

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

VÝVOJ A TESTOVÁNÍ MATERIÁLŮ
NA BÁZI ORGANICKÝCH VODIVÝCH
POLYMERŮ PRO PREKONCENTRACE ANALYTŮ
V GC ANALÝZÁCH

DEVELOPMENT AND TESTING
OF ORGANIC CONDUCTING POLYMERIC
MATERIALS APPLICABLE FOR ANALYTE
PRECONCENTRATION FOR GC
ANALYSES

Diplomová práce
studijního programu Klinická a toxikologická analýza

Praha 2009

Miroslava Bursová

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Radomíra Čabaly, Dr. a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 4. května 2009.

.....
podpis

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala mému školiteli, RNDr. Radomíru Čabalovi, Dr. za odborné vedení během měření a velkou pomoc a trpělivost při zpracování této diplomové práce. Rovněž bych ráda poděkovala panu Rumpíkovi za technickou pomoc při výrobě SPME vláken. Můj dík patří také panu prof. RNDr. Františku Opekarovi, CSc. za pořízení mikrofotografií.

Ráda bych poděkovala mé rodině za podporu během studia.

Předmětová hesla

Mikroextrakce na pevné fázi (SPME)

Elektropolymerizace

Plynová chromatografie

Klíčová slova

Polypyrol

BTEX (benzen, toluen, ethylbenzen, xyleny)

Tetrasulfonované ftalocyaniny kovů

Dodecylsulfát sodný (SDS)

Dodecylbenzensulfonát sodný (SDBS)

Obsah

1.	Úvod	9
2.	Teoretická část	10
2.1	Organické vodivé polymery.....	10
2.1.1	Polypyrol.....	10
2.1.1.1	Struktura PPy.....	11
2.1.1.2	Příprava polypyrolu.....	11
2.1.1.3	Redukce PPy.....	13
2.1.2	Doping vodivých polymerů.....	14
2.1.2.1	Typy dopantů.....	14
2.1.2.2	Aniontové tenzidy.....	15
2.1.2.3	Komplexy ftalocyaninů s kovy.....	16
2.2.	Prekoncentrace.....	17
2.2.1	SPME.....	18
2.2.2	SPME vlákno.....	19
2.2.3	Principy mikroextrakce na pevné fázi.....	20
2.2.3.1	Extrakční módy.....	21
2.2.3.2	Optimalizace SPME.....	21
2.2.4	Druhy fází používaných pro SPME.....	23
2.2.5	Využití SPME.....	23
2.3	Spojení vodivých polymerů a SPME.....	24
2.4	Cíle diplomové práce.....	27
3.	Experimentální část	28
3.1	Použité chemikálie.....	28
3.2	Použité přístroje.....	28
3.3	Příprava zásobního roztoku.....	30
3.4	Příprava polypyrolového filmu.....	31

3.5	Kondicionace vlákna.....	32
3.6	Headspace vzorkování.....	33
3.7.	Experimentální podmínky GC analýzy.....	33
3.8.	Čištění elektrod.....	33
4.	Výsledky a diskuse	35
4.1	Elektrochemická příprava vlákna.....	35
4.1.1	Materiál pracovní elektrody a jeho čištění.....	35
4.1.2	Srovnání elektropolymerizace polypyrolu s různými protiionty	37
4.2	Separace BTEX.....	38
4.3.	Mikroextrakce pevnou fází s využitím PPy-CuPcTS.....	40
4.4	Dodecylsulfát sodný a dodecylbenzensulfonát sodný.....	42
4.5	Optimalizace SPME.....	46
4.5.1	Vliv času elektropolymerizace.....	46
4.5.2	Vliv času headspace extrakce.....	47
4.5.3	Vliv vysolování.....	48
4.5.4	Vliv míchání vzorku.....	50
4.6	Redukované PPy-DBS s nižší koncentrací BTEX.....	50
5.	Závěr	52
6.	Seznam použité literatury	54

Seznam zkratk a symbolů

a.u.	arbitrární jednotka signálu (arbitrary unit)
B	benzen
c	molární koncentrace (mol dm^{-3})
C_0	počáteční koncentrace analytu ve vzorku
CAR	Carboxen
CMC	kritická micelární koncentrace (mol dm^{-3})
CoPcTS	tetrasulfonovaný ftalocyanin kobaltnatý
CuPcTS	tetrasulfonovaný ftalocyanin měďnatý
CW	Carbowax
DBS	dodecylbenzensulfonátový aniont
DS	dodecylsulfátový aniont
DVB	divinylbenzen
E	ethylbenzen
FID	plamenově ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HS	headspace
ID	vnitřní průměr
K_{fs}	distribuční konstanta analytu mezi vrstvou / vzorkem
LLE	extrakce kapaliny kapalinou
LOD	limit detekce
LOQ	limit
MS	hmotnostní detekce
n	látkové množství (mol)
NiPcTS	tetrasulfonovaný ftalocyanin nikelnatý
NPD	dusíko-fosforový detektor
PA	polyakrylát
PDMS	polydimethylsiloxan
PPy	polypyrol
Py	pyrol
rpm	počet otáček za minutu

S	signál
SCE	nasyčená kalomelová elektroda
SDBS	dodecylbenzensulfonát sodný
SDS	dodecylsulfát sodný
SPE	extrakce tuhou fází
SPME	mikroextrakce na pevné fázi
T	toluen
t	teplota (°C)
t	čas (s, min)
TBAP	tetrabutylamonium chlorid
U	napětí (V)
V_f	objem extrakční fáze
V_s	objem vzorku
X	xylen

1. Úvod

Životní prostředí je denně zatěžováno zvyšujícími se koncentracemi organických látek, které negativně působí na zdraví člověka. Analýza škodlivých sloučenin v životním prostředí se tedy stává v posledních letech velice důležitou oblastí vědeckého výzkumu. Z tohoto důvodu jsou vyvíjeny jednoduché, účinné a pokud možno i levné analytické metody. Tyto metody mají ale často několik omezení, např. používání toxických rozpouštědel a časovou náročnost. Výzkumníci se tedy zaměřili na jiné techniky. Jednou z nich se stala prekoncentrační metoda s názvem mikroextrakce na pevné fázi (SPME).

Předností SPME je, že v jednom kroku spojuje extrakci a zakoncentrování analytů na stacionární fázi vlákna, s jeho následným přenosem do analytického přístroje, kde dochází k jejich tepelné desorpci a analýze.

