejich velkým povrchem vzhledem k malému objemu), srážet se a podléhat oxidaci vzdušným kyslíkem (čím menší částice, tím větší je její náchylnost k oxidaci).²⁴

Stabilita nanočástic je také závislá na rovnováze odpudivých a přitažlivých síl. Na nanočástice v roztoku působí Van der Waalsovy, elektrostatické a magnetické síly. Atomy železa (na povrchu oxidu železa) se chovají jako Lewisovy kyseliny a koordinují se s molekulami (ve vodném prostředí molekuly vody), které jsou donory volných elektronových párů. Molekuly vody disociují, na povrchu magnetických částic jsou hydroxylové skupiny (mají amfoterní charakter a podle pH roztoku má částice buď pozitivní nebo negativní náboj).⁹

Pro stabilizaci magnetických nanočástic se používají nejrůznější anorganické, organické a polymerní látky.²⁴ Stabilizace lze však dosáhnout i elektrostaticky nebo stéricky. Vytvořením elektrické dvojvrstvy vzniká elektrostatická stabilizace (viz obr. 1a). Provádí se pomocí iontových sloučenin (např. karboxyláty, polyoxoanionty rozpuštěné ve vodném roztoku). Elektrostatická repulze zabraňuje agregaci, jestliže elektrický potenciál dvojvrstvy je dostatečně velký (viz obr. 1b). Elektrostatická repulze mezi částicemi je vyvolána elektrickou dvojvrstvou okolo částic, která vzniká adsorpcí iontových sloučenin a jejich odpovídajících protiiontů na povrchu těchto částic. Polymery, blokové kopolymery, dendrimery nebo oligomery se používají pro stérickou stabilizaci magnetických nanočástic.

Tyto látky tvoří ochrannou vrstvu kolem nanočástic a tedy zabraňují agregaci kovových částic makromolekul. Nejčastěji je stérická stabilizace použita v organické, nebo vodné fázi. Účinkem iontových detergentů nebo organokovů dochází ke vzniku elektrostérické stabilizace (spojení elektrostatické a stérické stabilizace). Tyto látky jsou schopny generovat elektrickou dvojvrstvu a současně hydrofilní řetězec poskytující stérickou repulzi.^{9,25}



Obr.1: a) Částice stabilizovány elektrostatického vrstvou, b) částice stabilizované sterickou repulzí (převzato z cit.⁹)

2.2 Kapilární elektromigrační metody

Kapilární elektromigrační metody jsou v dnešní době souhrnně nazývány jako vysokoúčinná kapilární elektroforéza HPCE ("high-performance capillary electrophoresis") a využívají odlišné pohyblivosti ve stejnosměrném elektrickém poli k dělení látek. Tyto metody jsou považovány za nejcitlivější, nejperspektivnější a nejúčinnější analytické separační metody díky jejich vysoké účinnosti dosahující stovek tisíc až milionů teoretických pater a limity detekce na úrovni femtomol-zeptomol (10⁻¹⁵-10⁻²⁰ mol) analytu v nano- až pikolinových objemech analyzovaných vzorků.²⁶

2.2.1 Teoretické základy kapilárních elektromigračních metod^{2,3,26}

Kapilární elektroforéza využívá elektroforetické migrace iontů v elektrickém poli (vlivem elektrostatického přitahování elektrického náboje k opačně nabité elektrodě) a elektroosmotického toku kapaliny kapilárou, na kterou je vloženo vysoké napětí.

V homogenním elektrickém poli se ionty nesoucí různý náboj a mající různý poloměr pohybují konstantní elektroforetickou rychlostí (m s⁻¹), která je přímo úměrná intenzitě elektrického pole, velikosti náboje a nepřímo úměrná poloměru a viskozitě roztoku:

$$m = v/E \ (m^2 \ V^{-1} \ s^{-1}) \tag{2}$$

kde v je rychlost pohybu (m² V⁻¹ s⁻¹) a *E* je intenzita elektrického pole (V m⁻¹)

Intenzita elektrického pole v kapiláře je dána jako podíl vloženého napětí a délky kapiláry. Lze ji také vypočítat z podílu procházejícího elektrického proudu prostředím o specifické vodivosti:

$$E = U/L = I/\kappa \tag{3}$$

kde U je napětí vložené mezi elektrody, L celková délka kapiláry, I elektrický proud a κ specifická vodivost.

