

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie**

**ANALÝZA A VYUŽITÍ NANOČÁSTIC
V KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZE**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce:

Bc. Eva Pospíšilová

Studijní obor:

Materiálová chemie

Vedoucí práce:

doc. RNDr. Jan Petr, Ph.D.

Olomouc 2014

Bibliografický záznam

Autor práce: Bc. Eva Pospíšilová

Studijní obor: Materiálová chemie

Názve práce: Analýza a využití nanočástic v kapilární elektroforéze

Title of thesis: Analysis and using nanoparticles in capillary electrophoresis

Vecoucí práce: doc. RNDr. Jan Petr, Ph.D.

Rozsah práce: 53 stran

Abstrakt: Tato diplomová práce se zabývá analýzou nanočástic pomocí kapilární elektroforézy. Nanočástice byly studovány v prostředích s různou iontovou silou. Práce potvrzuje vliv prekoncentračních efektů na vyhodnocení dat.

Klíčová slova: Kapilární elektroforéza, nanočástice, prekoncentrace

Abstract: This diploma thesis deals with the analysis of nanoparticles using capillary electrophoresis. Nanoparticles were studied in media with different ionic strengths. The thesis confirms the influence of pre-concentration effects on the data evaluation.

Key words: Capillary electrophoresis, nanoparticles, pre-concentration

SOUHRN

Tato diplomová práce se zabývá studiem magnetických nanočástic pomocí kapilární elektroforézy. Pozornost je věnována zejména vedlejšímu elektroforetickému efektu, který vzniká na rozhraní dvou zón s různou specifickou konduktivitou.

V úvodu teoretické části je čtenář seznámen s nedávným rozmachem oblasti nanotechnologií. Následně jsou uvedeny různé typy nanostruktur se zaměřením zejména na ty nejmenší – nanočástice. Podrobněji jsou pak popsány magnetické nanočástice železa a jeho oxidů, významné metody přípravy a také důležité aplikace. Druhá část teorie se věnuje elektromigračním technikám, a to právě kapilární elektroforéze. Čtenáři jsou předloženy základní principy separace pomocí kapilární elektroforézy. Dále je uveden princip prekoncentračních technik, které využívají vznik gradientu různých specifických konduktivit. Závěr teoretické části je věnován průniku obou oblastí, tedy využití kapilární elektroforézy k analýze nanomateriálů a nanočástic.

Experimentální část popisuje chování karboxylovaných nanočástic maghemitu v prostředích s různou iontovou silou. Nanočástice byly analyzovány v elektrolytech s nízkou i vysokou iontovou silou a jejich chování bylo zkoumáno i z pohledu různé doby dávkování. Experimenty prokázaly prekoncentraci nanočástic na rozhraní zón, které se lišily svojí specifickou konduktivitou.

SUMMARY

This diploma thesis deals with the analysis of magnetic nanoparticles using capillary electrophoresis. Attention is given mainly to an electrophoretic side-effect occurring at the interface between two zones with different specific conductivity.

The introduction of the theoretical part presents to the reader recent expansion of the field called nanotechnology. Subsequently there are listed different types of nanostructures with the focus on the smallest ones – nanoparticles. Later magnetic iron nanoparticles and nanoparticles of iron oxides are described in more detail as well as the significant methods of preparation and also important applications. The second part of the theory deals with electromigration methods, namely capillary electrophoresis. The general principles of separation by capillary electrophoresis are put forward to the reader. Further more the principle of pre-concentration techniques using the gradient of different specific conductivities is described. The conclusion of the theoretical part deals with the intersection of these two areas: the use of capillary electrophoresis for analysis of nanomaterials and nanoparticles.

The experimental part describes the behaviour of carboxylated maghemite nanoparticles in the media with different ionic strengths. The nanoparticles were analysed in electrolytes with low and high ionic strength and their behaviour was also investigated from the perspective of the injection time difference. The experiments confirm the pre-concentration of nanoparticles at the interface between zones with different specific conductivity.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré zdroje, které jsem použila, jsou uvedeny 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

.....

Vlastnoruční podpis

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat zejména vedoucímu mé práce docentu RNDr. Janu Petrovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, cenné rady, trpělivost a pozitivní přístup, které mi po celou dobu poskytoval. Dále bych také ráda poděkovala Regionálnímu centru pokročilých technologií a materiálů za poskytnutou pomoc a materiál v rámci projektu CZ.1.05/2.1.00/03.0058.

Eva Pospíšilová

OBSAH

1.	ÚVOD	7
2.	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Od historie po současnost	8
2.2	Nanomateriály	9
2.2.1	Nanočástice – 0 D	10
2.2.2	Nanočástice železa a jeho oxidů	11
2.2.3	Příprava nanočástic železa a jeho oxidů	12
2.2.4	Stabilizace a modifikace nanočástic	14
2.2.5	Aplikace magnetických nanočástic	16
2.3	Kapilární elektromigrační techniky	20
2.4	Instrumentace kapilární elektroforézy	21
2.5	Základní fyzikální principy kapilární elektroforézy	22
2.5.1	Elektroosmotický tok (EOF)	22
2.5.2	Zeta-potenciál jako charakteristika koloidního systému	24
2.6	Prekoncentrace v kapilární elektroforéze	26
2.6.1	On-line prekoncentrace – stacking	26
2.7	Nanomateriály v kapilární elektroforéze	28
2.7.1	Separace nanočástic kapilární elektroforézou	29
2.8	Stacking – vedlejší jev ovlivňující charakterizaci nanočástic	30
3.	CÍLE PRÁCE	31
4.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
4.1	Chemikálie	32
4.2	Techniky	32
5.	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
5.1	Homogenní elektrické pole	35
5.2	Stacking	37
5.3	Kationtové částice	42
6.	ZÁVĚR	46
7.	POUŽITÁ LITERATURA	47
8.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	52

1. ÚVOD

V běžném životě se setkáváme s měřítkem několika centimetrů, metrů nebo i kilometrů, co se ale stane, když se věci zmenší pod námi vnímatelné hranice? Budou opravdu malé, tak malé, že začnou platit zcela jiná pravidla pro jejich vlastnosti i chování.

Mezi nejkoumanější objekty tohoto nového „nanosvěta“ patří nanočástice, nanotrubky, nanovrstvy a další. Unikátní vlastnosti těchto struktur mají velký potenciál pro aplikace v průmyslu, medicíně, elektrotechnice i životním prostředí. Abychom však mohli plně využít tyto nové možnosti, je důležité vyvinout postupy a techniky, které nám pomohou popsat a pochopit chování v rozměrech několika nanometrů. Jednou z takových technik je právě kapilární elektroforéza, která nám umožňuje popsat některé vlastnosti nanočástic, avšak musíme přihlídnout k vznikajícím elektroforetickým jevům, abychom byli schopni výsledky správně interpretovat. Jen správné a přesné informace nás mohou posunout zase o kousek dál.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Od historie po současnost

Používání nanotechnologií není takovou novinkou, jak by se nám mohlo zdát. Dnešní koloidní roztoky, byly objeveny vlastně už v pátém či čtvrtém století před naším letopočtem, odkud pochází zmínka o tzv. rozpustném zlatě. Egypťané a Číňané používali tuto látku k výrobě rubínového skla, ale také k léčbě úplavice nebo epilepsie - první medicínské aplikace¹. Ze 4. století našeho letopočtu se dochovaly Lykurgovy poháry (Obr. 1), které jsou barveny unikátní a neznámou technologií. Na obrázku je ten samý pohár, avšak jednou je pozorován při světle odraženém (vlevo) a poté je zdroj světla umístěn uvnitř (vpravo). Při analýze složení skla bylo zjištěno, že sklo obsahuje velmi podobné složení jako moderní skla (SiO_2 , Na_2O , CaO), avšak navíc jsou přítomny nanokrystaly o velikosti cca 70 nm, které jsou slitinou zlata a stříbra v poměru 3:7. Právě tyto krystaly jsou příčinou zvláštního barevného efektu, technologie jakou bylo toto sklo vyrobeno, však zůstává záhadou³.



Obr. 1: Lykurgovy poháry²

V polovině 19. století vzniká pojem koloid a s ním i koloidní roztoky kovů. Za zmínku stojí rok 1857, kdy Faraday připravil koloidní zlato redukcí vodného roztoku tetrachlorozlatitanu. O sto let později přišel nositel Nobelovy ceny za fyziku Richard Feynman se svojí přednáškou *There is plenty of room at the bottom*, a revoluce začala⁴.

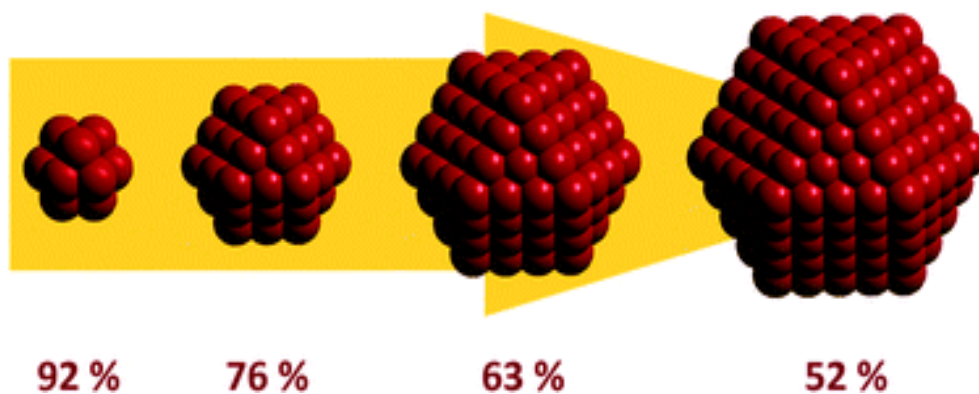
Následoval pojem *nanotechnologie* ve smyslu manipulace s objekty na atomární a molekulové úrovni, který poprvé vyslovil N. Taniguchi⁵. V roce 1981 byla představena skenovací tunelová mikroskopie (STM), která umožnila 3D zobrazení s atomárním rozlišením a její autoři G. Binning a H. Rohrer za ni dostali o pět let později Nobelovu cenu. Další Nobelova cena v této oblasti byla udělena v roce 1996 za objev fullerenu⁶. Poslední Nobelova cena je pak z roku 2010, a to za objev grafenu, což je monoatomární grafitová vrstva a první stabilní 2D struktura. Grafen byl objeven v roce 2004 K. Novoselovem a A. Geimem. Věda se pomocí litografických technik dostala na hranici 50 nm a pokračovala dál. Díky „bottom up“ postupům, při kterých se jako stavební jednotky používají samotné atomy a molekuly, byly vytvořeny struktury o rozměrech jen několika nanometrů^{1,7}.

2.2 Nanomateriály

Mezi nanomateriály obecně řadíme struktury, jejichž alespoň jeden rozměr je pod hranicí 100 nm. Podle tohoto kritéria tedy dělíme nanomateriály na:

- 0-dimenzionální – 0 D – tedy všechny tři rozměry jsou v rozsahu nm: nanočástice
- 1-dimenzionální – 1 D – dva rozměry jsou v rozsahu nm: nanovlákná, nanodráty a nanotrubky, nanopěna
- 2-dimenzionální – 2 D – pouze jeden rozměr je v rozsahu nm: nanovrstvy, grafen
- 3-dimenzionální – 3D – nanodiamanty, amorfni uhlík, nanolisty

Unikátní vlastností nanomateriálů je jejich obrovský aktivní povrch. Se zmenšující se velikostí se totiž zvětšuje poměr atomů na povrchu k atomům uvnitř (poměr povrch/objem), tato vlastnost se využívá zejména v heterogenní katalýze (Obr. 2). Pod 100 nm již neplatí klasické fyzikální zákony a převládají kvantové jevy, příkladem jsou kvantové tečky^{7,8}.



Obr. 2: Poměr atomů na povrchu/v objemu se zmenšující se velikostí částice⁹

2.2.1 Nanočástice – 0 D

Jak už bylo řečeno, nanočástice jsou objekty, které mají všechny tři rozměry pod hranicí 100 nm. Dělit nanočástice můžeme podle jejich složení, nebo podle jejich struktury. Uvedeme několik významných zástupců z obou dělení¹⁰.

Struktury, které řadíme mezi nanočástice, můžeme rozdělit podle složení a jejich významných aplikací na:

- fullereny: využívají se pro transport látek, po dopování alkalickým kovem supravodivé vlastnosti,
- stříbrné nanočástice: prokázané antibakteriální účinky, využití pro povrchově zesílenou Ramanovu spektroskopii (SERS),
- magnetické nanočástice (MNPs): kontrastní látky pro MRI, cílený transport léčiv, magnetická fluidní hypertermie, čištění odpadních vod.

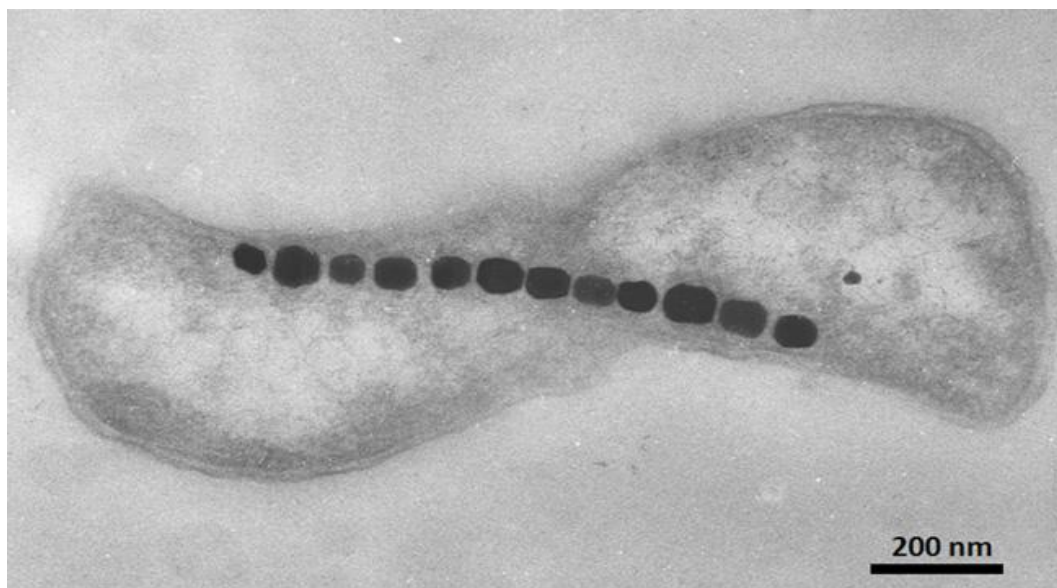
Dále je můžeme dělit podle jejich struktury na:

- nanokrystaly – jedná se o částice, ve kterých jsou atomy k sobě vázány kovalentními silami,
- nanoklastry – atomy či molekuly jsou k sobě vázány slabými interakcemi,
- kvantové tečky – polovodičové částice, příkladem jsou nanočástice CdSe, u kterých dochází k modrému posunu emitovaného záření; čím menší částice přijímají energii, tím nižší vlnovou délku emitují.

V experimentální části jsme použili karboxylované nanočástice oxidu železa, které patří mezi magnetické nanočástice (MNPs). Nanočásticím železa a jeho oxidům je proto věnována následující kapitola^{10,11}.

2.2.2 Nanočástice železa a jeho oxidů

Nanočástice železa se v přírodě běžně vyskytují v podobě oxidů. V lidském těle jsou součástí proteinu feritinu, který má 3D strukturu s nano Fe_2O_3 uprostřed. Dalším příkladem jsou magnetotaktické bakterie (Obr. 3), které jsou schopny nanočástice železa dokonce samy syntetizovat. Samotná bakterie měří asi $1\ \mu\text{m}$ a vyprodukované nanočástice pak mají velikost okolo 20 nm. Téměř amorfním přírodním materiálem je pak ferrihydrit $\text{Fe}_5\text{HO}_8 \times 4\text{H}_2\text{O}$, který vzniká srážením, a částice mají velikost 3 – 6 nm, specifická plocha povrchu je pak $320\ \text{m}^2/\text{g}$. V důlních vodách najdeme oxidy železa v podobě nanominerálů, velikost těchto nanočástic se pohybuje okolo 50 nm. Oxidy železa však byly nalezeny i na Marsu, a to v podobě nanokrystalů¹².