Většina rutinních analýz se provádí na komerčních vláknech, která jsou poměrně křehká a opakovaným používáním se snižuje jejich extrakční účinnost. Proto se začala zkoumat vlákna z pevnějších materiálů s delší životností a nízkou cenou. Jako extrakční fáze byly studovány různé typy sloučenin, z nichž zajímavé vlastnosti prokázaly vodivé polymery. Byly vybrány pro své multifunkční schopnosti a jejich jednoduchou přípravu.

Mezi vodivými polymery se řadí na přední místo polypyrol (PPy), o jehož chování a vlastnostech existuje několik tisíc studií. PPy filmy je možné vytvářet na povrchy různých vláken z organických či vodných roztoků chemickými nebo elektrochemickými metodami.

2. Teoretická část

2.1 Organické vodivé polymery

Organické vodivé polymery jsou elektrochemicky aktivní látky a pro své polovodičové vlastnosti mají velké využití v mnoha technických odvětvích. Vodivé polymery mají, na rozdíl od ostatních polymerů, vlastní elektrickou vodivost.

Slouží jako elektrody, diody, elektrické vodiče a jsou používány při výrobě počítačů, monočlánků a akustických přístrojů apod.^{1,2} S vodivými materiály se setkáváme i v chemických oborech, kde se uplatňují jako elektrochemické^{3,4} nebo optické⁵ sensory. Za výzkum v oblasti vodivých polymerů byla dokonce r. 2000 udělena H. Širakawovi, A. J. Heegerovi a A. G. MacDiarmidovi Nobelova cena za chemii.

Základním znakem struktury těchto polymerů je střídání jednoduchých a dvojných vazeb v řetězci (konjugace), tj. že všechny obsahují delokalizovaný π -elektronový systém. Kromě konjugace je dalším faktorem ovlivňující vodivost přítomnost nositelů náboje, které zprostředkovávají jeho transport po řetězci. Ty vznikají procesem, který je nazýván dopováním, ale oproti dopování anorganických polovodičů, je třeba pro polymery větší koncentrace dopujících látek.⁶

Vodivé polymery lze rozdělit do dvou hlavních skupin podle jejich základního energetického stavu na degenerované a nedegenerované. Do první skupiny lze zařadit polyacetylen. V druhé skupině jsou zastoupeny polyanilin, polypyrol a polythiofen.⁷

Výše uvedené polymery přitahují značnou pozornost z důvodu jejich schopnosti reverzibilně přecházet mezi kladně nabitým oxidovaným stavem a neutrálně nevodivou formou.⁸

Zmíněné sloučeniny se řadí mezi makromolekulární kationty. Během polymerizace, kdy se z monomeru tvoří film, do sebe zabudovávají anionty sloužící jako protiionty (dopanty). Tyto dopanty jsou potřebné k udržení elektroneutality polymerního materiálu.^{9,10}

Za jeden z nejvíce studovaných organických polymerů je považován polypyrol, kterému je věnována další část kapitoly.

2.1.1 Polypyrol

Základní stavební jednotkou polypyrolu je pyrol, což je heterocyklická aromatická sloučenina obsahující ve svém řetězci atom dusíku. Pyrol je bezbarvá kapalina, málo rozpustná ve vodě, která je základem mnoha přírodních biologicky významných sloučenin

(tetrapyrolová barviva). Struktura pyrolu se nachází na obr. (1.a) a jeho základní charakteristika je uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1. Základní charakteristika pyrolu

Název	CAS	Molární hmotnost (g mol ⁻¹)	Hustota (g cm ⁻³)	Teplota varu (°C)
pyrol	109-97-7	67,09	0,967	129 - 131

Polypyrol (PPy) je znám již od r. 1887, ale teprve r. 1916 byl polypyrol připraven jako černá nerozpustná usazenina z kyselého roztoku obsahujícího pyrol a peroxid vodíku.¹¹ První úspěšná elektrochemická polymerizace byla provedena až r. 1979 Diazem, který připravil černou kovově lesklou vrstvu polypyrolu na platinovou elektrodu při hledání materiálů pro organické elektrody.¹²

Tím vzrostl zájem o polypyrol jako o polovodičový materiál, který má nízkou hustotu, redoxní aktivitu a dobré mechanické vlastnosti. Tyto poznatky odstartovaly nebývalý zájem odborníků a podnítily vývoj nových výrobních technologií.

2.1.1.1 Struktura PPy

Neutrální (nedopovaný) polypyrolový řetězec obsahuje pyrolové jednotky spojené v polohách 2 a 5 a má dvě rezonanční struktury: aromatickou a chinoidní. Tyto stavy jsou energeticky rozdílné, a proto se polypyrol vyskytuje v nedegenerovaném základním stavu. Chinoidní struktura má energii o 0,4 eV na monomer vyšší než aromatická forma, a její výskyt je tedy méně pravděpodobný.⁷

Ve vodivém stavu může PPy obsahovat ve svém řetězci dva elektronické stavy, a to kation radikál a dikation. Kation radikálový stav je charakterizován přítomností kladného náboje a jednoho nepárového elektronu, které jsou od sebe odděleny třemi až čtyřmi pyrolovými jednotkami. V dikationtovém stavu je nepárový elektron odstraněn a vzniká druhý kladný náboj.¹⁰

2.1.1.2 Příprava polypyrolu

PPy může být připraven z pyrolu v různých formách, které závisí na použitých metodách a hlavně na podmínkách přípravy. Mezi dvě základní metody patří chemická a elektrochemická syntéza (elektropolymerizace).