Silou elektrického pole je ion s nábojem uváděn do pohybu:

$$F_e = q \cdot E \tag{4}$$

kde q je náboj iontu a E intenzita elektrického pole.

Tento pohyb je zpomalován frikční silou, která je dána Stokesovým zákonem:

$$F_f = -6\pi\eta r v \tag{5}$$

kde r je hydrodynamický poloměr iontu, η viskozita prostředí, v rychlost pohybu iontu.

V ustáleném stavu lze z rovnosti dvou opačně orientovaných sil odvodit:

$$F_e = -F_f \tag{6}$$

$$m = v/E = q/6\pi\eta r \tag{7}$$

Elektroosmotický tok kapaliny je dalším transportním jevem využívaným v kapilární elektroforéze, který vzniká účinkem stejnosměrného elektrického pole na difúzní část elektrické dvojvrstvy na rozhraní pevné a kapalné fáze u vnitřní stěny kapiláry.²⁶

Naplněním křemenné kapiláry roztokem vhodného elektrolytu dochází k hydrolýze siloxanových skupin na vnitřní stěně kapiláry. Vznikají tak skupiny silanolové, které následně

disociují. A tedy vnitřní povrch kapiláry je pokryt disociovanými silanolovými skupinami (viz obr. 2).

$$\equiv \text{Si-O-Si} \equiv \rightarrow -\text{O}_2\text{Si-OH} \rightarrow -\text{O}_2\text{Si-O}^-$$
(8)



Obr.2: Disociace silanolových skupin na vnitřní stěně kapiláry (převzato z cit.²)

Díky tomuto zápornému náboji na vnitřním povrchu kapiláry dochází k přitahování kladně nabitých iontů v roztoku k vnitřní stěně a tedy k vytvoření elektrické dvojvrstvy. Elektrická dvojvrstva bývá nejčastěji popisovaná Goüyho-Chapmanova-Sternova modelem (viz obr.3).



Obr.3: Sternův model uspořádání elektrické dvojvrstvy (převzato z cit.²⁸)

Podle Sterna jsou k vnitřní vrstvě iontů přitahovány ionty opačného znaménka elektrostatickými a adsorpčními silami. Kompaktní vrstva blíže povrchu (Sternova vrstva) je tvořena ionty vázanými adsorpčními silami. A vzdálenější difúzní část je přitahována elektrostatickými silami. Vůči nepohyblivému disperznímu prostředí se kompaktní vrstva iontů s částicí (s elektrickou dvojvrstvou) pohybuje, zatímco difúzní vrstva iontů se s částicí nepohybuje. Pohybové rozhraní elektrické dvojvrstvy rozděluje pohyblivou a nepohyblivou část a potenciál existující na tomto rozhraní je odpovědný za elektrokinetické jevy (interakce s vnějším elektrickým polem).^{28,29}

Účinkem elektrického pole dochází k pohybu difúzní vrstvy a současně i veškerého roztoku uvnitř kapiláry díky vnitřnímu tření v kapalině směrem ke katodě, čímž vzniká elektroosmotický tok. Ten ovlivňuje výslednou migrační rychlost analytů a tím i účinnost separace a tedy dobu analýzy. Elektroosmotický tok unáší všechny ionty stejnou rychlostí a má téměř pravoúhlý rychlostní profil (na rozdíl od hydrodynamického toku) v celém průřezu kapiláry. Vzorky jsou obvykle dávkovány u anody a postupují ke katodě. Pozitivně nabité ionty jsou urychlovány elektroosmotickým tokem, zatímco negativně nabité ionty jsou elektroosmotickým tokem, zatímco negativně nabité ionty jsou úměrná intenzitě elektrického pole a je závislá na velikosti negativního náboje vnitřní stěny kapiláry (přes elektroosmotickou mobilitu):

$$v_{eof} = m_{eof} \cdot E \tag{9}$$

$$m_{eof} = \varepsilon \zeta / \eta \tag{10}$$

kde ζ je elektrokinetický potenciál, η je viskozita roztoku a ε je dielektrická konstanta roztoku.²⁶