Obr. 3: Magnetotaktická bakterie, uvnitř magnetosomy; magnetosomy jsou orientovány v přímce sever-jih; obrázek pořízen transmisí elektronovou mikroskopií¹³

Laboratorně či průmyslově připravujeme oxidy železa například žíháním již zmíněného ferrihydritu. V závislosti na zvolené atmosféře dostaneme jednu z následujících modifikací: hematit, magnetit, maghemit, nebo tzv. Häggův karbid. Redukcí kapalně fáze

borohydridem pak připravíme nanočástice nulamocného železa, které je vysoce reaktivní a na vzduchu hoří na směs Fe_2O_3 , Fe_3O_4 a zbytek Fe^0 . Další formy železa, která se připravují ve formě nanočástic jsou tzv. *feráty*. Jedná se o souhrnný název pro železo ve vyšších oxidačních stavech: železičitany (IV), železičnany (V) a železany (VI)^{11,12}.

2.2.3 Příprava nanočástic železa a jeho oxidů

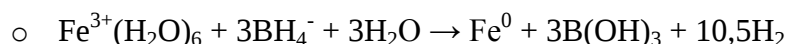
Obecně můžeme postupy přípravy všech nanočástic rozdělit do dvou kategorií: *bottom-up* a *top-down*. Postupy *top-down* využívají jako výchozích látek běžně dostupné makromateriály, pomocí například mechanické aktivace se rozemelou na prášek, jehož částice mají rozměry nanometrů. Zvláštním případem mletí je kryogenické mletí, kdy se makromateriál nejprve hluboce zmrazí. Dalším postupem v této kategorii je *exfoliace* (chemické leptání), tímto způsobem se vyrábí grafeny. Pro výrobu nanočástic oxidů železa je však důležitá termicky indukovaná dekompozice Fe-prekursorů v pevné fázi, tyto postupy jsou také známé jako *prekursorové syntézy*^{8,10}.

Mezi *bottom-up* přístupy patří velké množství metod, které využívají atomy a molekuly a z nich příslušnou metodou vznikají nanočástice. Časté jsou pyrolýzy, tedy termické rozklady bez přístupu kyslíku, příkladem je sprejová pyrolýza (termický rozklad aerosolů), mikrovlnná pyrolýza, nebo pyrolýza vodných roztoků či organometalických prekursorů. Dalšími postupy jsou mikroemulzní a sol-gel techniky, nebo sonochemické syntézy, při kterých se využívá ultrazvuk. Za zmínku ještě stojí precipitační a hydrolytické postupy, stejně tak jako chemická depozice par^{14,15}.

Pro přípravu nanočástic oxidů železa a také částic železa Fe^0 jsou významné následující postupy:

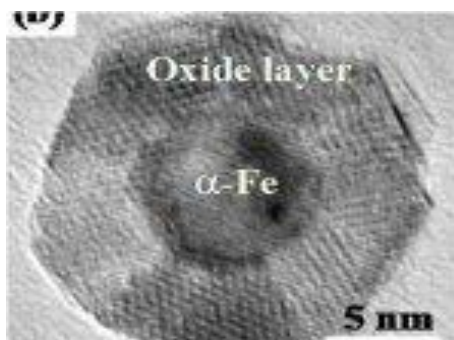
- Vysokoteplotní transformace ferryhydritu $\text{Fe}_5\text{HO}_8 \times 4\text{H}_2\text{O}$, tento nanokrystalický až amorfní materiál lze reakcemi v pevné fázi reprodukovatelně transformovat na nanočástice železa a jeho oxidů. V závislosti na použité atmosféře pak dostaneme následující produkty^{15,16}:
 - žihání na vzduchu $\rightarrow$ hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$),
 - žihání ve vakuu $\rightarrow$ magnetit (Fe_3O_4),
 - žihání za přítomnosti vodíku $\rightarrow$ α -magnetit ($\alpha\text{-Fe}_3\text{O}_4$),
 - žihání za přítomnosti ethylenu $\rightarrow$ Häaggův karbid (Fe_7C_3 a Fe_{20}C_9).

- Redukce kapaln   fáze neboli redukce borohydridem:



- Prekurzorov   syntézy – zásadním krokem u těchto metod je výběr parametrů, při kterých bude synt  za probíhat a samoz  řejmě výběr samotného prekurzoru. Výsledný produkt totiž závisí na: atmosféře, teplotě, čase, chemick  m složení a struktu  ře prekurzoru, stejn  ě jako na morfologii, velikosti a vrstvě jeho    stic¹⁶.
 -    Ř  zen   syntézy pomocí morfologie prekurzoru – v tomto postupu se vyu  žív   FeC₂O₄/Fe₂(C₂O₄)₃ ve formě hranolků, ty   inek a vrstev. Každá z těchto forem se při 180 Č na vzduchu mění v   -Fe₂O₃. Díky r  zn   morfologii výchozích látek mají produkty unikátní povrchov  , sorpční a katalytick   vlastnosti a také rozd  ln   hysterezní smy  ky¹⁷.
 -    Ř  zen   pomocí vrstvy prekurzoru – v tomto postupu se vyu  žív   jako výchozí látka Fe (CH₃COO)₂, ze které při teplotě 245   C vzniká Fe₂O₃. Pokud je vrstva výchozí látky pouze 50 mg, pak bude vznikat   -Fe₂O₃, avšak při vrstvě 500 mg vzniká   -Fe₂O₃. Vrstva materiálu tedy řídí mechanismus reakce v pevn   f  zi¹⁸.
 -    Ř  zen   pomocí velikosti částic prekurzoru – zde je výchozí látkou *Prusk   mod  *, Fe₄[Fe(CN)₆]₃, při teplotě 250 Č na vzduchu vzniká Fe₂O₃. Jestli  že mají částice výchozí látky velikost 100 nm, pak bude vznikat   -Fe₂O₃. Pokud použijeme formu s částicemi o velikosti 100   m, pak vznikne   -Fe₂O₃. Reakce pak vypadá takto: Fe₄[Fe(CN)₆]₃ + 21/4 O₂ → 7/2 Fe₂O₃ + 9 (CN)₂. Tento postup byl v roce 2006 patentován profesorem Radkem Zbořilem (katedra fyzik  ln   chemie, UP)^{19,20}.
 -    Ř  zen   pomocí atmosféry – výchozím materiálem je goethit   -FeO(OH), který je   ih  n ve formovacím plynu. Pokud je p  itonn   atmosféra vzduchu pak vzniká   -Fe₂O₃, jestli  že použijeme vodn   p  ru, pak vzniknou   -Fe částice s obalem FeOOH a velikostí asi 20 nm. Za přitomnosti atmosféry dusíku s 2 % kys  liku budou vznikat částice Fe/FeO, které mají velikost asi 10 nm a jsou složeny z   -Fe částice a FeO obalu^{21,22}.

Obečným problémem po přípravě nanočástic je jejich stabilizace, většinou mají tendenci agregovat, nebo se pasivovat vrstvou oxidu. Příkladem jsou právě částice, které vznikají v posledním zmíněném postupu, jedná se o tzv. *core-shell* částice, které mají jádro a kolem něj slupku z oxidu (Obr. 4). Stabilizace a různé modifikacemi povrchů nanočástic budou popsány v následující kapitole.



Obr. 4: Core-shell částice (obrázek pořízen transmisní elektronovou mikroskopií)²³

2.2.4 Stabilizace a modifikace nanočástic

Stabilizace nanočástic je důležitá pro zachování výjimečných vlastností, které souvisí s jejich malými rozměry. Příkladem mohou být katalyzátory, kde je velice důležitý obrovský povrch práškových materiálů, jestliže dojde ke koagulaci katalyzátoru, pak se aktivní povrch zredukuje a účinnost se významně sníží.

Mechanismy stabilizace:

- Elektrostatická stabilizace povrchově adsorbovanými aniony,
- sterická stabilizace přítomností velkých funkčních skupin,
- kombinace předchozích dvou s elektrostérickou stabilizací,
- stabilizace ligandem nebo rozpouštědlem.

Elektrostatická stabilizace

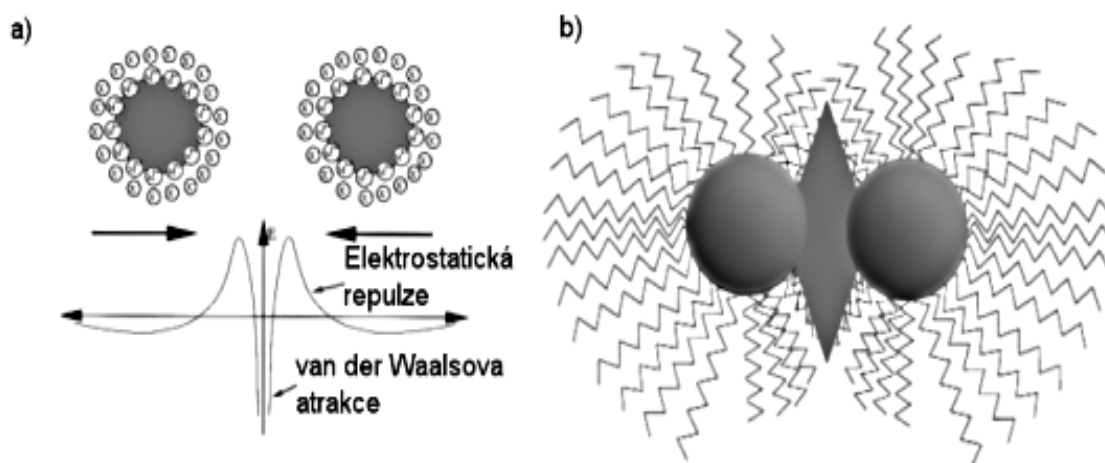
Tento typ stabilizace se provádí rozpouštěním iontů halogenidů nebo třeba karboxylátů ve vodném roztoku. Následně se tyto ionty naváží na povrch kovové nanočástice a spolu s protionty vytvoří elektrickou dvojvrstvu. Tato dvojvrstva je příčinou elektrostatické

repulze mezi částicemi, je-li elektrický potenciál dvojvrstvy dostatečně silný, pak brání agregaci. Koloidní roztoky stabilizované touto metodou jsou však velice citlivé na vlivy, které mohou narušit elektrickou dvojvrstvu, např. iontová síla, teplota. Ke zjištění účinnosti elektrostatické stabilizace se používá jednoduchá metoda měření vlnové délky plasmonové rezonance. Pokud dojde k agregaci vlivem narušení dvojvrstvy, dojde také ke změně vlnové délky, narušení dvojvrstvy se pak provádí zvýšením iontové síly roztoku přidáváním soli³.

Stérická stabilizace

Stérická stabilizace využívá makromolekul (dendrimery, polymery, oligomery atd.), které kolem částice vytvoří ochrannou vrstvu. Tato metoda může být použita i v organických rozpouštědlech, na rozdíl od metody předchozí.

Tento typ stabilizace je důležitý zejména v případech, kdy chceme zkoumat nanočástice v prostředí s vyšší iontovou silou (simulace fyziologických tekutin, které mají iontovou sílu až 150 mM), tedy jejich chování pro bioanalytické aplikace. Takovými nanočásticemi jsou například oxidy železa, případně core-shell částice Fe/Au. Stabilita těchto částic v doionizované vodě je dána elektrostatickou stabilizací, avšak jestliže chceme jejich magnetoforetické vlastnosti zkoumat v prostředí s vyšší iontovou silou je nutná stérická stabilizace, která zabrání vložkování částic. Stabilizace se provádí modifikací povrchu částic pomocí kovalentní vazby, případně jiné silné specifické interakce mezi povrchem nanočástice a stabilizátorem²⁴. Nejčastějšími stabilizátory jsou: dextran a jeho deriváty, polyethylen glykol (PEG), Pluronic F127 a další. Příkladem modifikovaných částic jsou pak částice $\text{Fe}_2\text{O}_3@\text{PEG-COOH}$ (Obr. 5).



Obr. 5: a) elektrostatická stabilizace nanočástic, b) stérická stabilizace koloidů kovů²⁵

Elektrostérická stabilizace

Zde se spojují obě předcházející metody. Jako stabilizátory jsou používány organokovy nebo iontové detergenty. Použité sloučeniny stabilizují částice pomocí stérické repulze – objemné molekuly navázané na povrch částice, navíc však mají tyto sloučeniny na sobě polární skupiny, které umožňují vznik elektrické dvojvrstvy a tím i elektrostatické repulze.

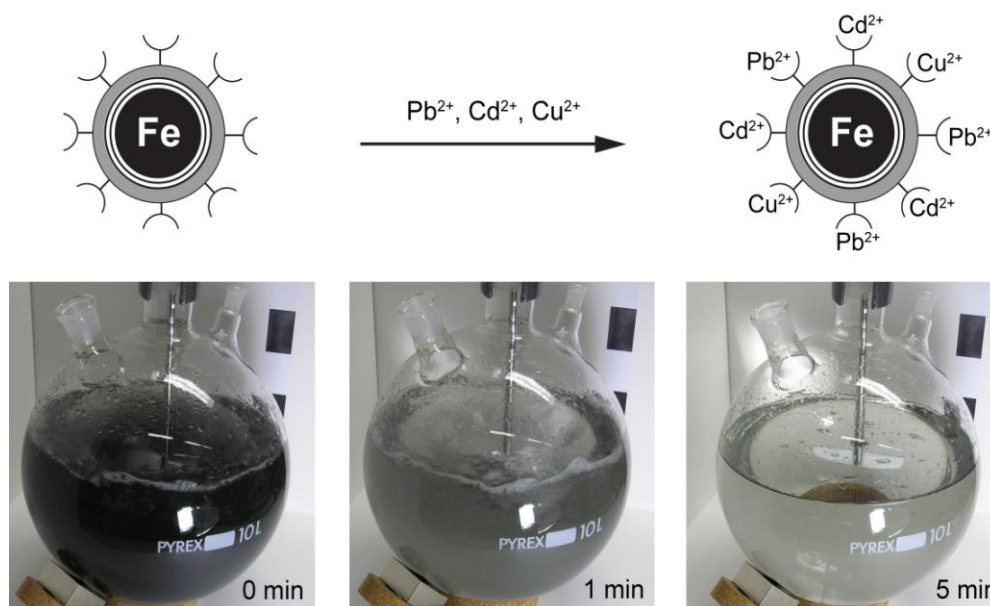
Stabilizace ligandem nebo rozpouštědlem

Při stabilizaci ligandem se využívá koordinace částice kovu s ligandem, dochází ke koordinační vazbě, podobně jako u komplexních sloučenin. Jako ligandy při této stabilizaci slouží například fosfíny, aminy a také thioly spolu s jejich deriváty.

Další používanou metodou pro soli kovů 4. – 11. skupiny periodické tabulky prvků je stabilizace rozpouštědlem. Takto připravené koloidy kovů jsou pak snadno izolovatelné jako práškový materiál, který je téměř monodisperzní. Výťažky jsou poměrně vysoké a koloidy se dají připravit i ve větším měřítku.

2.2.5 Aplikace magnetických nanočástic

Mezi významné aplikace magnetických nanočástic patří jejich použití v technologiích sanace odpadních, podzemních i pitných vod. Jedná se zejména o odstraňování nebezpečných perzistentních polutantů pomocí částic Fe^0 , technologie byla patentována v roce 2008 (prof. Zbořil, katedra fyzikální chemie, UP)²⁶. Tento postup využívá částice nulamocného Fe, které jsou připravovány velkokapacitní výrobou a jsou využívány k odstranění těchto látek: As, U, Se, těžkých kovů, chlorovaných uhlovodíků, fosforečnanů a také herbicidů. Obecně se jedná o redukční technologie čištění vod (Obr. 6). Polutanty reagují s částicemi železa různými způsoby: precipitace na površích, sorpce, redukce, oxidace atd. Dále se Fe^0 využívá na oxidačně-sorpční odstranění estrogenů z odpadních a povrchových vod nebo degradaci yperitu. Tyto částice mají vhodný rozměr, díky úzké velikostní distribuci 30-100 nm a jsou stabilizovány pomocí ekologicky šetrného stabilizátoru Tween 80. Tento stabilizátor zabraňuje agregaci a mimo jiné také umožňuje dobré migrační vlastnosti v horninovém prostředí^{27,28,29}.