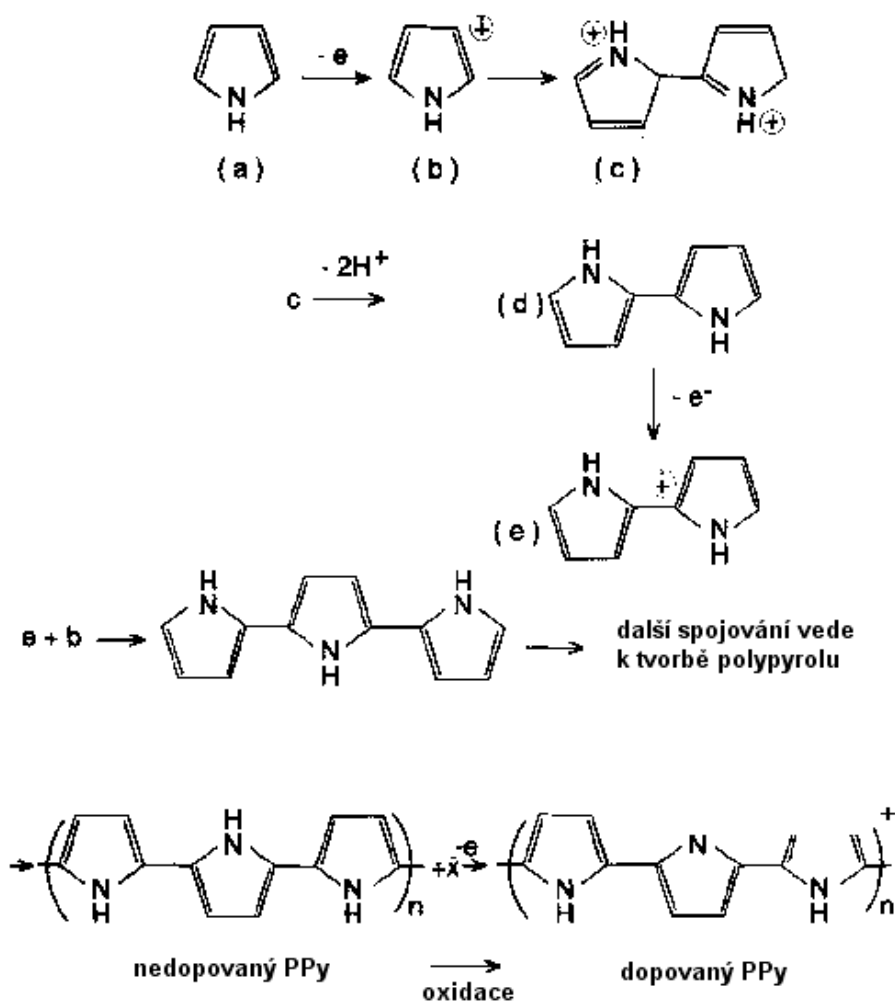
Chemická syntéza je založena na chemické oxidaci pyrolového monomeru. Oxidace může být provedena v plynném nebo v kapalném prostředí. Tato metoda je velmi jednoduchá a je schopná produkovat polymery ve velkých objemech, ale je omezena použitými oxidujícími látkami a reakčními podmínkami.⁷

Elektrochemická syntéza (elektropolymerizace) je vhodnější metodou pro přípravu PPy vrstvy, protože lze snadno kontrolovat proud, potenciál a čas.¹³

Elektropolymerizace je založena na anodické oxidaci monomeru pyrolu na pracovní elektrodě. Prvním krokem je oxidace monomeru na jeho kation radikál (obr. 1.a). Následuje spojení dvou kation radikálů na dihydrodimer dikation (obr. 1.c). Takto vytvořený dimer ztrácí dva protony a zároveň proběhne jeho rearomatizace. Tento dimer, jenž má nižší oxidační potenciál než monomer, podstupuje další spojování s monomerním radikálem. Řídícím krokem polymerizace je pomalá dimerizace kation radikálů. Následně dochází k elektrochemickým a chemickým změnám, při kterých se vytvoří oligomer, jenž se stane nerozpustným v elektrolytu a je adsorbován na povrchu pracovní elektrody. Růst řetězce je ukončen tehdy, když se kation radikál rostoucího řetězce stane neaktivní nebo dojde ke sterickému omezení na konci řetězce. Oxidační potenciál polypyrolu je nižší než jeho monomeru, z tohoto důvodu je polymer během procesu současně oxidován a protiionty z elektrolytu jsou zabudovávány do jeho rostoucího řetězce.^{9,14,15} Konjugovaný polypyrolový řetězec obsahuje přibližně jeden kladný náboj na každé třetí pyrolové jednotce, přičemž tento náboj je kompenzován aniontem (dopantem).¹⁵ Celý mechanismus polymerizace pyrolu na polypyrol je uveden na obr. 1.

Důležitou roli při polymerizaci pyrolu hraje také přítomnost vody, která omezuje protonaci pyrolu. Voda mění jeho vodivost a současně zvyšuje zásaditost aniontu.⁹

Elektrochemické metody používané pro elektropolymerizaci se dají rozdělit na potenciostatické a galvanostatické s potenciálovým programem. Z těchto technik je nejčastěji užívanou metodou cyklická voltametrie.⁷



Obrázek 1. Mechanismus polymerizace pyrrolu na polypyrrol (upraveno dle ⁹⁾)

2.1.1.3 Redukce PPy

Elektrochemicky připravený PPy film lze převést do redukováného stavu použitím negativního potenciálu v rozsahu cca -1,0 až 0,0 V. Ve svém redukováném stavu je polypyrrol nevodivý, protože nosiče proudu - kladné náboje v oxidovaném PPy rekombinují s dodanými elektrony. V závislosti na velikosti dopujících aniontů mohou nastat dva stavy. Pokud se jedná o relativně malé anionty, většinou anorganické, mohou během redukce opustit matici polymeru. V případě rozměrných, většinou organických, aniontů, které jsou mechanicky fixovány v matici polymeru, dochází během redukce naopak ke vstupu kationtů do matrice polymeru z důvodů nutnosti kompenzace záporného náboje dopantu a tím k zachování elektroneutality polymeru.¹⁶ U aniontů střední velikosti dochází k oběma výše zmíněným procesům v závislosti na skutečné velikosti aniontu.

Redukovaný PPy je možné opět elektrochemicky oxidovat vložení pozitivního potenciálu, ovšem nelze přitom plně dosáhnout výchozích vlastností původně připraveného polymeru. V oxidovaném stavu je polymerní systém mnohem pevnější a obsahuje méně vody, ale pohyblivost dopujících iontů je značně nižší než u redukovaného stavu.¹⁷ Chováním a přechody mezi redukovaným a oxidovaným stavem se zabývalo a zabývá mnoho odborníků.^{16,18-20}

2.1.2 Doping vodivých polymerů

Tvorba nábojů ve vodivých polymerech se nazývá doping. Doping nezahrnuje pouze přenos náboje, oxidaci nebo redukci, ale také ukládání nebo odpuzování protiiontu z důvodů udržení nábojové neutrality. Doping výsledného polymeru má tedy značný vliv na změny v elektronických, magnetických či optických vlastnostech vodivých materiálů.⁷

Vlastní kinetika oxidace a polymerizace je ovlivněna velkým počtem parametrů spojených s dopantem, jako je adsorpce na pracovní elektrodě, použitý redoxní potenciál, náboj a velikost iontu. Důležitým parametrem je také koncentrace aniontu v základním elektrolytu.⁹

Mezi další faktory mající vliv na kvalitu vodivých polymerních filmů vyrobených při elektropolymerizaci jsou materiál elektrody, kde je důležitá homogenita a chemisorpční chování hlavně pro první fázi elektropolymerizace. Na polymerizaci PPy má vliv i, zda probíhá ve vodném či organické prostředí.