Elektroosmotický tok je tím rychlejší čím je vyšší pH separačního tlumivého roztoku a tedy větší negativní náboj na vnitřní stěně kapiláry. Rychlost elektroosmotického toku je závislá nepřímo úměrně na koncentraci.

2.2.1.1 Instrumentace kapilárních elektromigračních metod

Základní zařízení pro kapilární elektromigrační metody (viz obr.4): zdroj vysokého napětí, separační kapilára, dvě elektrodové nádobky, dvě elektrody, detektor a počítač pro zpracování získaných dat.



Obr.4: Znázornění instrumentálního uspořádání kapilární elektroforézy (převzato z cit.³⁰)

2.2.2 Rozdělení kapilárních elektromigračních metod²

Do kapilárních elektromigračních separačních metod patří tyto techniky:

- 1. Kapilární zónová elektroforéza (CZE)
- 2. Kapilární gelová elektroforéza (CGE)
- 3. Micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC)
- 4. Kapilární elektrochromatografie (CEC)
- 5. Kapilární izoelektrické fokusování (CIEF)
- 6. Kapilární izotachoforéza (CITP)
- 7. Bioafinitní kapilární elektroforéza (BACE)

Jednotlivé metody se liší samotným mechanismem separace, ale také médiem kterým je kapilára naplněna. MEKC a CEC jsou vhodné pro separaci iontů i neutrálních molekul, zatímco CZE, CGE, CIEF a CITP můžeme použít pouze pro separaci iontů.^{2,3,26}

2.2.2.1 Kapilární zónová elektroforéza

Nejpoužívanější elektromigrační technika díky všestrannosti a jednoduchosti provozu. Rozsah použití této metody je velice různorodý. Tato metoda je vhodná pro ionty lišící se nábojem, tvarem a molekulovou hmotností. Naopak tato metoda není vhodná pro neutrální molekuly.

Při kapilární zónové elektroforéze se molekuly s nábojem dělí na základě rozdílné elektroforetické pohyblivosti. Rozdělení kladných i záporných iontů je možné díky elektroosmotickému toku separačního tlumivého roztoku uvnitř kapiláry. Používáme kapiláru z taveného křemene s vnitřním průměrem 50 až 75µm a délkou 30 až 80 cm. Díky tomu dochází k odvodu Jouleova tepla, tedy lze využít vysokých intenzit elektrického pole a tím i zvýšení rychlosti a účinnosti separace. Pro zvýšení mechanické odolnosti je vnější povrch kapiláry potažen vrstvou polyimidu. Elektrodové nádobky jsou naplněny základním elektrolytem stejně jako křemenná kapilára (jejíchž konce jsou ponořeny do elektrodových nádobek).

Při experimentu se nejdříve naplní velmi krátký úsek kapiláry roztokem vzorku. Vzorek se dávkuje elektrokineticky (po dobu několika sekund se připojí dávkovací napětí na elektrody, dojde k nasátí vzorku do vstupního konce kapiláry vlivem elektroosmózy), nebo častěji hydrodynamicky (po dobu několika sekund se přivádí stlačený vzduch na pneumaticky uzavřenou nádobku se vzorkem a ponořenou kapilárou, nebo manuálním postupem , kdy se nádobka se vzorkem mechanicky zvedne a dojde k vytvoření rozdílu hladin mezi roztokem nosného elektrolytu a roztokem vzorku po určitou dobu). Po nadávkování vzorku se vstupní konce kapiláry ponoří do elektrodové nádobky a k systému je připojí stejnosměrné elektrické pole. Složky vzorku jsou separovány na základě rozdílné pohyblivosti. Na základě různých elektroforetických pohyblivostí putují směrem k detektoru (nejčastěji UV-VIS absorpční detektor- v daném místě kapiláry se měří absorpce záření nosného elektrolytu a zóny analytu).