Obr. 6: Příklad užití nanočástic Fe pro odstranění těžkých kovů z vod³⁰

Reakce Fe^0 s uhlovodíky $\text{Fe}^0 + \text{H}_2\text{O} + \text{RX} \rightarrow \text{RH} + \text{Fe}^{2+} + \text{OH}^- + \text{X}^-$ má dva mechanismy:

- Reduktivní β -eliminace spočívá v odstranění dvou atomů halogenu vázaných na dvou sousedních atomech uhlíku a vytvoření násobné vazby mezi těmito uhlíkovými atomy. Tato reakce převažuje.
- Sekvenční hydrogenolýza, při které dochází k nahrazení atomu halogenu ve vazbě C-X atomem vodíku: $\text{RX} + 2\text{e}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{RH} + \text{X}^-$.

Nanočástice železa se dále využívají jako účinná zbraň proti sinicím. Jejich výhodou je vysoká selektivní toxicita proti sinicím a zároveň o 2-3 řády nižší toxicita vůči daňím, vodním rostlinám a živočichům^{31,32}.

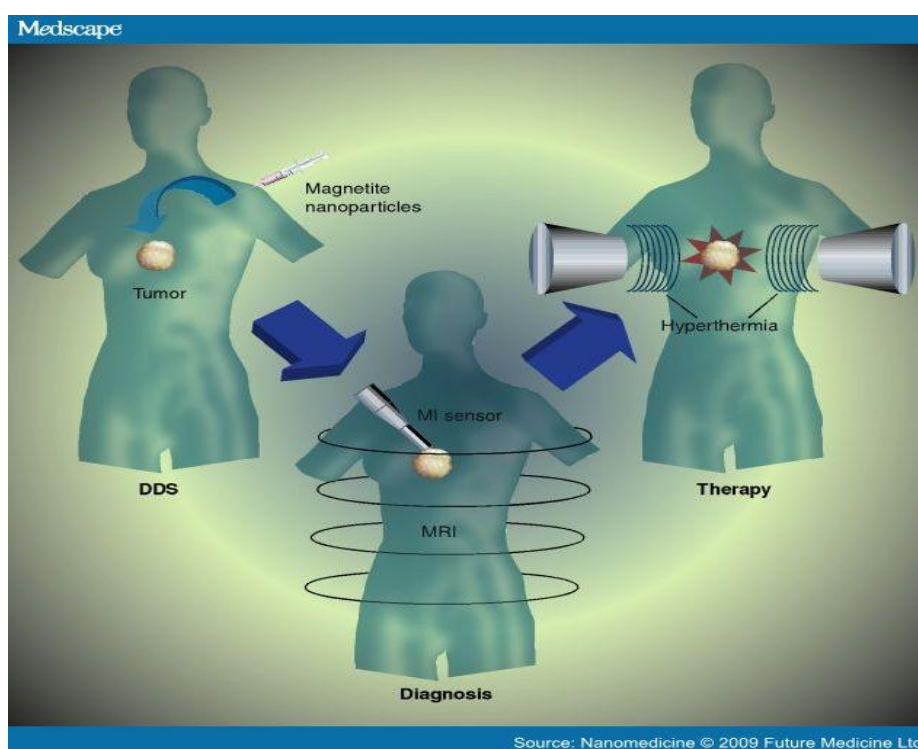
Dalšími sloučeninami železa, které se využívají v environmentálních aplikacích, ideální pro oxidačně-sorpční technologie, jsou feráty. Jedná se o železo v oxidačním stavu IV, V, VI, které má stejné oxidační účinky jako manganistan draselný, ale je šetrnější k životnímu prostředí, protože vznikají oxidy železité. Důležité jsou zejména železany (VI), a to při odstraňování těchto polutantů: chlorovaných uhlovodíků, polycyklických aromatických uhlovodíků, barevných pH indikátorů, antibiotik, dusičnanů, arsenu, těžkých kovů, radionuklidů, sirovodíku, kyanidů, dusíkatých sloučenin, huminových kyselin, organo-sírných látek, siřičitanů a thiosiřičitanů. Příkladem je železan draselný, který se používá pro

odstranění arsenu a kyanidů. Samotný mechanismus odstranění polutantů pomocí ferátů lze popsat jako strukturní zabudování polutantu do povrchové vrstvy, zde vznikne samostatná fáze, která je následně překryta další povrchovou vrstvou a nedochází pak ke zpětnému vymývání, jak je to tomu u technik, kdy se látka pouze sorbuje na povrch^{33,34}.

Nanočástice oxidů železa se využívají při katalytických a fotokatalytických reakcích. Použití $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ je založeno na nanokrystalických filmech hematitu dopovaných atomy cínu, které slouží jako zdroj pro vysoce účinné fotoelektrony pro přímé solární štěpení vody. Nanočástice hematitu jsou také doposud nejúčinnějším katalyzátorem rozkladu peroxidu vodíku, při této reakci hraje zásadní roli krystalinita částic. Jako magnetický fotokatalyzátor se používá $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$. Samotný oxid titaničitý, který se při fotokatalýze používá je toxický a jeho postprocesní separace z vodního prostředí je nákladná. Tento problém byl vyřešen navázáním magnetických nanočástic, které umožňují snadné odstranění použitého katalyzátoru pomocí magnetu. Takto modifikovaný fotokatalyzátor je opětovně použitelný a jeho účinnost je srovnatelná s komerčním a nemodifikovaným katalyzátorem^{35,36}.

V medicíně se využívá několik aplikací magnetických nanočástic (Obr. 7). Významné je nové perorální kontrastní činidlo na bázi bentonit/ $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ pro MRI diagnostiku dutiny břišní, patent z roku 2009 (prof. Zbořil, katedra fyzikální chemie, UP)³⁷. Toto činidlo již prošlo úspěšně klinickými testy. Bentonit je biokompatibilní, biodegradabilní, netoxický jílovitý alumino-silikátový materiál s vrstevnatou strukturou, který má obrovskou sorpční kapacitu díky velké ploše povrchu^{38,39}. Dalším použitím nanočástic $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ je cílený transport léčiv. Částice (cca 30 nm) slouží jako magnetické nanonosiče, které mají povrch modifikovaný kyselinou palmitovou. Výhodou takto modifikovaných částic je jejich vysoká koloidní stabilita i při velké iontové síle a zvýšené teplotě, nízká in-vitro cytotoxicita a nízká micelární koncentrace. Princip cíleného transportu je jednoduchý: magnetem se částice navedou do místa, kde má léčivá látka navázaná na jejich povrchu působit a zde se uvolní. Uvolnění látky se většinou provádí tak, že se v krátké době mění magnetické pole, částice reagující na tuto změnu se začnou zahřívat a tím se začne léčivo z jejich povrchu uvolňovat. Množství léčivé látky dopravené až na místo určení tímto způsobem je o několik desítek procent vyšší, než při podávání klasickými metodami, kde dochází ke ztrátám v krevním řečišti nebo trávící soustavě. Magnetických vlastností se dále využívá při tzv. *magnetické fluidní hypertermii*^{40,41}. Zde se používají nanočástice Fe_3O_4 , které díky svým rozměrům nedisponují magnetickými doménami, ve kterých by byly jednotlivé magnetické momenty

orientovány stejným směrem. Každá částice má pouze jeden magnetický moment, jedná se tedy o jednodoménové částice, důsledkem je pak superparamagnetický stav, kdy dávají částice velkou magnetickou odezvu a jsou snadno ovlivnitelné magnetickým polem. Rychlými změnami magnetického pole se částice zahřejí na teplotu, která neublíží zdravým buňkám, ale ničí rakovinné buňky. Podobné je to u tzv. nanostřel, zde se nevyužívá magnetických vlastností, ale částice se také zahřívají. Konkrétním příkladem jsou křemíkové nanočástice obalené zlatem, na povrchu modifikované tak, aby se uchytily na rakovinnou buňku, po uchycení působí na částice laser a zahřeje je na teplotu 55 °C, při které dochází k destrukci rakovinných buněk, zatímco zdravé buňky tuto teplotu snesou⁴².



Obr. 7: Schéma použití MNPs v medicíně; zobrazení pomocí MRI, léčba pomocí magnetické fluidní hypertermie⁴³

Za zmínku stojí také použití nanočástic v kosmetických přípravcích s UV filtry, v průmyslových barvivech a také jako přísady do barevných skel. V současné době se věnuje velká pozornost kolmému záznamu informace, který v budoucnu umožní zvýšení informační hustoty a tím zcela nahradí dosavadní podélný záznam informace u magnetických hard disků.

2.3 Kapilární elektromigrační techniky

Kapilární elektroforéza (CE), nebo také vysokoúčinná kapilární elektroforéza (HPCE) má několik provedení - módů. Společným znakem těchto módů je kapilára, ve které dochází k separaci. Účinnost stovek tisíc až milionů teoretických pater a také citlivost femtomol-zeptomol (10^{-15} - 10^{-21} mol) dělají z kapilární elektroforézy nejúčinnější a nejperspektivnější analytickou separační techniku. Kombinací kapilární elektroforézy s další separační technikou, jako je například chromatografie, se účinnost separace ještě zvyšuje a vznikají tak nejrůznější kombinace s ostatními analytickými metodami⁴⁴.

Jako kapilární elektromigrační techniky jsou označovány následující metody:

- Zónová elektroforéza (CZE),
- izotachoforéza (CITP),
- izoelektrická fokusace (CIEF),
- elektroforéza v síťovacích prostředích, klasických agarosových i polyakrylamidových gelů (CGE) i v kapalných síťovacích médiích (SDS-elektroforéza bílkovin),
- bioafinitní elektroforéza,
- micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC) – kombinace s chromatografickými technikami,
- kapilární elektrochromatografie (CEC) – kombinace s chromatografickými technikami.

Kapilární elektroforéza se klasicky využívá k analýze vzorku za účelem kontroly čistoty a kvality, můžeme také analyzovat komplexní směsi, jako jsou biologické tekutiny a zjistit přítomnost jedů, léčiv apod. Dále je možné sledovat s její pomocí biologické a chemické přeměny, například přeměny metabolitů či enzymatické reakce. Pro tuto diplomovou práci je však zdaleka nejdůležitější následující využití kapilární elektroforézy - fyzikálně-chemická charakterizace analytu. Mezi vlastnosti, které díky kapilární elektroforéze můžeme u analytu stanovit, patří: elektroforetická pohyblivost, relativní molekulová hmotnost, efektivní náboj, disociační a asociační konstanty, difúzní koeficienty a další charakteristiky^{44,45}.

2.4 Instrumentace kapilární elektroforézy

Hlavním atributem kapilární elektroforézy je samozřejmě kapilára. Je křemenná (tavený křemen) o vnitřním průměru 25 – 100 μm a délce 50 – 100 cm, a vevnitř pokrytá polyimidem. Alternativou mohou být teflonové a skleněné kapiláry. Kapilára je naplněná elektrolytem nebo gelem, typický objem je 1-10 μl , objem vzorku je pak 0,1 – 1 % objemu kapiláry (1-10 nl). Výhodou kapiláry je její relativně velký povrch vůči objemu, bohužel je to zároveň příčinou vzniku Joulova tepla, a proto je nutné kapiláru dobře chladit. Dalším problémem pak bývá čištění kapiláry, není totiž koncipována na jednorázové použití a stává se, že dojde k jejímu ucpání nebo poškození povrchové modifikace. Vnitřní povrch kapiláry a jeho modifikace jsou klíčovými faktory při separaci, protože tato plocha zajišťuje interakci se vzorkem a elektroosmotický tok, který je hybnou silou separace. Povrchové modifikace vnitřního povrchu kapiláry se provádí buď dynamicky, adsorbcí nebo kovalentní chemickou vazbou a můžeme jimi ovlivnit separaci nebo také obrátit elektroosmotický tok^{44,46}.

Jak vyplývá z předpony elektro-, další důležitou součástí kapilární elektroforézy je zdroj elektrického napětí, které vytváří elektrické pole, ve kterém dochází k migraci nabitých částic. Na konci kapiláry se většinou nachází detektor a mluvíme pak o on-line detekci. Kvůli zmíněným malým objemům vzorku je nutná vysoká citlivost detektoru. Nejpoužívanějšími typy detektorů jsou UV-Vis, fluorescenční a vodivostní (Schéma I). On-line detekce patří mezi velké výhody této techniky, protože se tak eliminují další chyby spojené s detekcí po samotné separaci. Zjevnou výhodou je také minimální spotřeba vzorku a rychlost s jakou separace probíhá^{45,47}.

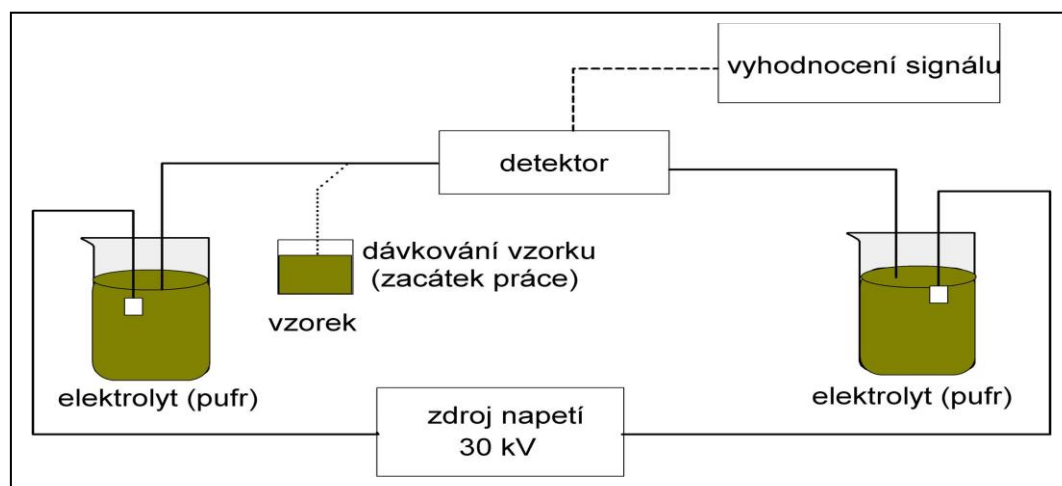


Schéma I: Instrumentace kapilární elektroforézy

2.5 Základní fyzikální principy kapilární elektroforézy

Separaci látek v kapilární elektroforéze umožňuje několik veličin, které na vzorek působí. Analyt obsahuje ionty, které mají náboj a ve stejnosměrném elektrickém poli se díky němu pohybují k příslušné elektrodě, rychlost tohoto pohybu je dána vztahem:

$$m = v/E \quad (1)$$

kde m je elektroforetická mobilita (značí se také jako μ_e), v je rychlost iontu/nabitě částice a E je intenzita elektrického pole. Elektroforetická mobilita je pro konkrétní ion v konkrétním prostředí konstantní. Na nabitou částici dále v kapiláře působí dvě síly: síla elektrického pole F_E a proti ní působící síla frikční F_f , která souvisí s odporem prostředí v kapiláře. Matematicky jsou tyto síly dány vztahy:

$$F_E = qE \quad (2)$$

kde q je náboj částice a E již zmíněná intenzita elektrického pole.

$$F_f = -6\pi\eta rv \quad (3)$$

Kde r je hydrodynamický poloměr nabitě částice, η pak viskozita prostředí.

Tyto síly působí proti sobě a ovlivňují pohyblivost nabitě částice, tedy její elektroforetickou mobilitu a ta je pak popsána vztahem:

$$m = v/E = q/6\pi\eta rv \quad (4)$$

Z uvedených závislostí mobility na prostředí a silách, které na částice působí, vyplývá, že malé a vysoce nabitě částice budou mít hodnoty elektroforetických mobilit vyšší, než velké a méně nabitě částice^{44,47}.

2.5.1 Elektroosmotický tok (EOF)

Elektroosmotický tok je fyzický tok kapaliny kapilárou, který je vyvolaný působením stejnosměrného elektrického pole, je důsledkem vlastností fázového rozhraní mezi

pohyblivou (kapalnou) částí a nepohyblivou (vnitřní stěna kapiláry) částí kapiláry. Výhodou EOF je plošný profil toku kapaliny v kapiláře, který je dán malými vnitřními rozměry v kapiláře (Schéma II).