Kvalitu filmů může ovlivnit mechanismus ukládání na povrch elektrody. Existují dvě základní metody. V prvním případě jsou oligomery tvořeny v roztoku v těsné blízkosti povrchu elektrody a jsou ukládány na povrch, jakmile je stanou nerozpustné.

V druhém typu jsou tvořené radikály chemicky vázány jeden na druhý a spojují se do oligomerních řetězců. Rychlost vkládání může být kontrolována teplotou, proudovou hustotou a rychlostí míchání.¹³

2.1.2.1 Typy dopantů

Vlastnosti polypyrolu, jako jsou mechanické chování, elektrická a tepelná vodivost, chemická stabilita, se dají silně ovlivnit použitým dopantem. Ukládání protiiontů do PPy řetězce bylo poprvé uvedeno r. 1979, kdy PPy film byl dopován malým anorganickým tetrafluorborátovým aniontem.¹² Během dalších pokusů byly do PPy filmu vkládány další malé anorganické anionty jako např. chloristanový.¹⁵

Během výzkumů bylo zjištěno, že malé anorganické anioty mají velkou pohyblivost, což není příliš vhodné během redukce PPy řetězce, kdy se z něj uvolňují. Vliv protiiontu se projevuje i ve struktuře PPy. Pokud jsou v řetězci zabudovány malé anionty, je řetězec uspořádán chaoticky. A proto nejsou PPy filmy stabilní a poměrně snadno se poškodí.¹³

Do struktury PPy se během třiceti let povedlo vědcům zabudovat velké množství různých druhů anorganických a organických aniontů. Proto mohou být PPy filmy používány jako citlivé sensory.

Předpovědět, jaký vliv bude mít dopant na kvalitu polymeru je obtížné, avšak existují určitá základní pravidla. Obecně platí, že pokud mají PPy filmy dobrou vodivost, zároveň mají dobré mechanické vlastnosti. Filmy s dobrou vodivostí jsou často polymerizovány s velkými organickými dopanty, které mají ve své struktuře zabudovanu planární aromatickou část. Dále se používají dopanty obsahující dlouhé uhlíkové řetězce spolu se sulfonovanými skupinami, jako jsou např. povrchově aktivní látky. Tyto anionty tak udržují v polymerech strukturní pravidelnost. Mohou být snadněji adsorbovány na povrch elektrody a tím zlepšují počáteční kroky elektropolymerizace.¹³

Z výše uvedených poznatků jsem se v diplomové práci zaměřila na studium aniontů obsahujících sulfonovanou skupinu²¹⁻²³ a na protiionty s planární strukturou (komplexy tetrasulfonovaných ftalocyaninů s kovy)^{24,25} a jejich vliv na PPy film.

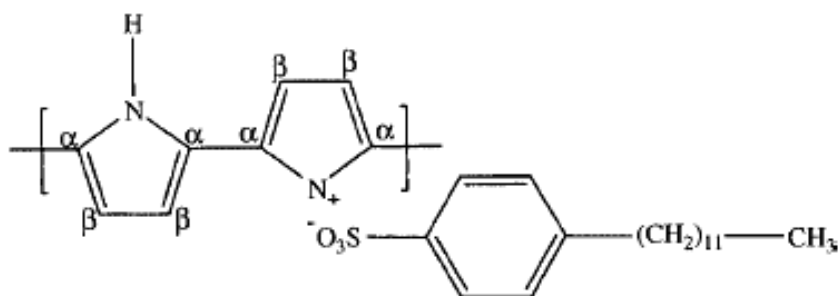
2.1.2.2 Aniontové tenzidy

Aniontové surfaktanty jsou široce používanou skupinou povrchově aktivních látek v průmyslovém odvětví kvůli jejich nízké ceně výroby, a proto jsou obsaženy ve všech typech detergentů. Povrchově aktivní látky jsou sloučeniny obsahující nepolární hydrofóbní část tvořenou uhlíkovým řetězcem s 8 - 18 atomy uhlíku („ocas“), které jsou připoutány k polární nebo iontové části („hlava“). Uhlíkový řetězec interaguje slabě s molekulami vody, zatímco polární nebo iontová část s vodou interaguje dipólovými interakcemi.²⁶

V diplomové práci byly použity pro tvorbu PPy filmu dodecylsulfátový (DS)^{22,27-30} a dodecylbenzensulfonátový (DBS) anion. Poprvé byl do PPy řetězce zabudován DBS aniont r. 1986.²¹ Během dalších studií bylo zjištěno mnoho informací o chování a vlastnostech těchto PPy-DBS vrstev.^{17,31-37} Na obr. 2 je vidět část struktury PPy-DBS.

Pokusy ukázaly, že vodivé polymery s aniontovými tenzidy jsou vysoce stabilní ve vodných roztocích³³, protože větší anionty zůstávají částečně zachyceny v polymerním řetězci i během silných redukčních procesů.³⁴

Problémem při přípravě PPy vrstvy s aniontovými tenzidy je tvorba micel, proto jsou používány koncentrace aniontů nižší než je kritická micelární koncentrace.



Obrázek 2. Chemická struktura PPy-DBS ³¹

2.1.2.3 Komplexy ftalocyaninů s kovy

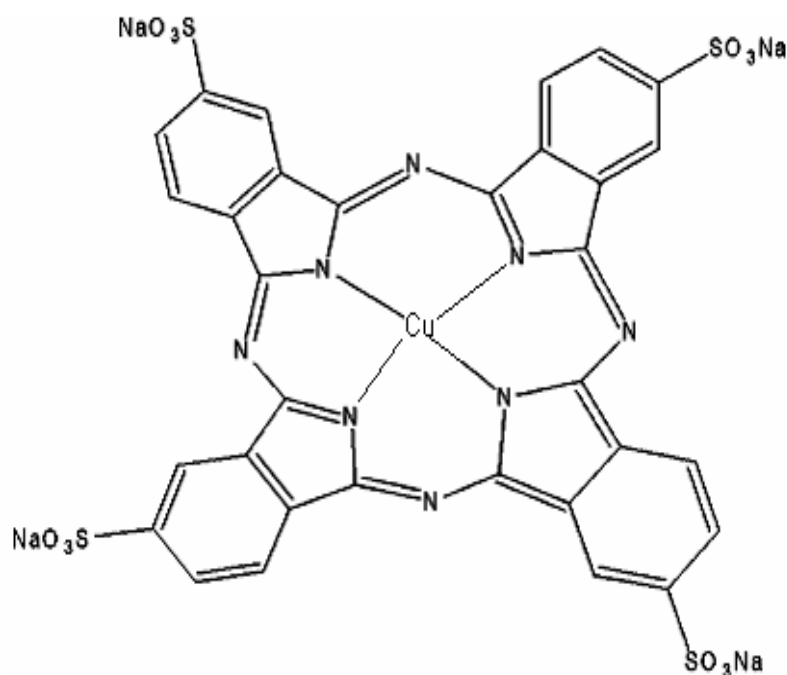
Ftalocyaniny jsou silně zbarvené komplexní sloučeniny s velmi vysokou chemickou a mechanickou stabilitou. První ftalocyaniny byly objeveny náhodou r. 1928 jako vedlejší produkt při průmyslové výrobě ftalimidu.³⁸