Z elektroforegramu získáváme informaci o kvalitativním (migrační čas píku) a kvantitativním (plocha píku) složení vzorku. Počet píků odpovídá počtu separovaných zón analytů.^{2,3,26}

2.2.2.2 Kapilární gelová elektroforéza

Tato metoda se používá pro separaci vysokomolekulárních biologicky aktivních látek. Jakou jsou například bílkoviny, polynukleotidy, nukleové kyseliny, peptidy, atd. Je vhodná pro látky lišící velikostí molekul, tedy svou relativní molekulovou hmotností a blízkým specifickým nábojem (náboj vztažený na jednotku relativní molekulové hmotnosti). Separace látek se provádí v prostředích vykazující tzv. sítový efekt. Tento efekt má za následek zpomalení rychlosti migrujících částic. Látky jsou separovány v pořadí rostoucích relativních molekulových hmotností protože výsledná elektroforetická pohyblivost těchto částic je nepřímo úměrná jejich velikosti.^{2,3,26,27}

Sítový efekt vykazují chemické i fyzikální gely. Mezi chemické gely patří kovalentně zesíťované polyakrylamidové a agarosové gely. Příprava těchto gelů v tenkých kapilárách je velmi náročná a mají omezenou životnost. Mezi fyzikální gely, které vznikají vzájemným zamotáním či překrytím lineárních polymerních řetězců bez kovalentních interakcí, patří agarosa, deriváty celulosy, lineární polyakrylamid, atd. Velkou výhodou těchto gelů je nízká viskozita a reprodukovatelnost separací.²⁶

2.2.2.3 Micelární elektrokinetická chromatografie

Jedná se o kombinovanou separační techniku využívající elektrokinetické jevy (elektroosmózu a elektroforézu) a chromatografii. Využívá chemické afinity v dvoufázovém systému stejně jako HPLC. Tato metoda je z kapilárních elektromigračních technik nejmladší a využívá se především pro analýzu neutrálních molekul (hydrofilní i hydrofobní povahy). Separace je založena na různé distribuci analyzovaných látek mezi pseudofází tvořenou micelami ionogenního detergentu (sodium dodecyl-sulfátu) a vodnou fází roztoku nosného elektrolytu, ve které je pseudofáze homogenně rozptýlena.²⁶

V elektrickém poli dochází k migraci micel směrem k anodě v důsledku záporného povrchového náboje (disociované síranové skupiny molekul SDS). V hydrofobních kavitách micel se rozpouštějí neutrální analyty na základě polarity a jsou unášeny směrem k anodě. Micelární fáze bývá označována jako pseudostacionární fáze a vodnou fázi nosného elektrolytu lze považovat za mobilní fázi.²⁶

Stupeň solvatace molekul micelami udává rychlost transportu. Na základě různé afinity složek vzorku k micelární fázi mohou být jednotlivé složky odlišně zpomalovány zpětným pohybem micel. V důsledku toho dochází k rozdílné rychlosti migrace a tedy k separaci v pořadí rostoucí afinity k micelární fázi. Čím více jsou molekuly analytu rozpuštěny v dutinách micel, tím rychleji dochází k migraci touto fází uvnitř separačního tlumivého roztoku k anodě. Ke katodě je unášen pomocí EOF (EOF je větší než elektroforetická rychlost micel, což zaručuje pohyb všech neutrálních analytů ke katodě) separační elektrolyt s rozpuštěnými micelami i se všemi analyty. Tedy aniontové tenzidy migrují k anodě proti EOF, zatímco ke katodě se pohybují kationové tenzidy.^{2, 3,26}

Zpočátkou jsou molekuly tenzidu v roztoku osamocené a neuspořádané. K uspořádání molekul tenzidů do micel dochází až po překročení kritické molární koncentrace. Každý tenzid je charakterizován agregačním číslem (udává počet molekul tenzidu podílejících se na vzniku jedné micely).