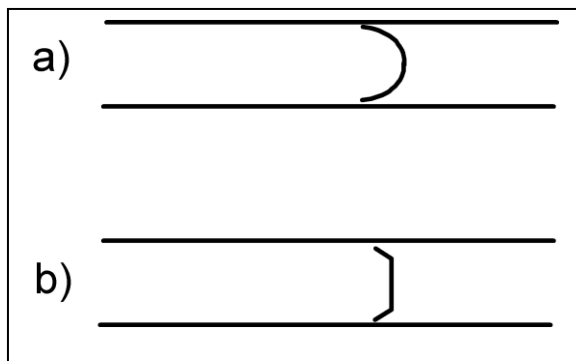
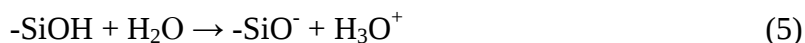
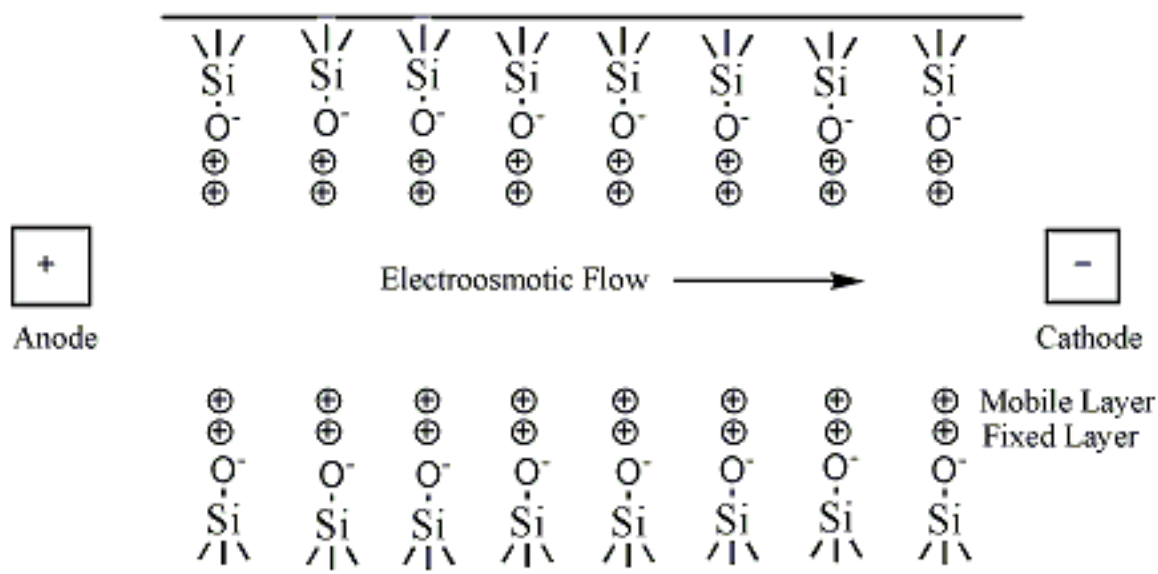


Schéma II: a) laminární proudění v kapiláře (HPLC, CZE s potlačeným EOF), b) plošný profil daný EOF v klasické CZE

Na vnitřním povrchu křemenné kapiláry jsou tzv. silanolové skupiny, zvolením vhodného pracovního elektrolytu dosáhneme jejich hydratace. „Kyselý“ vodík silanolové skupiny může v závislosti na pH vodného prostředí disociovat:



Z rovnice vyplývá, že po disociaci vznikne na vnitřní straně kapiláry přebytek záporného elektrického náboje, tento náboj je okamžitě kompenzován stejně velkým nábojem kationtů z elektrolytu. Kationy jsou k vnitřní straně kapiláry silně přitahovány, tím vzniká Sternova elektrická dvojvrstva. Sternova dvojvrstva je v důsledku silných přitažlivých sil mezi ionty nepohyblivá, jsou k ní přitahovány další ionty z elektrolytu, síly které na ně působí, však nejsou tak silné a mluvíme pak o difúzní dvojvrstvě, ve které ionty mohou migrovat (Obr. 8).



Obr. 8: Stěna kapiláry s disociovanými SiOH skupinami⁴⁷

Po vložení stejnosměrného elektrického napětí začnou ionty migrovat. Kationty migrují směrem ke katodě a jsou odpuzovány od stěny kapiláry díky vrstvě aniontů. V důsledku pohybu kationtů včetně jejich solvatačních obalů dochází k přesunu celého objemu kapaliny v kapiláře směrem od anody ke katodě.

EOF je silně závislý na pH, viskozitě elektrolytu, jeho koncentraci a také dielektrické konstantě rozpouštědla. Jak je patrné z výše uvedeného pohybu celého objemu kapaliny v kapiláře, díky EOF lze separovat jak kationty, tak anionty, částice bez náboje pak budou tvořit samostatnou zónu. Je důležité vytvořit pro EOF správné podmínky, protože stejně tak jako může separaci urychlit, může ji také zhoršit.

2.5.2 Zeta-potenciál jako charakteristika koloidního systému

Stejně jako na povrchu kapiláry vzniká elektrická dvojvrstva i na povrchu částic s povrchovým nábojem dispergovaných v roztoku, obecně mluvíme o koloidním systému, který dále charakterizujeme jako celek. Se vzniklou elektrickou dvojvrstvou rozlišujeme také dva typy potenciálových rozdílů - elektrochemický potenciál a elektrokinetický potenciál. Elektrochemický potenciál je dán celkovým potenciálovým rozdílem mezi povrchem částice a objemem kapaliny, jeho přímým důsledkem jsou jevy spojené s vedením elektrického proudu a membránové potenciály. Druhým typem je elektrokinetický potenciál, nebo také zeta-

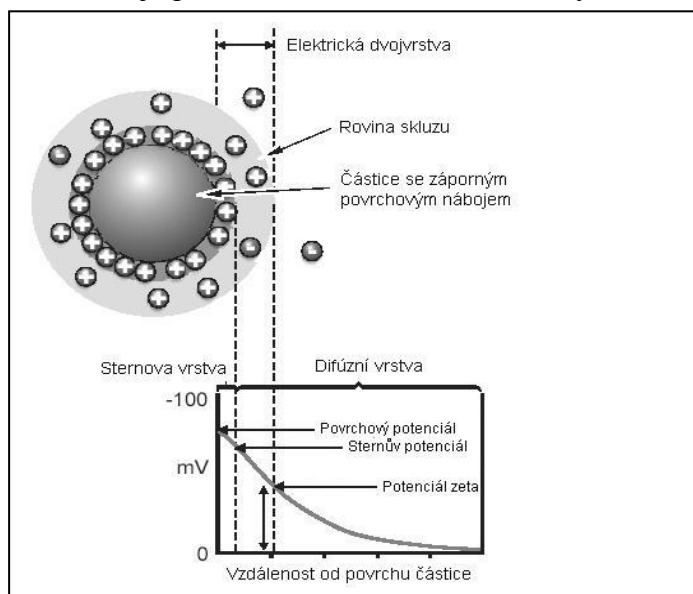
potenciál (ζ -potenciál). Zeta-potenciál je potenciálový rozdíl mezi objemem kapaliny a tenkou vrstvou protiiontů poutanou k povrchu částice, která je na rozhraní mezi kompaktní (Sternovou) a difúzní částí elektrické dvojvrstvy (Obr. 9). V objemu roztoku se zeta-potenciál snižuje po přidavku elektrolytu, kdy dochází ke stlačení difúzní vrstvy a více iontů přechází do kompaktní vrstvy. Naopak při ředění systému se difúzní vrstva rozšiřuje a zeta-potenciál se zvyšuje.

Zeta-potenciál odpovídá náboji difúzní části elektrické dvojvrstvy, tento náboj pak charakterizuje a zároveň ovlivňuje stabilitu koloidních systémů. K určení tohoto náboje se využívají elektrokinetické jevy (odtud i název elektrokinetický potenciál), jedná se o kinetické děje způsobené působením elektrického pole na koloidní soustavu. Mezi základní typy těchto elektrokinetických jevů patří vedle elektroosmózy, sedimentačního potenciálu a potenciálu proudění, také elektroforéza. Právě elektroforéza se pro určení zeta-potenciálu využívá nejčastěji^{44,45}.

Vztah, který odvodili P. Debye a E. Hückel pro výpočet elektroforetické rychlosti ideální kulovité částice s poloměrem r umožňuje výpočet zeta-potenciálu z měření elektrické pohyblivosti koloidních částic:

$$v = (2D\zeta E)/(3\eta L) \quad (6)$$

kde E je napětí vložené na kapiláru o délce L , η je viskozita disperzního prostředí, D je dielektrická konstanta a v je právě měřená elektroforetická rychlost.



Obr. 9: Vznik zeta-potenciálu a elektrické dvojvrstvy na povrchu záporně nabitě částice⁴⁵

2.6 Prekoncentrace v kapilární elektroforéze

V případě kapilární elektroforézy je nezbytně důležitá příprava vzorku před samotnou analýzou/separací, jak tomu ostatně bývá v každé analytické metodě. Běžně se provádí zakoncentrování vzorku u ostatních technik pro případy, kdy je koncentrace analytu ve vzorku velmi nízká, to platí i pro kapilární elektroforézu a možností jak zakoncentrování dosáhnout je několik. Off-line prekoncentrační metody jsou shodné jak pro kapilární elektroforézu, tak pro ostatní metody, princip je jednoduchý: před samotnou separací v kapiláře použijeme jinou techniku, například extrakci tuhou fází, extrakt odebereme a následně dávkujeme do kapiláry, kde probíhá separace. In-line prekoncentrace je podobná předchozímu postupu, avšak vzorek, který je prekoncentrován první technikou je následně přímo dávkován do kapiláry, neodebíráme ho tedy a dále s ním nemanipulujeme jako u off-line prekoncentrace. V čem je ale kapilární elektroforéza výjimečná je třetí možnost – on-line prekoncentrace.

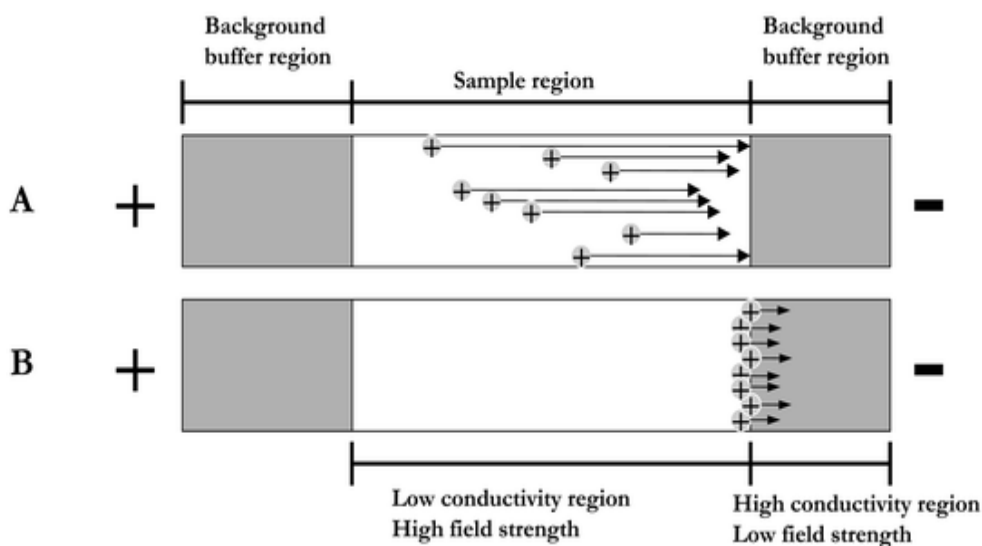
Při on-line prekoncentraci se vzorek zakoncentrovává přímo v kapiláře výběrem vhodných elektrolytů. Variant provedení on-line prekoncentrace je opět několik, využívá se izotachoforéza (CITP), micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC), prekoncentrace na gradientu pH, avšak pro tuto práci je důležitá hlavně metoda využívající zakoncentrování zesílením pole – „stalking“, tedy prekoncentrace na základě rozdílných intenzit elektrického pole^{46,47}.

2.6.1 On-line prekoncentrace – stacking

Jestliže je vzorek vodivější než pracovní elektrolyt/pufr, dojde k tzv. rozmytí zóny vzorku a separace je neúspěšná. Pokud ale bude vzorek naopak méně vodivý, než pracovní pufr, pak nastane jeho zakoncentrování na rozhraní s pracovním elektrolytem - stacking. Metody zajišťující prekoncentraci pomocí rozdílu intenzit elektrického pole je možné rozdělit na dva typy.

První typ využívá elektrokinetické dávkování vzorku a je označován jako Field Amplified Sample Injection – FASI. Tato metoda je vhodná pro ionty analytu, které migrují stejným směrem jako EOF (zpravidla kationty). Jestliže je vodivost vzorku dostatečně nízká (například pokud je vzorek rozpuštěn ve vodě) oproti pracovnímu elektrolytu, pak při běžné době dávkování 10 – 30 sekund bude dávkováno dostatečné množství analytu, a to díky zesilujícímu efektu elektrického pole, dojde k vytvoření ostré zóny vzorku na rozhraní vzorek/pracovní pufr. Dále se při tomto postupu doporučuje nejdříve nadávkovat malé

množství vody, aby se zabránilo rušení vznikající zóny na rozhraní s pracovním pufrém. Po dávkování vzorku je opět dávkován pracovní pufr a tím začne separační proces. Nevýhodou tohoto postupu je silná závislost množství iontů, které jsou dávkovány na vodivosti vzorku, pokud totiž vodivost není možno kontrolovat, pak budou výsledky nespolehlivé (Obr. 10).



Obr. 10: a) zóna vzorku, bez stackingu, b) stacking na rozhraní zón s různou specifickou konduktivitou

Druhý typ využívá hydrodynamické dávkování – Field Amplified Sample Stacking – FASS. Tato metoda nemá nevýhodnou závislost na vodivosti vzorku, jelikož hydrodynamické dávkování nepracuje s vodivostí vzorku, ten je dávkován rovnoměrně vlivem rozdílných tlaků. I z tohoto důvodu se jedná o metodu používanou častěji než FASI. Úzká zóna vzorku vzniká po aplikaci elektrického pole, v prvním případě se tvořila prakticky okamžitě. I zde vzniká problém, pokud vodivost iontů ve vzorku není dostatečně nízká, dojde k ovlivnění rozlišení peaků, avšak jejich plocha bude zachována v dostatečné míře, aby se výsledky daly reprodukovat.

Limitujícími faktory pro tyto metody je tedy hlavně vodivost vzorku, dále také vznik Joulova tepla, které vzniká v důsledku vysoké intenzity elektrického pole v místech kapiláry, kde se nachází velmi málo vodivý vzorek. Platí zde nepřímá úměra – čím menší méně vede daná část kapiláry proud, tím větší intenzita elektrického pole na ni působí a tím dochází k zahřívání. Dalším problémem je rozdíl rychlostí EOF v části kapiláry obsahující vzorek a v části obsahující pracovní pufr. Elektroosmotická mobilita navíc vzrůstá se snižující se

koncentrací solí. Oba tyto faktory vedou ke zvyšující se elektroosmotické mobilitě v zóně vzorku, než v zóně pracovního elektrolytu, což vede dále ke změně tlaku mezi těmito zónami a důsledkem je změna rychlostního profilu toku kapaliny v kapiláře z téměř rovného na parabolický. Změněný profil má za následek rozmývání peaků, což je nežádoucí, a proto je důležité věnovat velkou pozornost výběru pracovního elektrolytu se správnou elektroosmotickou mobilitou vzhledem ke zkoumanému vzorku.

Stacking lze využít nejen pro analýzu kationtů, ale také aniontů, zde se využívá manipulace s pH pracovního pufru. Cílem je, aby pH vzorku bylo odlišné od pH pracovního pufru tak, aby efektivní mobility iontů ve vzorku byly vyšší než v pracovním pufru a tím docházelo k zakoncentrování na vzniklém pH rozhraní^{45,46}.

2.7 Nanomateriály v kapilární elektroforéze

S rostoucím významem a produkcí nanomateriálů se objevují stále nové a nové snahy o jejich zakomponování do zavedených technik v různých odvětvích chemie. V analytické chemii se v současné době využívají hlavně nanomateriály na bázi uhlíku – fullereny a uhlíkové nanotrubic. Příkladem je použití uhlíkových nanotubic jako stacionární fáze pro extrakci v pevné fázi (SPE)⁴⁹.