Odborníci se začali o ftalocyaniny zajímat pro jejich vysokou tepelnou stabilitu a dobře definovanou redoxní aktivitu a velkou variabilitu, neboť jsou schopné do svého kruhu zabudovat přes 70 různých kovových či nekovových kationtů. Pro tyto vlastnosti se ftalocyaniny začaly zabudovávat jako dopanty do polypyrolových struktur. Používají se jako plynové sensory ^{39,40} nebo modifikované elektrody ^{24,25,41,42}. Ftalocyaniny byly během let připraveny v různých formách s odlišnými substituenty. Aniontové substituenty zlepšují rozpustnost v polárních rozpouštědlech (voda).

Tetrasulfonované ftalocyaniny jsou po chemické stránce planární sloučeniny složené ze tří různých částí: makrocyklu, periferních substituentů a iontu kovu koordinovaným ve středu molekuly. Příklad struktury tetrasulfonovaných ftalocyaninů je uveden na obr. 3.

Mnoho studií rovněž prokázalo, že při vložení komplexů ftalocyaninů do polypyrolového řetězce, dojde k velkým změnám ve vlastnostech polymeru. ^{24,25,44}

R. 1987 byl použit tetrasulfonovaný ftalocyanin železnatý jako dopant v elektrochemické syntéze polypyrolových filmů pro elektrochemickou redukci kyslíku.⁴⁵ Během výzkumů bylo zjištěno, že ftalocyaniny reagují i na jiné oxidující plyny jako jsou oxidy dusíku.¹⁰ Systém mechanismu je založen na interakci plynu s ftalocyaninem, kdy interakce vede k tvorbě oxidovaného komplexu ftalocyaninu.⁴⁶ Ftalocyaniny zabudované v PPy jsou také citlivé na páry methanolu či amoniaku.^{3,44}



Obrázek 3. Struktura sodné soli tetrasulfonovaného ftalocyaninu měďnatého (upraveno dle⁴³)

Elektropolymerizace, při níž probíhá zabudování metaloftalocyaninů do polypyrolového řetězce, má několik omezení, jmenovitě vazebná kapacita polymerního filmu závisí na potenciálu a ztrátách, když je polypyrol redukován. Navíc tato iontově výměnná kapacita je omezena na 1 záporný náboj pro 3 nebo 4 pyrolové jednotky.⁴⁵

Vědecký výzkum se v současné době zaměřil na studium vlastností tetrasulfonovaných protiiontů, jmenovitě na sodnou sůl tetrasulfonovaného ftalocyaninu kobaltnatého (CoPcTS⁴⁷⁻⁴⁹) a sodnou sůl tetrasulfonovaného ftalocyaninu měďnatého (CuPcTS^{44,50-52}).

2.2 Prekoncentrace

Prekoncentrace je považována za jeden ze základních kroků při přípravě vzorku v analytických procesech. Koncentrační techniky pomáhají dosáhnout detekčních limitů, je-li koncentrace studovaného analytu pod mezí detekce, ale zároveň od zkoumaného analytu odstraňují nežádoucí látky, které jsou obsaženy v původním materiálu a mohou zhoršovat či znemožňovat separaci. Prekoncentračních postupů se využívá i při odběru vzorků a jejich transportu do laboratoří.

Mezi základní prekoncentrační postupy patří extrakční techniky, do nichž jsou zahrnuty metody extrakce tuhou fází (SPE), extrakce kapalinou a extrakce plynem (headspace). Dalšími skupinami pro prekoncentraci jsou vymrazovací techniky a metody využívající k zachycení analytů chemické reakce (derivatizační techniky).⁵³

Jednou z nejvíce používaných metod pro zakoncentrování škodlivin z ovzduší a vody je extrakce na pevné fázi (SPE), která postupně nahradila klasickou extrakci kapalinou (LLE).

Extrakce na pevné fázi je proces se třemi základními kroky. V první fázi projde vzorek přes pevný sorbent a přítomné analyty se na něm zachytí. Následně jsou nechtěné analyty selektivně desorbovány a na závěr dojde k vlastní desorpci zkoumaného analytu ze sorbentu.

Do skupiny technik SPE se zařazuje i metoda mikroextrakce na pevné fázi (SPME). Metoda byla vyvinuta koncem osmdesátých let dvacátého století Januszem Pawliszynem a jeho kolegy. Velkou výhodou oproti klasické extrakci na pevné fázi je eliminace rozpouštědel a zkrácení extrakčního času na několik minut.⁵⁴

2.2.1 SPME

Mikroextrakce na pevné fázi (SPME) je jednoduchá a účinná sorpčně-desorpční technika zakoncentrování analytu, která nevyžaduje žádná organická rozpouštědla či složité aparatury. Analyty jsou sorbovány na SPME vláknech dokud není dosaženo rovnováhy. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu.⁵⁵

Metoda byla vyvinuta r. 1989 Januszem Pawliszynem a jeho kolegy k rychlé přípravě vzorků v laboratoři.⁵⁴

SPME proces se skládá ze dvou základních kroků: a) rozdělení analytů mezi extrakční fázi a matici vzorku; b) desorpci koncentrovaných extraktů do analytického přístroje.⁵⁶ V SPME je tedy v jednom kroku obsaženo vzorkování, extrakce, prekoncentrace a dávkování vzorku do analytického přístroje.^{57,58}

Mikroextrakce na pevné fázi se provádí ve dvou základních provedeních: pomocí vlákna a tzv. in-tube.^{56,58} Klasická metoda SPME je založena na uchycení kapalné fáze (např. polydimethylsiloxan, polyakrátový polymer) jako stacionární fáze na vlákno, které se používá pro přímou extrakci organických sloučenin. Metoda SPME používající vlákno se nejčastěji aplikuje ve spojení s plynovou chromatografií a plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem. Technikou SPME-GC bylo analyzováno široké pole sloučenin, hlavně ale těkavé analyty.⁵⁹ SPME bylo rovněž použito spolu s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií pro méně těkavé sloučeniny či pro látky, které nelze stanovit v GC.^{57,60} Vývoj techniky dále zlepšilo zabudování vláken pokrytých sorpční vrstvou do mikrostřikačky, což byl první SPME přístroj.⁵⁵ Během dalšího vývoje byl SPME přístroj dále zlepšován a upravován až k prvním komerčním přístrojům od firmy Supelco.⁵⁵