2.2.2.4 Kapilární elektrochromatografie

Kapilární elektrochromatografie se používá pro separaci iontů i neutrálních molekul díky kombinaci elektroforetického a chromatografického mechanismu.

V CEC je kapilára naplněna stacionární fází, stejně jako kolony v HPLC. V kapilární kapalinové chromatografii je mobilní fáze hnána na vstupu do separační kapiláry mechanickým přetlakem, zatímco v kapilární elektrochromatografii je tok mobilní fáze hnán kolonou elektroosmotickým tokem. Molekuly separovaných látek jsou hnány k detektoru mobilní fází a interakcí se stacionární fází jsou současně zpomalovány.

Hlavní výhodou CEC oproti HPLC je pravoúhlý profil elektroosmotického toku na rozdíl od parabolického profilu hydrodynamického toku. A dále účinnost separace může být zvýšena použitím menších částic sorbentu, které mohou být užity díky absenci zpětného tlaku kolony.²⁶

2.2.2.5 Kapilární izoelektrické fokusování

Tato technika se používá pro separaci látek amfolytické povahy (tj. látky, které mohou být nositely kladného, záporného nebo žádného náboje podle pH okolního prostředí) na základě rozdílných izoelektrických bodů (tj. pH, při kterém celkový náboj molekuly je roven nule a tedy nevykazuje elektroforetickou pohyblivost a nemigruje v elektrickém poli) v lineárním gradientu pH. Gradient pH je tvořen působením elektrického pole na komplexní směsi amfolytů, které vytváří nosný elektrolyt.

CIEF využívají křemenné kapiláry (potažené na vnitřním povrchu vrstvou hydroxyethylcelulosy), které nevytvářejí na vnitřním povrchu elektroosmotický tok. Separované látky migrují v kapiláře tak dlouho, dokud se nedostanou do místa, kde pH je rovno izoelektrickému bodu. Zde se stanou neutrální a přestanou migrovat, zakoncentrují se a fokusují, čímž dojde k vytvoření zóny specifického analytu. Ten se uvede do pohybu například hydrodynamickým tokem vyvolaným podtlakem u konců kapiláry směrem detektoru.²⁶

2.2.2.6 Kapilární izotachoforéza

Jedna z nejstarších kapilárních elektromigračních metod. Dělí ionty na základě rozdílných elektroforetických mobilit a využívá separační kapiláry, které negenerují elektroosmotický tok.

Vzorek se dávkuje mezi vedoucí (obsahuje ion stejného znaménka, ale má větší elektroforetickou mobilitu než všechny separované ionty ve vzorku) a koncový elektrolyt (opět obsahuje ion stejného znaménka jako separované ionty, ale má menší elektroforetickou mobilitu než všechny separované ionty ve vzorku) a vytváří rozhraní mezi nimi. Během analýzy se začnou vytvářet vzájemně oddělené, na sebe navazující zóny, které obsahují pouze jeden ion. Jednotlivé zóny jsou seřazeny dle klesající elektroforetické pohyblivosti dělených

iontů a jsou uzavřeny mezi vedoucí a koncový elektrolyt. Můžeme detekovat pouze jeden druh iontů v jednom experimentu.²⁶

2.2.2.7 Bioafinitní kapilární elektroforéza

Jedná se o stále častěji používanou metodu. Je založena na kombinaci biospecifických interakcí (typu hormon-receptor, enzym-inhibitor, apod.) s elektroforetickou migrací analyzovaných látek v kapilárním uspořádání. K imobilizaci ligandů se také používají polyakrylamidové gely, které selektivně zpomalují některé složky směsi analyzovaných látek k nimž vykazují biospecifickou afanitu.²⁶

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiál

3.1.1 Chemikálie

Jako nosný elektrolyt byl použit fosfát sodný pH 2,5, acetát sodný pH 4, MES pH 6, MOPS pH 7,5 a borát sodný pH 9,5 s dodecylsulfátem sodným (SDS). Všechny chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma – Aldrich (St. Louis, USA) v čistotě p.a. Použitá voda byla deionizovaná (dosaženo přístrojem Direct-Q 3 od firmy Millipore (Billerica, MA, USA)).