V kapilární elektroforéze byly uhlíkové nanotrubic použity pro pokrytí kapiláry a jako pseudostacionární fáze, kdy byly nanotrubic přímo součástí pracovního elektrolytu^{49,50}. Na druhou stranu i samotná kapilární elektroforéza je využívána pro separaci nanomateriálů, ať už se jedná o zmíněné nanotrubic, nebo o separaci nanočástic – kovové nanočástice, kvantové tečky^{49,51}. Tato technika má velkou výhodu ve schopnosti nejen vzorek separovat, ale také ho charakterizovat v jednom kroku, což neplatí o dosud nepoužívanějších technikách pro charakterizaci nanočástic – Dynamický rozptyl světla (Dynamic Light Scattering – DLS) a Transmisní elektronová mikroskopie (Transmission Electron Microscopy – TEM). Obě techniky se využívají pro klasifikaci velikosti nanočástic, případně velikostní distribuce. Využití CE však umožňuje jednak separaci nanočástic na frakce podle velikosti částic a dále charakterizaci těchto částic – informace o náboji, absorbanci, a to v jednom kroku, rychle a s malou spotřebou vzorku, výhodou je také cenová dostupnost CE na rozdíl od TEM⁵².

2.7.1 Separace nanočástic kapilární elektroforézou

Nanočástice mohou být separovány v kapilární elektroforéze, pokud splňují následující podmínky: musí být rozpustné, nabitě a stabilní v pracovním elektrolytu (BGE – background electrolyte). Stabilita nanočástic byla probrána v samostatné kapitole. Pro zajištění rozpustnosti a povrchového náboje se povrch částic pokryje látkou s funkčními skupinami, které disociují, a tím zajišťuje nabití. Například nanočástice s povrchem pokrytým PEG a funkční skupinou –COOH na konci řetězce. Takto získaný náboj je pak přímo úměrný velikosti částice: čím větší částice, tím větší povrch, tedy více navázaných PEG-COOH a tím větší náboj. Částice s karboxylovými skupinami na povrchu mají negativní náboj a migrují k anodě. Je důležité rozlišit funkcionalizaci částic za účelem zlepšení rozlišení při separaci či jejich nabití a funkcionalizaci, která vzniká přímo při přípravě a má jiný účel⁵³.

Na separaci částic má zásadní vliv pH, složení matrice a také složení BGE – přítomnost solí, tenzidů apod. Tenzidy jsou velmi důležitou součástí BGE, protože zajišťují mobilitu částic v roztoku. Jsou využívány jako stabilizátory částic při jejich velikostní separaci jelikož zabraňují aglomeraci částic důsledkem elektrostatické repulze. Jedním z nejčastěji používaných tenzidů je natrium dodecylsulfát (SDS – Sodium Dodecyl Sulfate). Bylo prokázáno, že se zvyšující se koncentrací SDS v BGE se také zvyšuje elektroforetická mobilita nanočástic. Mobilita se zvyšuje v důsledku zvyšujícího se celkového náboje částic – větší množství naadsorbovaného SDS = větší náboj^{52,54}.

Stejně důležitým krokem jako separace částic je pak samotná detekce. Nejčastějšími typy detekcí je UV-Vis a fluorescenční detekce. Nicméně v současné době jsou zkoumány i možnosti detekce pomocí Ramanovy spektroskopie nebo kombinace s hmotnostní spektrometrií. Obecně lze říct, že oba nové způsoby detekce mají velké výhody v nízkých limitech detekce a také vysoké selektivitě, zvláště Ramanova spektroskopie. Nevýhodou však zůstává on-line spojení s CE, které je sice velice žádoucí, ale jeho provedení je velmi problematické. Za účelem zvýšení detekčního limitu a zachování osvědčených detekčních metod se proto experimentuje s prekoncentračními technikami. Použití REPSM (Reversed Electrode Polarity Stacking Mode) při separaci zlatých nanočástic vedlo k zvýšení citlivosti on-line detekce 260krát a po optimalizaci podmínek (pH, doba prekoncentrace, koncentrace SDS a BGE) se detekční limit pro zlaté nanočástice zvýšil 30krát a pro Au/Ag core-shell

částice dokonce 140krát. Z tohoto důvodu se prekoncentrační techniky jeví jako slibnou alternativou pro analýzu stopových množství nanočástic například v životním prostředí^{55,56}.

2.8 Stacking – vedlejší jev ovlivňující charakterizaci nanočástic

Velice důležité je při charakterizaci nanočástic kapilární elektroforézou neopomenout vedlejší jevy, které mohou vnikat z různých příčin a budou ovlivňovat velikost i tvar peaků. Je důležité tyto jevy popsat, případně se jim pokusit zabránit. Výše uvedený stacking, potažmo prekoncentrační jevy mohou vznikat i samovolně v důsledku rozdílů pH (pH mediated stacking), rozdílů intenzit elektrického pole, vodivosti mezi zónou vzorku a BGE, apod.⁵⁷.

Častým jevem při zkoumání nanočástic pomocí CE je právě rozdíl mezi vodivostí media, ve kterém jsou částice připraveny a vodivostí pracovního elektrolytu. Z výše uvedeného popisu prekoncentračních jevů víme, že tento rozdíl bude mít pravděpodobně za následek stacking a dojde k ovlivnění tvaru peaků. Interakce mezi částicemi budou zkreslené a jejich interpretace chybná, jestliže dostatečně vznikající jev nepopíšeme⁵⁷.

V experimentální části této diplomové práce byl zkoumán stacking jako vedlejší jev a jeho vliv na tvar peaků a zkreslení informací o velikosti zkoumaných nanočástic.

3. CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo zjistit, jakým způsobem ovlivňuje různá iontová síla použitých elektrolytů výsledky analýzy magnetických nanočástic kapilární elektroforézou. Práce měla za úkol prokázat prekoncentraci magnetických nanočástic na rozhraní zón s různou specifickou konduktivitou stejně jako k tomu dochází u metod využívajících zakoncentrování zesílením pole („stacking“ metody). Vedle samotného důkazu prekoncentrace měla práce také popsat podmínky, při kterých k efektu dochází a ověřit limitující faktory.

Analýza byla zaměřena nejprve na aniontové nanočástice. Experimenty prokázaly výše uvedenou hypotézu a následně byly zjištěny i limitující faktory prekoncentrace. Poté byly analyzovány také kationtové nanočástice. I v případě druhého typu nanočástic byla hypotéza prokázána a limitující faktory, které byly zjištěny u aniontových nanočástic platí také pro kationtové nanočástice. Proto lze chování nanočástic v takto nastavených podmínkách pokládat za jasný trend.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Chemikálie

Jako pracovní elektrolyt byl použit pufr, který se skládal z kyseliny borité a hydroxidu sodného. Pro přípravu karboxylovaných core-shell nanočástic byly použity^{57,58}: sodná sůl poly-akrylové kyseliny (45 % roztok), heptahydrát síranu železnatého, kyselina chlorovodíková. Chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma (Sigma, St. Louis, MO, USA) a byly v čistotě p.a.

4.2 Techniky

Charakterizace karboxylovaných-MNPs

Pro charakterizaci nanočástic byl využit transmisní elektronový mikroskop (TEM) JEOL JEM-2010, použité napětí 160 kV, rozlišení 1,9 Å. Dále byl použit Mössbauerův spektrometr pro charakterizaci jádra core-shell částic – α -Fe. Byly využity hyperjemné parametry Mössbauerova spektra získané při použití zdroje $^{57}\text{Co}(\text{Rh})$. Částice byly také charakterizovány za pomoci dynamického rozptylu světla – DLS, velikost odpovídala 30 nm. Využita byla také termogravimetrická analýza na přístroji STA 449 C Jupiter (Netzsch Instrument).

Electroforetická analýza - instrumentace

Analýzy byly provedeny na přístroji HP $^{3\text{D}}$ CE s DAD (Diode Array Detection) detektorem – detekce s diodovým polem (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo), vlnové délky nastavené pro UV detekci byly 200 nm a 254 nm, první vlnová délka byla použita k vyhodnocení dat. Pro měření byly použity nepokryté křemenné kapiláry (Polymicro Technologies, Inc., Phoenix, AZ, USA) s vnitřním průměrem 50 μm (celková délka kapiláry 33 cm, efektivní délka pak 24,5 cm). Kazeta s kapilárou byla termostatována na 25 °C.

Kapilára byla promyta denně před každým experimentem 0,1 M NaOH (10 min.) a poté deionizovanou vodou (10 min.). Před každou analýzou byla kapilára promyta 0,1 M NaOH (2 min.), deionizovanou vodou (2 min.) a puftrem (3 min.). Veškeré promývání bylo pod tlakem 940 mbar.

Elektrolyty byly připraveny rozpuštěním odpovídajícího množství kyseliny borité v deionizované vodě (18 M Ω cm, Millipore, Billerica, MA, USA) a pH bylo vytitrováno 50 % (w/w) hydroxidem sodným na zvolenou hodnotu. Efektivní mobility nanočástic byly vyhodnoceny na počátku peaku (10 % výšky), vrcholu a konce (10 % výšky).

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

Karboxylované nanočástice magnetitu byly připraveny pomocí prekurzorové syntézy, v přítomnosti poly-akrylové kyseliny. Morfologie takto získaných částic byla ověřena pomocí Zero-Field ^{57}Fe Mössbauerovy spektroskopie, ze spektra bylo patrné, že magnetické částice jsou tvořeny nestechiometrickou formou magnetitu. Dále byla provedena analýza poměru mezi obalem částic a jádrem v připraveném materiálu, termogravimetrickou analýzou bylo zjištěno, že polymer zastupuje 7,4 % a magnetické jádro pak 92,6 % vzorku.

Jako pracovní elektrolyt byl po několika experimentech vybrán borát/NaOH, pH 9,5. Profil nanočástic byl při použití tohoto elektrolytu nejlépe reprodukovatelný. Poté byl studován vliv různé iontové síly (pracovního elektrolytu a také elektrolytu obsahujícím částice) a různé doby dávkování vzorku (5; 10; 20; 30 a 60 sekund) na velikost peaku studovaných nanočástic. Přehled iontových sil použitých elektrolytů viz Tab. I.

Studované karboxylované nanočástice magnetitu měly průměrný poloměr 88 nm a zeta-potenciál -43 mV v pracovním elektrolytu (borát/NaOH, pH 9,5 s iontovou silou 50 mM). Při iontové síle pracovního elektrolytu 5 mM pak byly naměřené hodnoty poloměru 73 nm a zeta-potenciálu -38 mV.

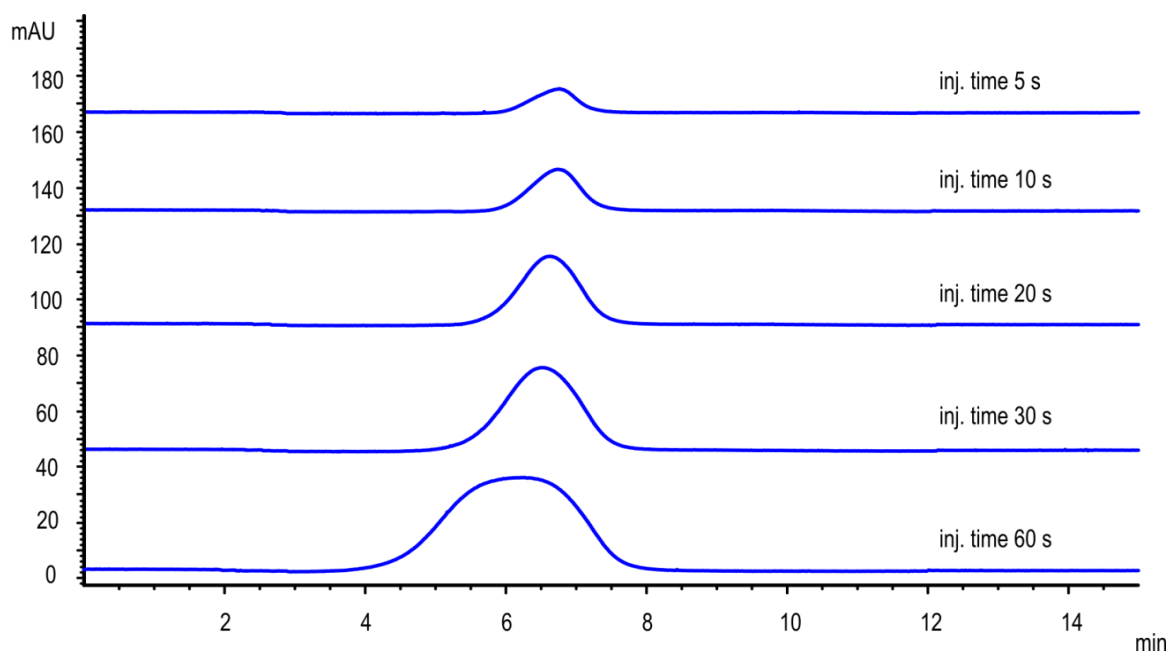
Tabulka I.: Použité elektrolyty pro aniontové částice

Pracovní elektrolyt	Vzorek
100 mM borát/NaOH pH 9,5	H ₂ O
	10 mM borát/NaOH pH 9,5
	100 mM borát/NaOH pH 9,5
50 mM borát/NaOH pH 9,5	H ₂ O
	5 mM borát/NaOH pH 9,5
	50 mM borát/NaOH pH 9,5
	100 mM borát/NaOH pH 9,5
25 mM borát/NaOH pH 9,5	H ₂ O
	25 mM borát/NaOH pH 9,5
	100 mM borát/NaOH pH 9,5
10 mM borát/NaOH pH 9,5	H ₂ O

	10 mM borát/NaOH pH 9,5
	100 mM borát/NaOH pH 9,5

5.1 Homogenní elektrické pole

Zabývali jsme se chováním nanočástic dávkovaných ve stejném elektrolytu jako byl pracovní elektrolyt. Na Obr. 11 je vidět analýza nanočástic dispergovaných v 50 mM borátu/NaOH pH 9,5 a následně dávkovaných do pracovního elektrolytu (rovněž 50 mM borát/NaOH, pH 9,5).



Obr. 11: Karboxylované MNPs dispergované v 50 mM borát/NaOH pH 9,5 dávkované do pracovního elektrolytu borát/NaOH pH 9,5⁵⁹

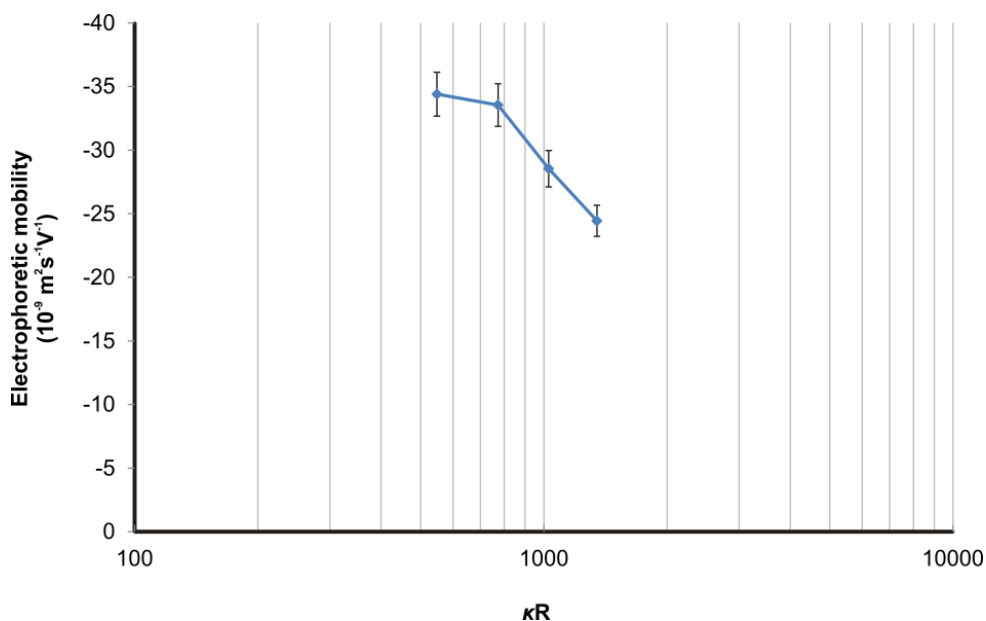
Ve všech studovaných případech (100 mM, 50 mM, 25 mM a 10 mM - Tab. II) došlo k lineárnímu zvýšení plochy peaku. Mobilita částic závisí na součinu κR (kde κ je tloušťka elektrické dvojvrstvy závislá na iontové síle elektrolytu, tedy čím vyšší iontová síla, tím bude vyšší hodnota κ , a R je poloměr částice).