Zajímavou cestou v technice SPME se stala tzv. in-tube extrakce, která byla vyvinuta později, aby usnadnila přípravu vzorků u HPLC. Tato extrakce je založena na tom, že sloučeniny jsou extrahovány do vrstvy umístěné na vnitřním povrchu trubice a po extrakci jsou analyty desorbovány mobilní fází přímo do HPLC kolony.⁵⁶

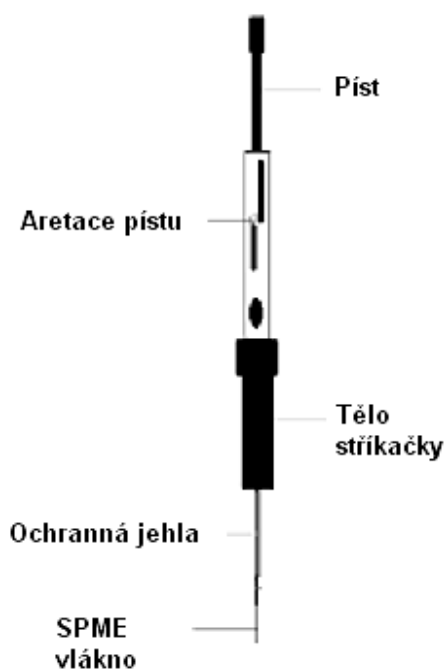
2.2.2 SPME vlákno

Postup při vzorkování a desorpci analytu

Vlákno pokryté stacionární fází je spojeno s ocelovým pístem a umístěno v duté ocelové jehle, která vlákno chrání před poškozením.

Při sorpci analytu je nejprve vlákno zataženo do jehly, kterou je propíchnuto gumové septum v zátce zkumavky se vzorkem. Posunutím pístu se vlákno vysune buď přímo do kapalného vzorku nebo těsně nad hladinu a analyt je sorbován na film pokrývající vlákno. Jakmile je dosaženo sorpční rovnováhy, je vlákno zasunuto do jehly a ta je vytažena z nádoby.

Desorpce probíhá tak, že jehla je vpíchnuta do injektoru plynového chromatografu, kde je vlákno opět vysunuto a kde dojde k tepelné desorpci analytu a následné separaci na GC koloně.



Obrázek 4. Ukázka SPME vzorkovače Supelco (upraveno dle⁶¹)

2.2.3 Principy mikroextrakce na pevné fázi

Na rozdíl od klasických extrakčních metod není analyt ze vzorku extrahován v co nejvyšším množství, ale pouze do dosažení rovnovážného stavu.

Přenos analytů ze vzorku na vrstvu se děje okamžitě, jakmile se vlákno dostane do kontaktu se vzorkem. SPME extrakce je ukončena, když koncentrace analytu dosáhne rozdělovací rovnováhy mezi matricí vzorku a vrstvou vlákna. V praxi to znamená, že rovnováhy je dosaženo, když extrahované množství je konstantní a je nezávislé na dalším zvýšení extrakčního času.^{56,62}

Za rovnovážných podmínek kapalných vzorků lze látkové množství vyjádřit rovnicí:

$$n = \frac{K_{fs} \cdot V_f \cdot V_s \cdot C_0}{K_{fs} \cdot V_s + V_s} \quad (1)$$

- n ... látkové množství extrahovaného analytu na vrstvě
- K_{fs} ... distribuční konstanta analytu mezi vláknem / vzorkem
- V_f ... objem extrakční fáze
- V_s ... objem vzorku
- C_0 ... počáteční koncentrace analytu ve vzorku

Tato rovnice předpokládá, že vzorek je jednoduchá homogenní fáze a není přítomen v headspace.^{55,58,62}

Látkové množství extrahovaného analytu je tedy závislé na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru na vlákně. Množství sorbovaného analytu závisí také na distribuční konstantě. Celková doba extrakce je určována podle analytu s nejvyšší distribuční konstantou, kdy distribuční konstanta obvykle narůstá s rostoucí molekulovou hmotností a bodem varu analytu.

Při větším objemu vzorku V_s lze rovnici zjednodušit na :

$$n = K_{fs} \cdot V_f \cdot C_0 \quad (2)$$

Je-li objem vzorku V_s dostatečně velký, množství analytu extrahovaného na vlákně nezávisí na objemu vzorku. Z tohoto důvodu je SPME vlákno používáno pro odběry vzorků v terénu.^{55,56,58}

2.2.3.1 Extrakční módy

Mezi základní typy extrakce používané u metody SPME jsou: přímá extrakce, headspace a membránově chráněná extrakce.

Přímá extrakce spočívá v ponoření vlákna do vzorku a analyty jsou transportovány přímo z matrice do extrakční fáze. Pro ustavení rovnováhy ve vodných vzorcích jsou nezbytné účinné míchací techniky (rychlý pohyb vláknem nebo vialkou, míchání magnetickým míchadlem nebo ultrazvuk). Podmínky míchání jsou důležité k omezení „zóny vyčerpání“ (depletion zone), kdy dochází k rychlé extrakci analytů na vlákno a v okolí vrstvy se tak analyty nacházejí v malé koncentraci, čímž klesá extrakční účinnost.⁶³

V headspace módu musí analyty přejít z kapalně fáze do plynné, kde jsou extrahovány. Při této metodě nedochází ke kontaminaci vlákna netěkavými složkami z roztoku, rovněž je možné měnit bez problémů pH. Pokusy bylo zjištěno, že rovnovážná koncentrace je nezávislá na umístění vlákna v roztoku nebo headspace systému (mimo velmi těkavých látek).^{56,58} Extrakční časy mohou být značně zkráceny, jestliže jsou zkoumané analyty extrahovány z headspace módu oproti přímé extrakci, protože difúze analytů v plynné fázi je o čtyři řády vyšší než u vodné fáze.⁵⁵ Rychlé ustavení rovnováhy mezi vodní a plynou fází může být dosaženo konstantní rychlostí míchání vodného vzorku. Výběr módu má vliv na kinetiku extrakce. Přenos analytu na vlákno je ovlivněn poměrem objemu vzorku a headspace. Z výše uvedených důvodů jsou těkavé analyty extrahovány mnohem rychleji než méně těkavé, protože jsou v headspace ve vyšší koncentraci.