3.1.2 Příprava elektrolytů

Všechny elektrolyty byly připraveny rozpuštěním odpovídajícího, vypočítaného množství kyseliny v deionizované vodě. Do vzniklých roztoků byl za stálého míchání přidáván 50% a 10% (w/w) roztok hydroxidu sodného až na požadovanou hodnotu pH. pH bylo průběžně zjišťováno pomocí pH metru. Výsledný roztok vznikl rozpuštěním odpovídajícího množství SDS v tomto roztoku.

3.1.3 Magnetické nanočástice

Pro analýzu byly použity magnetické nanočástice smAA COOH, které byly poskytnuty týmem prof. RNDr. Radka Zbořila, Ph.D. Jedná se o magnetické maghemitové částice pokryté polyakrylovou kyselinou, tj. mající COOH skupiny, ve vodě mají průměr 75 nm a zeta potenciál -45 mV.

3.2 Instrumentace a experimentální podmínky

Všechny pokusy byly provedeny na přístroji pro kapilární elektroforézu HP ^{3D}CE

s detektorem s diodovým polem DAD (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo).

Vlnová délka pro UV detektor byla nastavena na 200 a 220 nm (viz obr. 5). Byla použita nepokrytá křemenná kapilára s vnitřním průměrem 50 μ m. (MicroSolv Technology, Eatontown, NJ, USA), jejíž celková délka byla 33,5 cm. Efektivní délka kapiláry byla 24 cm. Kazeta s kapilárou byla temperována na 25 °C (při zkoumání vlivu teploty byla postupně temperována na 40 °C a 60 °C). Aplikované separační napětí bylo 10 kV (při zkoumání vlivu napětí bylo postupně měněno na 5 a 20 kV). Dávkování probíhalo po dobu 10 s (při zkoumání vlivu doby nástřiku bylo postupně zvyšováno na 20, 30 a 60 s) tlakem 50 mbar.

Každý den na začátku měření byla kapilára promývána 0,1 M roztokem NaOH po dobu 10 minut, následně deionizovanou vodou po dobu 10 minut a pufrem po dobu 10 minut. Veškeré proplachování kapiláry bylo prováděno tlakem 940 mbar. Veškeré analýzy jsem opakovala 3x.



Obr.5: Fotografie přístroje HP 3DCE Agilent Technologies (převzato z cit.³¹)

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Volba elektrolytu

Je zřejmé, že pro popis chování nanočástic v kapilární elektroforéze je výběr elektrolytu klíčovým parametrem. Lepších výsledků bylo dosaženo v elektrolytech s SDS (ovlivňuje povrchový náboj). Jako první bylo testováno použití fosfátového pufru o pH 2,5. Avšak při analýze docházelo k ucpání kapiláry. Dále bylo testováno použití acetátového pufru o pH 4, MES o pH 6, MOPS o pH 7,5 a borátového pufru o pH 9,5. Borátový pufr se při analýzách magnetických nanočástic ukázal jako nejvhodnější a analýzy byly reprodukovatelné.

4.2 Vliv koncentrace SDS

Na chování magnetických nanočástic má velký vliv koncentrace SDS. Proto byly prováděny analýzy při koncentracích 100mM, 25mM, 10mM a 1mM SDS. Všechny tyto analýzy byly prováděny za stejných podmínek.



Obr. 6: Vliv koncentrace SDS na průběh analýzy. Měření při koncentraci: a) 100 mM, b) 25 mM, c) 10 mM a d) 1 mM SDS.