Tabulka II: Lineární závislost plochy peaku na době dávkování vzorku pro použité elektrolyty

Pracovní elektrolyt	Vzorek	Rovnice závislosti plochy peaku (y) a doby dávkování vzorku (x)	R ²
100 mM	H ₂ O	$y = 20.766x + 949.64$	0.3834*
	10 mM	$y = 86.159x + 244.13$	0.9840*
	100 mM	$y = 108.2x - 35.473$	0.9999
50 mM	H ₂ O	$y = 18.601x + 596.63$	0.6177*
	5 mM	$y = 54.976x + 326.34$	0.9705*
	50 mM	$y = 73.269x + 36.454$	0.9999
	100 mM	$y = 74.663x - 56.497$	0.9984
25 mM	H ₂ O	$y = 17.732x + 726.09$	0.7905*
	25 mM	$y = 91.911x + 56.264$	0.9999
	100 mM	$y = 64.414x - 4.127$	0.9985
10 mM	H ₂ O	$y = 23.962x + 203.55$	0.9735*
	10 mM	$y = 42.302x + 13.536$	0.9999
	100 mM	$y = 31.142x - 32.17$	0.9788

*Linearita je porušena se zvyšující se dobou dávkování

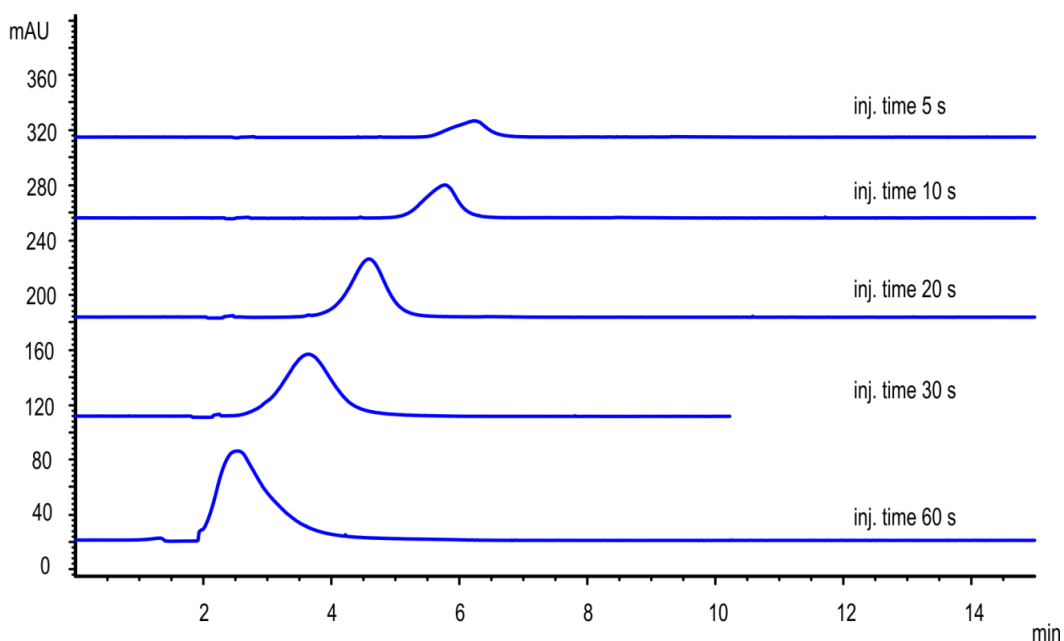
Na Obr. 12 je vidět závislost mobility na součinu κR , mobilita se snižuje se zvyšující se hodnotou κR . Z této závislosti můžeme odvodit, že mobilita částic bude záviset na iontové síle elektrolytu, jelikož poloměr částic se nemění, ale tloušťka elektrické dvojvrstvy κ ano. Předpokládáme tedy, že se zvyšující se iontovou silou dochází ke ztenčení elektrické dvojvrstvy a tím dochází ke snížení mobility (z $34 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ na $24 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$).



Obr. 12: Závislost elektroforetické mobility karboxylovaných MNPs na součinu κR ⁵⁹

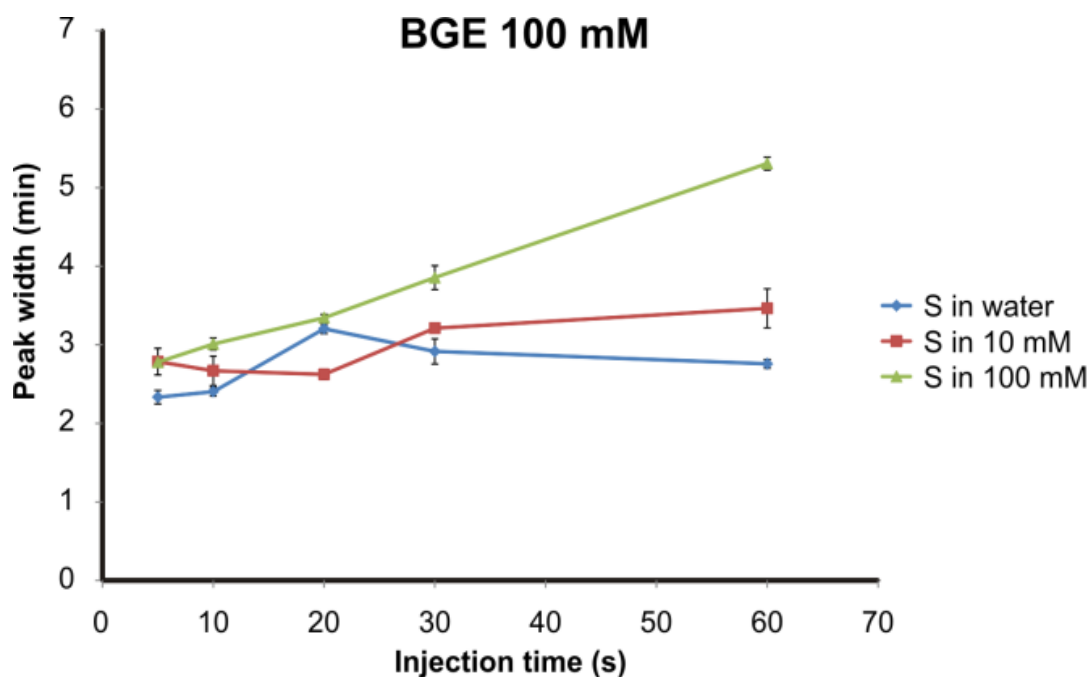
5.2 Stacking

Ke stackingu dochází v případě, kdy má zóna vzorku nižší vodivost než pracovní elektrolyt. V Tab. I. je uveden přehled použitých elektrolytů, ve kterých byly částice dispergovány a dávkovány. Na Obr. 13 jsou vidět profily zóny nanočástic za podmínek, při kterých dochází ke stackingu.



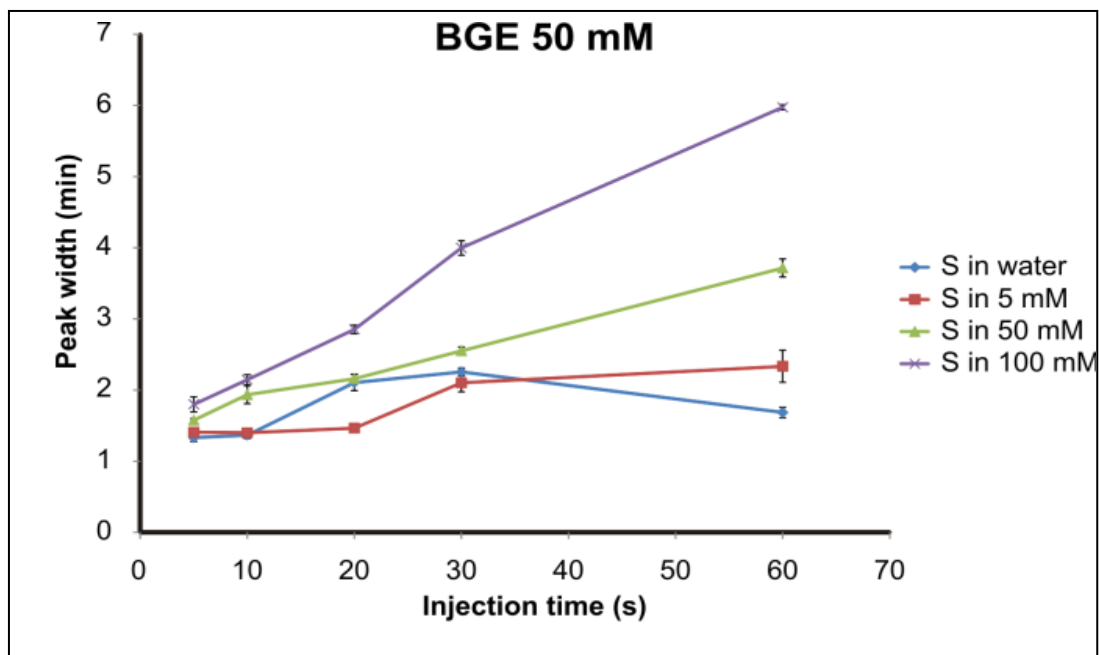
Obr. 13: Analýza karboxylovaných MNPs dispergovaných v 5 mM borát/NaOH pH 9,5 a dávkovaných do pracovního elektrolytu 50 mM borát/NaOH pH 9,5⁵⁹

Je patrná snižující se šířka peaku vlivem stackingu. Byla pozorována lineární závislost šířky peaku na době dávkování vzorku (Obr. 14 - 17). Zajímavá je prodleva v této závislosti, která může být způsobena snižující se šířkou elektrické dvojvrstvy a následnou restrukturalizací mezi částicemi, které jsou si pak blíží.



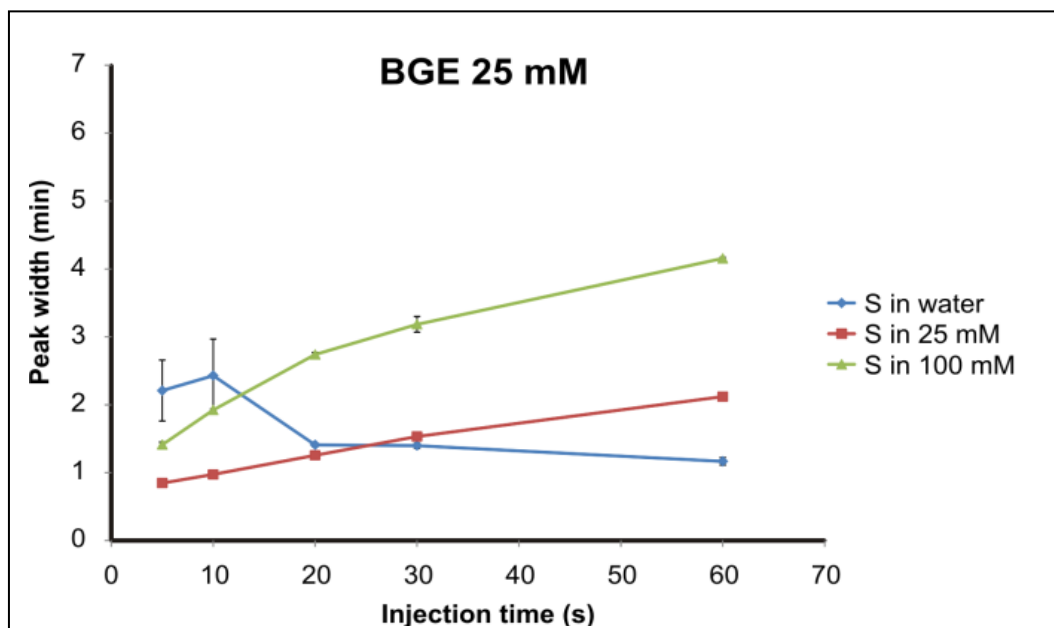
Obr. 14: Závislost šířky peaků na době dávkování karboxylovaných MNPs

Na Obr. 14 je vidět závislost šířky peaku nanočástic na době dávkování vzorku, měření byla provedena pro částice dispergované v prostředích s různou iontovou silou a stejně jako na Obr. 15, je vidět jak doba dávkování spolu s vyšší iontovou silou způsobuje značné rozšíření peaku, oproti tomu vzorek dispergovaný ve vodě, který byl dávkován do pracovního elektrolytu s iontovou silou 100 mM neprojevil tendenci k rozšíření.

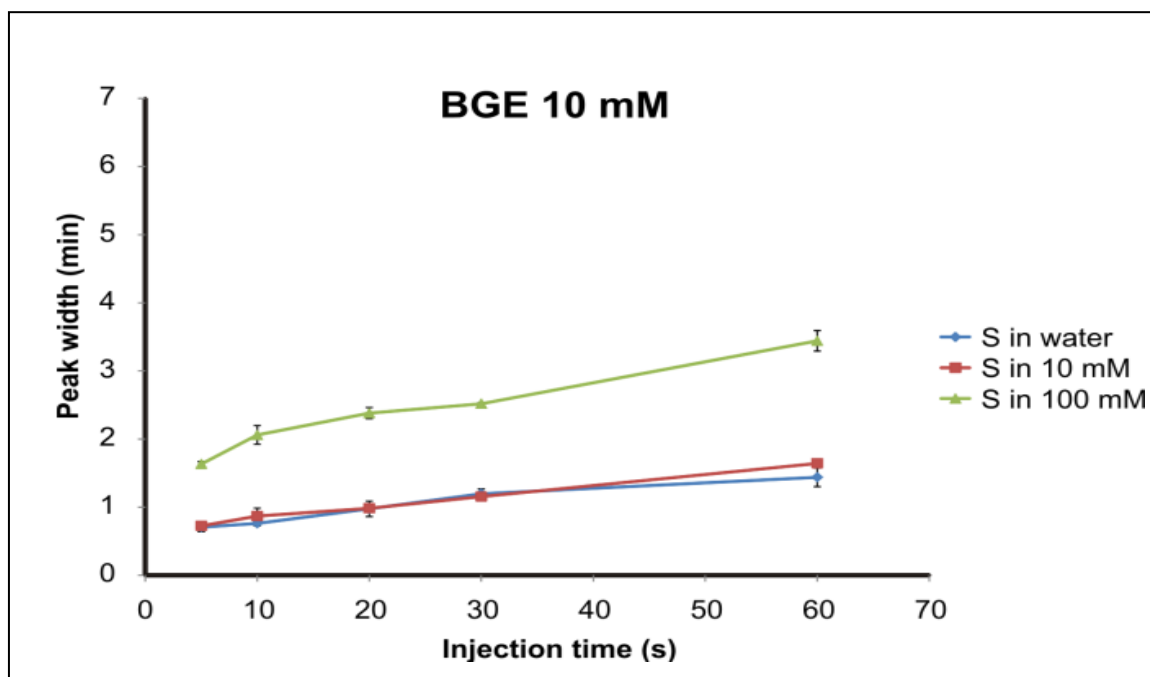


Obr. 15: Závislost šířky peaku na době dávková karboxylovaných MNPs

Dále je z Obr. 16 patrná přímá linearita spolu s dobou dávkování. V případě, kdy byl vzorek dispergován v prostředí totožném s BGE byla šířka peaku závislá pouze na době dávkování a neprojevíly se další efekty. Oproti tomu křivka vzorku dispergovaném ve vodě má klesající tendenci, tedy docházelo ke zúžení peaku oproti křivce, která znárodňuje vzorek dispergovaný v prostředí s vyšší iontovou silou.