Posledním typem extrakce u SPME je membránově chráněná extrakce. Jejím hlavním účelem je ochrana vlákna před poškozením. Je výhodná pro stanovení sloučenin, které jsou méně těkavé a nedají se určit v headspace systému. Jestliže je membrána vytvořena z vhodného materiálu, může pomoci k lepší extrakci analytů.

2.2.3.2 Optimalizace SPME

Metoda SPME umožňuje při zachování konstantních podmínek vzorkování dosáhnout vysoké přesnosti a správnosti. Shodnost výsledků a spolehlivost detekce při nízkých koncentracích je ovlivněna celou řadou faktorů např. polaritou a tloušťkou filmu, způsobem vzorkování, hodnotou pH, iontovou silou roztoku, teplotou vzorku, mícháním apod. U metody SPME není třeba úplná extrakce, ale úplná rovnováha. Důležité je vždy dodržovat stejný čas extrakce, teplotu vzorku a případně hloubku ponoru, pokud je prováděna přímá extrakce.^{58,61}

Polarita vlákna, porozita a specifický povrch

Selektivita SPME vlákna je důležitá při výběru vrstvy, aby všechny přítomné sloučeniny ve vzorku byly detekovány v analytickém přístroji. Nepolární analyty jsou mnohem účinněji extrahovány vrstvami s nepolárním povrchem a naopak. Podobný systém platí i v chromatografických kolonách, ale u SPME vrstvy je množství stacionární fáze mnohem nižší.^{56,57,60}

Tloušťka vrstvy

Silnější vrstvy jsou schopny sorbovat větší množství analytu než tenké filmy. Z tohoto důvodu jsou silnější vrstvy používány pro zachycení těkavých látek. Silné filmy také účinně extrahují výše vroucí složky ze vzorku, ale jejich desorpce trvá delší čas tzn. analyt může být přenášen na vrstvě i do dalších analýz (carry-over). Slabší vrstvy se tedy hodí pro analyty s nižší těkavostí.

Čas extrakce

Při vzorkování je nekritičtějším parametrem čas extrakce, který také závisí, mimo jiné, i na umístění vlákna ve zkumavce. Vlastní extrakční čas je dále ovlivněn molekulovými hmotnostmi extrahovaných sloučenin a zároveň typem použitého vlákna. Extrakční čas je možno zkrátit, pokud jsou analyzovány molekuly s nízkou molekulární hmotností, při použití vlákna se slabou vrstvou filmu polymeru nebo vyšší koncentrací analytů.

Míchání vzorku

Míchání vzorku zlepšuje a zkracuje vlastní extrakci hlavně u sloučenin s vyšší molekulovou hmotností. Míchání musí být konstantní, protože v případě jeho změn se snižuje přesnost stanovení. Ultrazvuk zvyšuje sorpci analytu, protože jednak intenzivně míchá vzorek a zároveň ho i zahřívá. Vzorek tak může snáze přejít do headspace fáze.⁵⁵

Vliv vysolování a pH

Koncentrace soli a pH vzorku může značně ovlivnit účinnost extrakce. Přítomnost soli zvyšuje iontovou sílu vodných roztoků a tím většinou způsobí snížení rozpustnosti organických látek.^{56,58} Vysolení pomáhá hlavně u neutrálních sloučenin, u nichž dojde ke snížení rozpustnosti a snadnému přestupu do headspace fáze. Problémem u vysolení může být zanesení nečistot či poškození vlákna, je-li používána přímá extrakce.⁵⁸

Teplota

Dalším důležitým parametrem, který je třeba optimalizovat, je extrakční teplota. Při zvýšené teplotě mohou analyty účinněji přecházet ze vzorku na vlákno. Distribuční konstanta může poklesnout, což ve výsledku znamená snížení množství extrahovaného analytu na stacionární fázi. Proto byla vyvinuta také metoda, která využívá vnitřně chlazené SPME vlákno.^{56,58}

2.2.4 Druhy fází používaných pro SPME

Od roku 1993, kdy bylo uvedeno na trh první komerční vlákno, existuje mnoho typů vláken s různou tloušťkou a polaritou. Je tedy důležité vybrat vhodnou vrstvu pro daný typ analytu („podobné se rozpouští v podobném“).

Účinnost extrakčního procesu je závislá na distribuční konstantě K_{fs} , což je charakteristický parametr popisující vlastnosti vrstvy a její selektivitu vzhledem k analytům. Prvním komečným typem fáze pro SPME se stal polydimethylsiloxan (PDMS)⁵⁴, který prokázal výbornou selektivitu pro nepolární sloučeniny jako jsou např. benzen, toluen, ethylbenzen, xylen (BTEX).^{55,61} Během dalších let byly vyvinuty i jiné typy komerčních vrstev jako jsou polyakrylát (PA), Carboxen (CAR), divinylbenzen (DVB), Carbowax (CW)^{64,65} a jejich vzájemné kombinace. Tato vlákna jsou vhodná pro použití v analýzách polárních i nepolárních sloučenin.

Další skupinou vrstev pro SPME techniku se od r. 2001 staly organické vodivé polymery.⁶⁶ Problematice vodivých polymerů ve spojení s mikroextrakcí jsou věnovány další kapitoly.

2.2.5 Využití SPME

Pomocí SPME je možno provádět analýzu velmi těkavých látek i méně těkavých látek současně. Komerční SPME přístroje byly vytvořeny hlavně pro laboratorní aplikace, ale v průběhu let se staly použitelné i pro klinické či terenní odběry vzorků.

Úspěšné použití SPME metody je závislé nejvíce na volbě vhodné vrstvy na vlákně. Účinná extrakce a desorpce závisí na molekulové hmotnosti, tvaru molekuly, bodu varu a tenzi páry analytu, polaritách analytu a vlákna. SPME techniky lze s úspěchem použít i pro vzorky, které obsahují pevné materiály či materiály s vysokou molekulovou hmotností.^{55,57}

Metoda má také praktické využití při analýzách chemických látek působících na životní prostředí,^{67,68} ke zjišťování přítomnosti toxických látek v analytické toxikologii⁶⁹, v bioanalytice⁵⁷ či v analýze potravin⁶⁰.

Výhody metod SPME lze na závěr shrnout do několika hlavních bodů:

- a) extrakce je docílena bez použití rozpouštědel,
- b) metody jsou velmi rychlé a jednoduché,
- c) techniky jsou citlivé a selektivní, jsou-li spojeny s metodou GC-MS,
- d) metody jsou relativně necitlivé na vlivy matrice, pokud jsou parametry extrakce optimalizovány,
- e) pro analýzy stačí velmi malé objemy vzorku, okolo 1 - 10 ml,
- f) vlákna mohou být použita opakovaně (oproti většině klasických metod extrakce na pevné fázi, ⁶¹
- g) práci je možno snadno automatizovat.