Z uvedených grafů je patrné, že s klesající koncentrací SDS pozorujeme rychlejší EOF a tedy i zvýšenou rychlost migrace. Kritická micelární koncentrace SDS se pohybuje kolem 5 - 8 mM, takže je zároveň vidět, že migrace nanočástic není ovlivněna přítomností micel. Respektive v případě koncentrací 25 mM a 100 mM dochází k rozšíření píku nanočástic a zřejmě i k interakci nanočástic s SDS micelami. Nicméně tato interakce výrazně neovlivňuje např. agregaci nebo disperzi nanočástic v kapilárně elektroforetickém experimentu. Toto je zřejmě způsobeno stejným nábojem SDS jako je náboj smAA-COOH nanočástic v prostředí borátu/NaOH pH 9,5.

4.3 Vliv teploty

Kvůli popisu termodynamické stability byl testován vliv teploty na magnetické nanočástice v kapilární elektroforéze. Analýza byla prováděna při 25, 40 a 60°C. Stabilita nanočástic je závislá na teplotě.



Obr. 7: Vliv teploty na průběh analýzy. Měření při teplotě: a) 25°C, b) 40°C a c) 60°C

Z uvedených záznamů je zřejmé, že se zvyšující se teplotou dochází ke zvýšení rychlosti migrace, což je způsobeno změnou viskozity. Tvar píku nanočástic se nemění, tj. nedochází k termodynamickému ovlivnění disperze nanočástic.

4.4 Vliv napětí

Následně byl testován vliv napětí na magnetické nanočástice v kapilární elektroforéze. Analýza byla prováděna při 20, 10 a 5 kV.



Obr. 8: Vliv napětí na průběh analýzy. Měření při napětí: a) 20 kV, b) 10 kV a c) 5 kV

Z uvedených záznamů vyplývá, že s klesajícím napětím dochází k snížení rychlosti migrace. Ionty se v homogenním elektrickém poli pohybují konstantní elektroforetickou rychlostí, která je přímo úměrná intenzitě elektrického pole. Tvar píku odpovídá tomu, že nedochází ke změnám v disperzi nanočástic.

4.5 Vliv doby nástřiku

Nakonec byl testován vliv doby nástřiku na magnetické nanočástice v kapilární elektroforéze. Analýzy byly prováděny při dobách nástřiku 10, 20, 30 a 60 s.



Obr. 9: Vliv doby nástřiku na průběh analýzy. Měření při době nástřiku: a) 10 s, b) 20 s, c) 30 s a d) 60 s

Z uvedených záznamů vyplývá, že s rostoucí dobou nástřiku se zvětšují píky. Nedochází k deformacím tvaru píku. Zároveň lineárně roste plocha píku, takže nedochází ani k ovlivnění disperze nanočástic (nelinearita by znamenala např. zmenšení šířky elektrické dvojvrsty na nanočástici a začátek agregace nanočástic).

5. ZÁVĚR

V této práci je ukázáno, že kapilární elektroforéza představuje výkonnou techniku pro charakterizaci magnetických nanočástic, zejména byla zkoumána závislost chování těchto částic na změně teploty, napětí, koncentraci SDS, typu elektrolytu a doby nástřiku.

Kapilární elektroforéza je vynikající nástroj pro charakterizaci koloidních suspenzí nanočástic a lze ji využít pro nejrůznější účely a aplikace. Např. pro medicinální účely, základní výzkum materiálové chemie a další výzkumné aplikace.

6. LITERATURA

1. <u>http://nanotechnologie.vsb.cz/</u> (staženo 20.11.2010)

2. Štulík K. a kolektiv: Analytické separační metody, Karolinum, Praha 2004.

3. Heiger D.: High Performance Capillary Electrophoresis- A Primer, Agilent

Technologies, Germany 2000.

4. Řezanka P., Záruba K., Král V.: Chem. Listy 101, 881 (2007).

5. http://www.nanotrade.cz/co-je-to-nano (staženo 19.11.2010)

6. de Dios A.S., Díaz-García M.E.: Anal. Chim. Acta 666, 1-22 (2010).

Sýkora D., Kašička V., Mikšík I., Řezanka P., Záruba K., Matějka P., Král V.: J. Sep. Sci.
33, 372 (2010).