Obr. 16: Závislost šířky peaku na době dovákování karboxylovaných MNPs

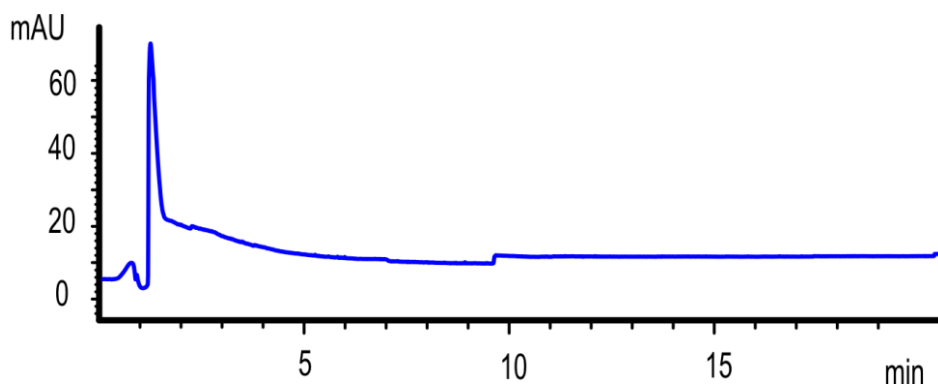


Obr. 17: Závislost šířky peaku na době dávkování karboxylovaných MNPs

S přibývajícím množstvím vzorku jsme pozorovali deformaci tvaru peaku (Obr. 11 - 60s). Mobilita částic na začátku peaku je téměř nulová ($-4,9 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$), mobilita na konci peaku je $-38 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$. Z tohoto chování usuzujeme, že při velkém množství dávkovaných částic dochází k jejich agregaci. Navíc je možná restrukturalizace částic mezi sebou, v důsledku zmenšující se elektrické dvojvrstvy jak bylo zmíněno v předchozí kapitole. Ztenčující se elektrická dvojvrstva pak vede ke snížení energetické bariéry, která brání agregaci (jak je popsáno v DLVO teorii). Předpokládáme-li, že celková energetická bariéra je dána součtem elektrostatických repulzí a Van der Walsových sil, pak ztenčující se elektrická dvojvrstva vede ke zmenšení elektrostatické repulze a tím i ke snížení energetické bariéry mezi částicemi.

Zajímavá byla změna při dávkování vzorku dispergovaném ve vodě (pH 7), což vedlo k vytvoření jednak gradientu pH, ale také rozhraní dvou zón s různými iontovými silami (zeta-potenciál karboxylovaných-MNPs je ve vodě -59 mV a v borátu pak -38 mV). V důsledku těchto vlivů jsou profily nanočástic velmi deformované a určení jejich mobility je zatíženo mnoha chybami.

Z výše uvedeného jsme předpokládali vznik agregátů nanočástic v důsledku velkého rozdílu vodivosti mezi zónou vzorku a pracovního elektrolytu. Tuto hypotézu jsme ověřili experimentem, kdy jsme částice dispergovali v borátu/NaOH s pH 9,5 a iontovou silou 5 mM a jako pracovní elektrolyt jsme použili borát/NaOH s pH 9,5 a iontovou silou 250 mM. Takto připravené podmínky opravdu způsobily agregaci (Obr. 18) a také viditelnou adsorbci na stěnách kapiláry a krátké široké profily částic. I v tomto případě byla vypočtená mobilita částic téměř nulová, což vedlo ke vzniku téměř nenabitých částic sorbujících se na stěnu kapiláry. Vysvětlení tohoto chování je jako v předchozím případě snížená energetická bariéra pro vznik agregátů, případně adsorbce na stěnách kapiláry.



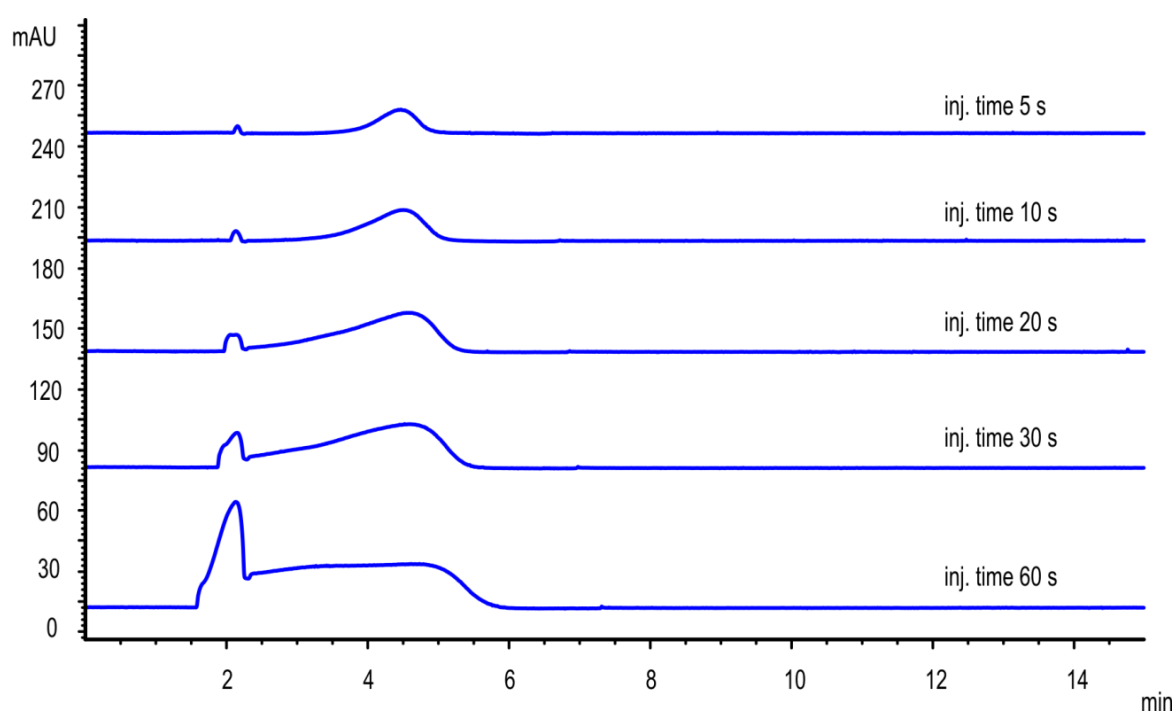
Obr. 18: Analýza karboxylovaných MNPs dispergovaných v 5 mM borát/NaOH pH 9,5 a dávkovaných do pracovního elektrolytu 250 mM borat/NaOH pH 9,5

Z uvedených experimentů jsou patrné dva typy chování analyzovaných nanočástic. Nanočástice mají tendenci k on-line prekoncentraci, kdy si zachovávají stabilní disperzi, ale vzdálenost mezi částicemi se zmenší (ztenčující se elektrická dvojvrstva) a způsobí tak zúžení peaku. Druhým typem je pak agregace, kdy se elektrická dvojvrstva ztenčí natolik, že se sníží energetická bariéra pro vznik agregátů. Dochází k restrukturalizaci zóny nanočástic a následné tvorbě agregátů. Z experimentů lze předpokládat vznik agregátů nejen v důsledku zón s velkým rozdílem vodivosti, ale také například při vzniku pH gradientu.

De-stacking

Po experimentech prokazujících efekt stackingu na zónu vzorku jsme se zabývali také vytvořením opačných podmínek. Použili jsme opět elektrolyty uvedené v Tab. I. Na Obr. 19

je vidět rozšíření peaku a jeho deformace. Vysvětlení těchto změn souvisí opět se ztenčující se elektrickou dvojvrstvou důsledkem zvyšující se iontové síly, částice mají sníženou mobilitu a zároveň dochází k jejich urychlení na hranici se zónou pracovního elektrolytu. Pozorovali jsme dva různé efekty, které ovlivnili tvar peaku. Prvním efektem byla deformace peaku v důsledku částic, které byly urychleny a pohybovaly se rychleji než ty částice, které si zachovaly původní, téměř nulovou hustotu povrchového náboje a nemohly být urychleny. Částice, které nemohly být urychleny, způsobily v peaku zvětšení části reprezentující nízkou mobilitu.



Obr. 19: Analýza karboxylovaných MNPs dispergovaných v 100 mM borát/NaOH pH 9,5 a dávkovaných do pracovního elektrolytu 25 mM borát/NaOH pH 9,5⁵⁹

5.3 Kationtové částice

Po experimentech se záporně nabitými částicemi, které byly popsány v předchozích kapitolách, byly stejným způsobem analyzovány také kladně nabitě částice. Syntéza těchto nanočástic je popsána v práci Massart⁶⁰ a d'Orlye⁶¹. Magnetické částice byly tentokrát funkcionalizovány amino skupinou.

Nejdříve bylo opět nutné najít vhodný pracovní elektrolyt, který bude poskytovat nejlépe reprodukovatelný profil zóny nanočástic. Po několika experimentech byl zvolen MOPS/NaOH pH 7,5. Dále bylo nutné zvolit vhodné pokrytí kapiláry, a promytí před samotnou analýzou. Kapilára byla pokryta DDAB a promytí bylo zvoleno podle práce Petr⁶².

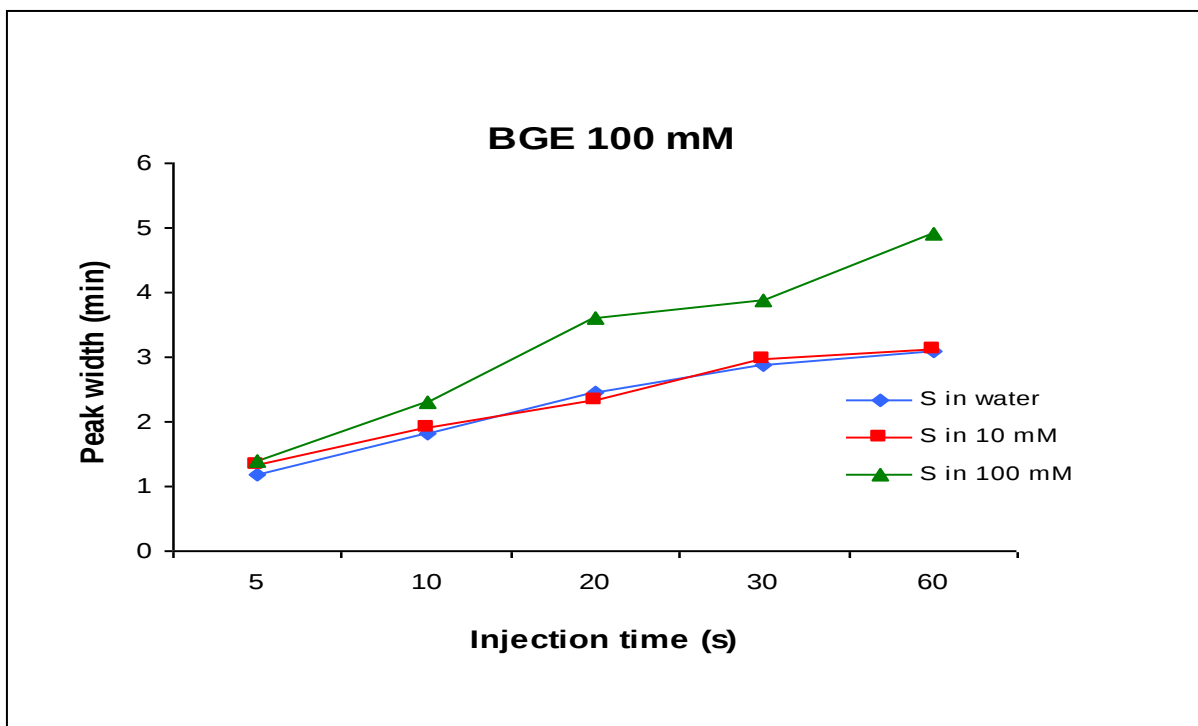
Následné experimenty byly stejně jako u aniontových nanočástic zaměřeny na prostředí s různou iontovou silou, viz Tab. III, a také na různou dobu dávkování vzorku.

Tabulka III: Použité elektrolyty pro kationtové částice

Pracovní elektrolyt	Vzorek
100 mM MOPS/NaOH pH 7,5	H ₂ O
	10 mM MOPS/NaOH pH 7,5
	100 mM MOPS/NaOH pH 7,5
50 mM MOPS/NaOH pH 7,5	H ₂ O
	5 mM MOPS/NaOH pH 7,5
	50 mM MOPS/NaOH pH 7,5
	100 mM MOPS/NaOH pH 7,5
25 mM MOPS/NaOH pH 7,5	H ₂ O
	25 mM MOPS/NaOH pH 7,5
	100 mM MOPS/NaOH pH 7,5
10 mM MOPS/NaOH pH 7,5	H ₂ O
	10 mM MOPS/NaOH pH 7,5
	100 mM MOPS/NaOH pH 7,5

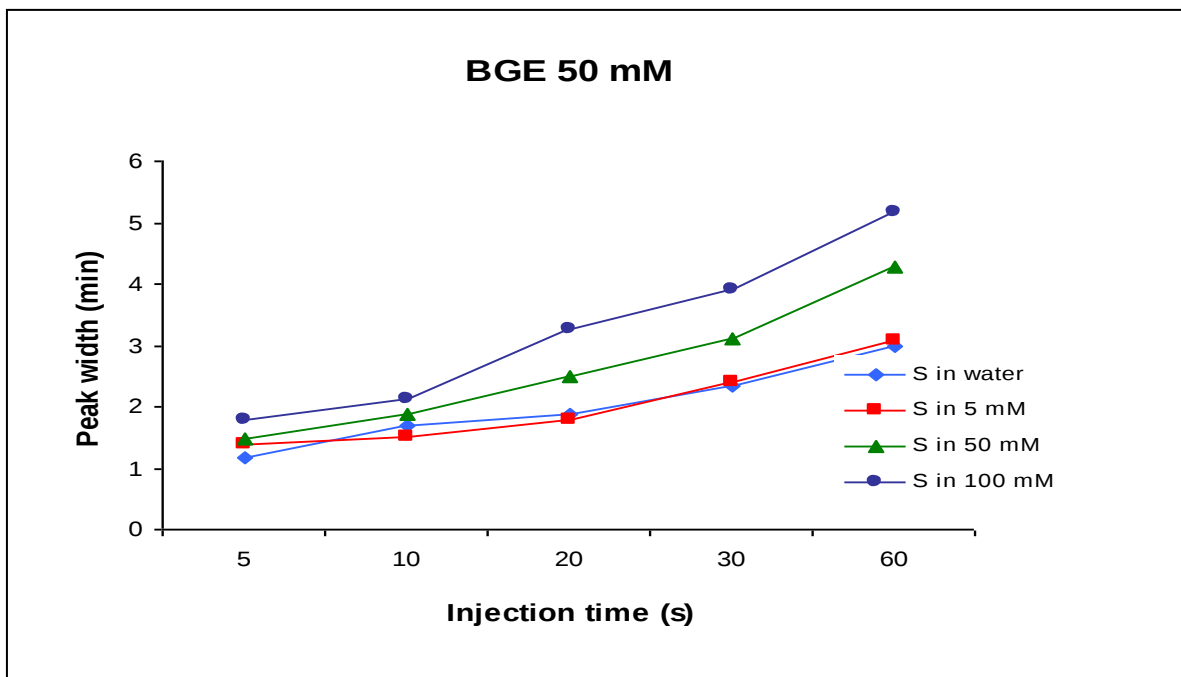
Výsledky provedených analýz vykazovaly totožné trendy jako aniontové nanočástice. Byla pozorována jasná tendence k prekoncentraci na rozhraní zón s různou iontovou silou až následná agregace. Pro srovnání jsou uvedeny na Obr. 20 – 23 šířky peaků zóny nanočástic.

Na Obr. 20 je patrné, že při dávkování vzorku dispergovaném v prostředí s nízkou iontovou silou se křivky příliš neliší, avšak vyšší iontová síla vykazuje drobnou nelinearitu.