8. Shen Y.F., Tang J., Nie Z.H., Wang Y.D., Ren Y., Zuo L.: Sep. Purif. Technol. 68, 312 (2009).

 Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Elst L.V., Müller R.N.: Chem. Rev. 108, 2064 (2008).

 Bergemann C., Müller-Schulte D., Oster J., Brassard J., Lübbe A. S.: J. Magn. Magn. Mater. 194, 45 (1999).

11. Král V., Šotola J., Neuwirth P., Kejík Z., Záruba K., Martásek P.: Chem. Listy **100**, 6 (2006).

12. Lee S.-J., Jeong J.-R., Shin S.-C., Kim J.-C., Kim J.-D.: J. Magn. Magn. Mater. **282**, 147 (2004).

13. Martínez-Mera I., Espinosa-Pesqueira M.E., Pérez-Hernández R., Arenas-Alatorre, J.: Mater. Lett. **61**, 4447 (2007).

14. Sun Y.-k., Ma M., Zhang Y., Gu N.: Colloids Surf. A 245, 15 (2004).

15. Babes L., Denizot B., Tanguy G., Le Jeune J.J., Jallet P.: J. of Colloid Interface Sci. **212**, 474 (1999).

16. Bee A., Massart R., Neveu S.: J.Magn. Magn. Mater. 149, 6 (1995).

17. Massart R., Dubois E., Cabuil V., Hasmonay E.: J.Magn. Magn. Mater. 149, 1 (1995).

18. Sato S., Murakata T., Yanagi H., Miyasaka F., Iwaya S.: J. Mater. Sci. 29, 5657 (1994).

da Costa G.M., De Grave E., de Bakker P.M.A., Vandeberghe R.E.: J. Solid State Chem.
113, 405 (1994).

20. Alvarez G. S., Muhammed M., Zagorodni A. A.: Chem. Eng. Sci. 61, 4625 (2006).

21. Pecharromán, C.; González-Carreno, T.; Iglesias, J. E.: Phys. Chem. Miner. 22, 21 (1995).

22. González-Carreno T., Morales M. P., Gracia M., Serna C. J.: Mater. Lett. 18, 151 (1993).

23. Willard M. A., Kurihara L. K., Carpenter E. E., Calvin S., Harris V. G.: Int. Mater. Rev.49, 138 (2004).

- 24. Lu A.-H., Salabas E. L., Schüth F.: Angew. Chem. Int. Ed. 46, 1222 (2007).
- 25. <u>http://artec.tul.cz/?content=upload/ISTII2009pr_klimkova.2009-10-19.14-17-26.pdf</u> (staženo 10.3.2013)
- 26. Kašička V.: Chem. Listy **91**, 320 (1997).

27. Surugau N., Urban P. L.: J. Sep. Sci. 32, 1889 (2009).

28. Kvítek L., Panáček A.: Základy koloidní chemie, UP Olomouc, Olomouc 2007.

29. Kvítek L.: Metody studia koloidních soustav, UP Olomouc, Olomouc 2006.

30. http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHEMAGAZIN.pdf

(staženo 6.3.2013)

31. Hinnerová P.: *Analýza mikroorganismů kapilární elektroforézou*. Bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci 2008.

7. SEZNAM ZKRATEK

BACE	bioafinitní kapilární elektroforéza
CE	kapilární elektroforéza
CEC	kapilární elektrochromatografie
CGE	kapilární gelová elektroforéza
CIEF	kapilární izoelektrická fokusace
CITP	kapilární izotachoforéza
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DAD	detektor s diodovým polem
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EOF	elektroosmotický tok
HPCE	vysokoúčinná kapilární elektroforéza
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
MES	2-(N-morfolino)ethansulfonová kyselina
MOPS	3-(N-morfolino)propansulfonová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
SDS	dodecylsulfát sodný
smaa COOH	magnetické maghemitové částice pokryté polyakrylovou kyselinou
UV	ultrafialový
VIS	viditelný