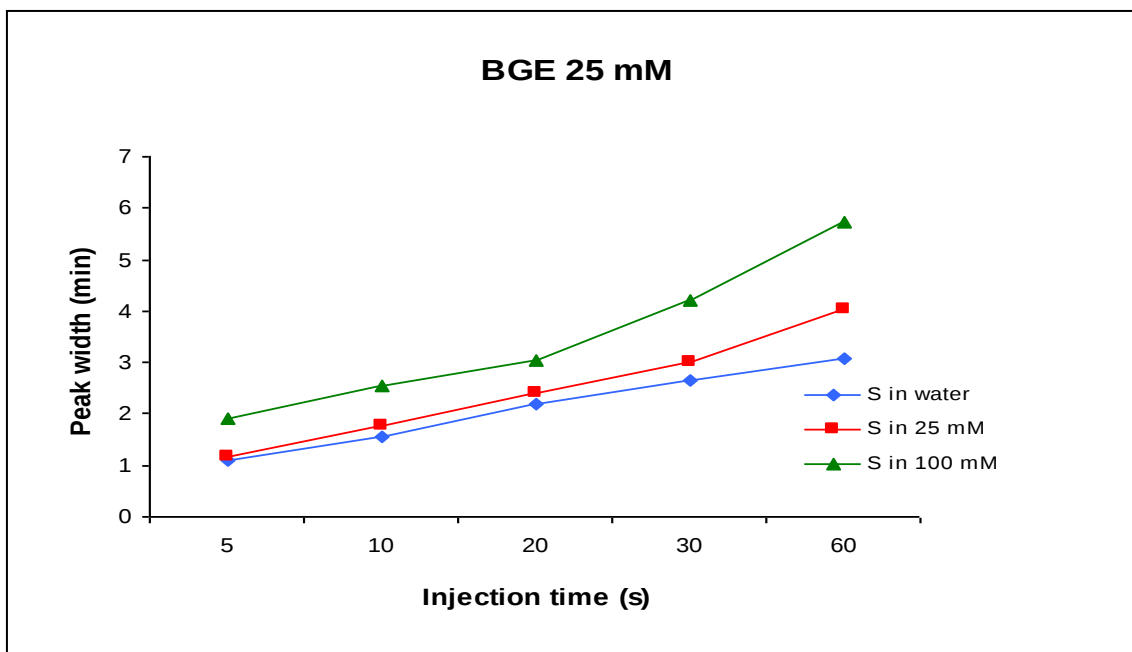


Obr. 20: Závislost šířky peaku na době dávkování pro aniontové MNPs

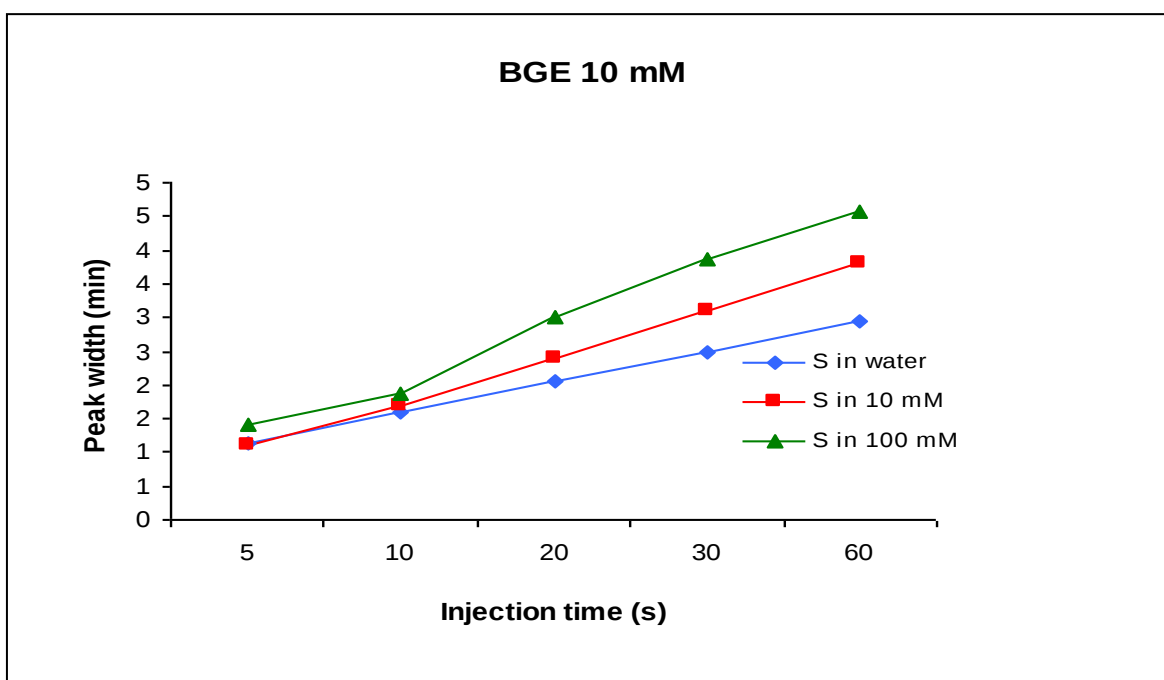
Na Obr. 21 je vidět mírná prodleva v lineární závislosti a to pro křivku znázorňující vzorek dispergovaný ve vodě. Stejný jev je vidět i na závislostech z Obr. 14 a Obr. 15, které rovněž zobrazují závislosti pro pracovní elektrolyt s iontovou silou 50 mM a 100 mM.



Obr. 21: Závislost šířky peaku na době dávkování pro aniontové MNPs



Obr. 22: Závislost šířky peaku na době dávkování pro aniontové MNPs



Obr. 23: Závislost šířky peaku na době dávkování pro aniontové MNPs

Z uvedených dat je patrná silná podobnost s předchozí analýzou karboxylovaných MNPs. Efekt prekoncentrace byl prokázán u obou typů analyzovaných nanočástic a tím byl dokázán jasný trend chování v podmínkách s různou intovou silou.

6. ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala obecným popisem chování karboxylovaných magnetitových nanočástic v kapilární elektroforéze, na rozhraní dvou zón s různou specifickou konduktivitou. Bylo pozorováno zúžení tvaru peaku ale také rozšíření, a to v závislosti na rozdílu specifických konduktivit stýkajících se zón elektrolytů. Zužování peaku bylo způsobeno dvěma jevy, jednak k němu docházelo při zakoncentrování částic na rozhraní zón vzorku a pracovního elektrolytu, docházelo tedy k on-line prekoncentraci a částice si zachovaly stabilní disperzi. Ve druhém případě bylo zúžení způsobeno vznikem agregátů v důsledku snížení energetické bariéry pro jejich vznik (příčinou byla pravděpodobně ztenčená elektrická dvojvrstva a tím snížená elektrostatická repulze mezi částicemi).

Provedené experimenty byly zopakovány pro kationtové nanočástice, které byly funkcionalizovány amino skupinou. Výsledky byly prakticky shodné s pozorovaným chováním u karboxylovaných nanočástic a potvrdily tak obecný trend chování nanočástic v prostředích s různou iontovou silou.

Tato práce upozorňuje na možné kapilární efekty, které způsobují deformaci tvaru peaku při analýze nanočástic. Je třeba tyto jevy blíže prozkoumat, abychom je mohli zahrnout, případně eliminovat při dalších analýzách. Kapilární elektroforéza je slibnou technikou pro analýzu například mezičásticových interakcí, avšak jestliže při této či jiné analýze dojde ke stackingu, její výsledky budou zkreslené a nepřesné.

7. POUŽITÁ LITERATURA

1. Ch. P. Poole, F.J. Owens: *Introduction to Nanotechnology*. Wiley-VCh, New Jersey, 2003.
2. <http://fyzmatik.pise.cz/1436-lykurgovy-pohary.html> (staženo 10.3. 2014)
3. P. Řezanka, K. Záruba, V. Král: *Chemické Listy* **101**, 881 – 885 (2007).
4. R. P. Feynman: *There's Plenty of Room at the Bottom*. Engineering and Science magazine, vol. XXIII, no. 5 (1960).
5. N. Taniguchi: *On the Basic Concept of 'Nano-Technology*. Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Japan Society of Precision Engineering, Part II (1974).
6. P.S. Antón, R. Silberglitt, J. Schneider: *The Global Technology Revolution*. National Defense Research Institute, Arlington VA, (2001).
7. V. E. Borisenko, S. Ossicini: *What is What in the Nanoworld. A Handbook of Nanoscience and Nanotechnology*. Wiley-VCh, Weinheim, 2004.
8. E. L. Wolf: *Nanophysics and Nanotechnology. An Introduction to Modern Concepts in Nanoscience*. Wiley-VCh Weinheim, 2004.
9. P. Sonström, M. Bäumer: *Physical Chemistry Chemical Physics* **13**, 19270 – 19284 (2011).
10. G. Schmid (ed): *Nanoparticles, from Theory to Application*. Wiley-VCh, Wenheim, 2004.
11. L.M. Liz-Marzán, P.V. Kamat (eds): *Nanoscale Materials*. Kluwer Academic Publishers, Boston, 2002.
12. J.E. Greedon,: *Magnetic oxides in Encyclopedia of Inorganic chemistry*. Ed. R. Bruce King, John Wiley & Sons, 1994.
13. <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/bacteria-that-synthesize-nano-sized-compasses-to-15669190> (staženo 12. 4. 2014).
14. S.-J. Lee, J.-R. Jeong, S.-C. Shin, J.-C. Kim, J.-D. Kim: *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **282**, 147-150 (2004).

15. V. Pillai, P. Kumar, M.J. Hou, P. Ayyub, D.O. Shah: *Advances in Colloid and Interface Science* **55**, 241-269 (1995).
16. R. Zboril, M. Mashlan, D. Petridis: *Chem. Mater.* **14**, 969-982 (2002).
17. R. Zboril, M. Mashlan, K. Barcova, M. Vujtek: *Hyperfine Interact.* **139**, 597-606 (2002).
18. M. Hermanek, R. Zboril, M. Mashlan, L. Machala, O. Schneeweiss: *Journal of Mater. Chem.* **32**, 124 – 136 (2006).
19. R. Zboril, L. Machala, M. Mashlan, V. Sharma: *Crystal Growth & Design* **4**, 1317 – 1325 (2004).
20. European Patent Register:
<https://register.epo.org/application?number=EP08734299&tab=main>
21. H.-P. Shao, H.-S. Lee, Y.-J. Suh, J.-H. Kim, Y. Li, Ch.-O. Kim: *Journal of Iron and Steel Research* **13**, Supplement 1, 205–208 (2006).
22. S. Veintemilas-Verdaguer, M. P. Morales, C. J. Serna: *Materials letters* **35**, 227-231 (1998).
23. Pacific Northwest National Laboratory: www.pnnl.gov (staženo 5. 2. 2014).
24. J. K. Lim, S. A. Majetich, R. D. Tilton: *American Chemical Society/Langmuir Article* **23**, 13384 – 13393 (2009).
25. <http://ksicht.natur.cuni.cz> (staženo 1. 2. 2014.).
26. European Patent Register: <https://register.epo.org/application?number=EP11781997>
27. M. Pupeza, M. Cernik, M. Greco: *NATO Science Series* **75**, Part 3, 111-118 (2007).
28. S. M. Ponder, J. G. Darab, and, T. E. Mallouk: *Environmental Science & Technology* **34**, 2564-2569 (2000).
29. S. Klimkova, M. Cernik, L. Lacinova, J. Filip, D. Jancik, R. Zboril: *Chemosphere* **82**, 1178 – 1184 (2011).

30. F. M. Koehler, M. Rossier, M. Waelle, E. K. Athanassiou, L. K. Limbach, R. N. Grass, D. Günther, W. J. Stark: *Chemical Communications* **32**, 4862 – 4864 (2009).
31. E. Petala, K. Dimos, A. Douvalis, T. Bakas, J. Tucek, R. Zboril, M. A. Karakassides: *Journal of Hazardous Materials* **261**, 295 – 306 (2013).
32. R. Pucek, J. Tucek, M. Kilianova, A. Panacek, L. Kvitek, J. Filip, M. Kolar, K. Tomankova, R. Zboril: *Biomaterials* **32**, 4704 – 4713 (2011).
33. R. Zboril, M. Anderle, F. Opustil, L. Machala, J. Tucek, J. Filip, Z. Marusak, V. K. Sharma: *Journal of Hazardous Materials* **211**, 126 – 130 (2012).
34. M. Kilianova, R. Pucek, J. Filip, J. Kolarik, L. Kvitek, A. Panacek, J. Tucek, R. Zboril: *Chemosphere* **93**, 2690-2697 (2013).
35. R. Pucek, M Hermanek, R Zboril: *Applied Catalysis A: General* **366**, 325 – 332 (2009)
36. L. Smolakova, T. Grygar, L. Capek, O. Schneeweiss, R. Zboril: *Journal of Electroanalytical Chemistry* **647**, 8-19 (2010).
37. European Patent Register: <https://register.epo.org/application?number=EP08700836>
38. K. Kluchova, R. Zboril, J. Tucek, M. Pecova, L. Zajoncova, I. Safarik, M. Mashlan, I. Markova, D. Jancik, M. Sebel, H. Bartonkova, V. Belles, P. Novak, D. Petridis: *Biomaterials* **30**, 2855 – 2863 (2009).
39. H. B. Na, I. C. Song, T. Hyeon: *Advanced Materials* **21**, 2133–2148 (2009).
40. J. Van der Zee: *Annals of Oncology* **13**, 1173–1184 (2002).
41. R. Hergt et al: *Journal of Phys.: Condens. Matter* **18**, 2919 (2006).
42. Q. A. Pankhurst et al: *Journal of Physics D: Appl. Phys.* **36**, 167 - 175 (2003).
43. http://www.medscape.com/viewarticle/712338_1 (staženo 13. 4. 2014).
44. J. Pazourek: *Moderní elektroforetické analytické metody*, Karolinum, Praha 2003.

45. K. Stulík a kol.: *Analytické separační metody*, Karolinum, Praha 2004.
46. H. H. Lauer, G. P. Rozing: *High Performance Capillary Electrophoresis, A Primer*. Agilent Technologies, Germany 2009.
47. J. P. Landers: *Handbook of capillary and microchip electrophoresis and associated microtechniques*. CRC Press, 2008.
48. <http://knihy.pavko.cz/index/moderni-analyticke-metody> (staženo: 14.4. 2014).
49. K. Scida, P.W. Stege, G. Haby, G. A. Messina, C. D. García: *Analytica Chimica Acta* **691**, 6-17 (2011).
50. L. M. Ravelo-Perez, A. V. Herrera-Herrera, J. Hernandez-Borges, M. A. Rodriguez-Delgado: *Journal of Chromatography A* **1217**, 2618 – 2641 (2010).
51. S. Perez, M. la Farre, D. Barcelo: *Trends in Analytical Chemistry* **28**, 820-893 (2009).
52. A. I. Lopez-Lorente, B. M. Simonet, M. Valcarcel: *Trends in Analytical Chemistry* **30**, 58-72 (2011).
53. P. S. Fedorov, N. G. Vanifatorova, V. M. Shkinev, B. Y. Spivakov: *Anal Bioanal Chem.* **400**, 1787 – 1804 (2011).
54. F.-K. Liu: *Analytica Chimica Acta* **694**, 167-173 (2011).
55. K.-H. Lin, T.-Ch. Chu, F.-K. Liu: *Journal of Chromatography A* **1161**, 314 – 321 (2007).
56. F.-K. Liu: *Analytical Science* **26**, 1145-1151 (2010).
57. A. Bakandritsos, G. Mattheolabakis, G. Chatzikyriakos, T. Szabo, V. Tzitzios, D. Kouzoudis, S. Couris, K. Avgoustakis: *Adv. Funct. Mater.* **21**, 1465-1475 (2011).
58. S.P. Radko, M. Stastna, A. Chrambach: *Electrophoresis* **21**, 3583-3592 (2000).
59. J. Petr, P. Dolanska, Z. Markova, E. Pospisilova, R. Knob, R. Zboril: *Journal of Chromatography A*, submitted (2014).

60. R. Massart, E. Dubios, V. Cabuil, E. Hasmenay: *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **149**, 1-5 (1995).
61. F. d'Orlye, A. Varenne, T. Goergelin, J.-M. Siangue, B. Teste, S. Descroix, P. Gareil: *Electrophoresis* **30**, 2572 – 2582 (2009).
62. J. Petr, B. Teste, S. Descroix, J.-M. Siangue, P. Gareil, A. Varenne: *Electrophoresis* **31**, 2754 – 2761 (2010).

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BGE – Back Ground Elektrolyte
CE – Capillary Electrophoresis
CEC – Capillary ElectroChromatography
CIEF – Cappilary IsoElectric Focusing
CGE – Capillary Gel Electrophoresis
CITP – Capillary IsoTachoPhoresis
CZE – Capillary Zone Electrophoresis
DAD – Diode Array Detektor
DDAB – DodecylDimethylAmmonium Bromide
DLS – Dynamic Light Scattering
EOF – ElectroOsmotic Flow
FASI – Field Amplified Sample Injection
FASS – Field Amplified Sample Stacking
HPCE – High Performance Capillary Electrophoresis
MEKC – Micellar ElecktroKinetic Chromatography
MNPs – Magnetic NanoParticles
MOPS – 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid
MRI – Magnetic Resonance Imaging
PEG – PolyEthylen Glykol
REPSM – Reversed Electrode Polarity Stacking Mode
SDS – Sodium Dodecyl Sulfate
SERS – Surface-Enhanced Raman Spectroscopy
SPE – Solid Phase Extraction
STM – Scanning Tunneling Microscopy
TEM – Tansmission Electron Microscopy