Nevýhody SPME

Nevýhodou metody SPME je nízká schopnost zachytit malé těkavé molekuly, protože u těchto látek dochází k rychlému dosažení rovnováhy a mají zároveň nízkou distribuční konstantu. Za další nevýhodu se dá považovat složitější optimalizace.

2.3 Spojení vodivých polymerů a SPME

Vodivé polymery jsou velmi všestranné a v jejich spojení s metodou SPME lze dosáhnout zajímavých výsledků. Vlastnosti vodivých polymerů se dají shrnout v několika hlavních bodech:

- 1) výběrem vhodných protiiontů, lze kontrolovat selektivitu extrakce
- 2) do polymerů lze snadno zavést funkční skupiny
- 3) do polymerního řetězce je možno snadno vkládat ionty kovů či komplexy. ⁶⁶

Ze všech vodivých materiálů byl vybrán polypyrol, protože může být lehce polymerizován z organického nebo z vodného prostředí při neutrálním pH elektrochemickými či chemickými metodami. PPy je také relativně stabilní na vzduchu a v roztocích a monomer pyrolu a jeho deriváty jsou komerčně dostupné. PPy také ukazuje různé extrakční účinnosti vzhledem ke sloučeninám s různými funkčními skupinami. ⁶⁶

Využití unikátních chemických a fyzikálních vlastností polypyrolu ve spojení s metodou SPME bylo poprvé popsáno r. 2001 Pawliszynem a jeho kolegou Wu. ⁶⁶ PPy film byl připraven na povrchu kovového drátu elektrochemickou polymerizací, a takto pokrytý drát byl umístěn do SPME vzorkovače a použit k extrakci těkavých organických sloučenin.

Byly publikovány rovněž metody SPME používající vrstvy polyanilinu⁷⁰ a polythiofenu⁷¹, dokonce i jejich vzájemné kombinace s polypyrolem.⁷²

Výhodou použití polymerních vrstev oproti klasickým komerčním vláknům je, že PPy vrstvou může být pokryt přímo kovový drát (platina, zlato, nerezová ocel), který je mnohem pevnější. Předností drátku s polypyrolovým filmem je nejen snadná příprava, ale i čištění. Pokud vlákno nevyhovuje, jednoduše se opálí a je znovu připraveno pro další použití.

V tabulce 2 je uveden přehled a použití různých polypyrolových vláken s odlišnými protiionty v metodě headspace SPME-GC.

Jednou z alternativ pro aplikaci SPME s vodivými polymery pro stanovení kationtů a aniontů může být elektrochemicky kontrolované SPME.^{73,74}

Tabulka 2. Přehled PPy vláken modifikovaných různými anionty pro SPME aplikaci

SPME vlákno	Rozpouštědlo	Koncentrace mol dm ⁻³		Potenciál V	Pracovní elektroda	GC detekce	Analyty	LOD	Odkaz
		pyrol	anion						
PPy	H ₂ O	0,05	-	+ 0,8 ^a	nerez	FID	alifatické aminy	0,9 – 1,6 µg l ⁻¹	75
PPy-ClO ₄	CH ₃ CN	0,1	TBAP 0,1	+1,2 ^b	Pt	FID, NPD	pyrolidony	74 – 81 pg ml ⁻¹	76
PPy-DS	H ₂ O	0,1	SDS 0,007	0,5 – 1,2 ^a	Pt	FID	benzen	100 µg ml ⁻¹	77
PPy-DS	H ₂ O	0,1	SDS 0,007	0,5 – 1,2 ^a	Pt	FID	fenoly	0,89 – 1,82 ng ml ⁻¹	78
PPy-DS	H ₂ O	0,1	SDS 0,007	0,5 – 1,2 ^a	Pt	FID, MS	PAH	50 – 160 pg ml ⁻¹	79
PPy-NiPcTS	H ₂ O	0,05	NiPcTS 0,01	+ 0,8 ^a	Au	FID	BTEX	20 – 50 pg ml ⁻¹	80
PPy-ClO ₄	CH ₃ CN	0,1	TBAP 0,1	+ 0,9 ^b	Pt, Au, nerez	FID	BTEX, alkoholy	-	66

ClO₄⁻...chloristanový anion, DS...dodecylsulfátový anion, NiPcTS...tetrasulfonovaný ftalocyanin nikelnatý, TBAP...tetrabutylamonium chloristan, CH₃CN...acetonitril; a...vůči SCE, b... vůči Ag/AgCl.

2.4 Cíle diplomové práce

Cílem diplomové práce je příprava organického vodivého polymeru - polypyrolu připraveného s různými druhy aniontů a studium jeho extrakční účinnosti v systému SPME.

Prvním krokem je výběr nejvhodnějšího materiálu pracovní elektrody (nerezová ocel, zlato a platina) pro metodu elektrochemické polymerizace.

Dalším úkolem je výběr nejlepšího dopantu vzhledem k opakovatelnosti přípravy a účinnosti SPME. Jako modelové anionty slouží řada tetrasulfonovaných ftalocyaninů a aniontových tenzidů.

Polypyrol vyloučený na vhodné elektrodě za optimálních podmínek bude dále využit k testování SPME ve spojení s plynovou chromatografií pro stanovení nepolárních aromatických organických sloučenin ve vodě. Následně bude provedena optimalizace SPME metody vzhledem k času elektropolymerizace a headspace extrakce, vlivu soli či vlivu míchání.

3. Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

Pyrol (p.a., Merck, Německo) byl nejprve vyčištěn vakuovou destilací při teplotě 75°C a poté skladován v lednici.

Pro přípravu polypyrolové vrstvy byly použity dodecylbenzensulfonát sodný (SDBS, t.g., Sigma-Aldrich, USA), dodecylsulfát sodný (SDS, p.a., Merck, Německo), sodná sůl tetrasulfonovaného ftalocyaninu měďnatého (CuPcTS, p.a. Aldrich, USA). Sodná sůl tetrasulfonovaného ftalocyanu nikelnatého (NiPcTS) a sodná sůl tetrasulfonovaného ftalocyaninu kobaltnatého (CoPcTS) byly připraveny Jiřím Škardou v rámci jeho disertační práce.⁸¹

Pro headspace extrakci byly použity benzen (p.a.), toluen (p.a.), xylen (p.a.) (všechny Lachema, ČR) a ethylbenzen (99 %, Aldrich, USA).

Dále byly použity methanol (p.a.), ethanol (p.a.), aceton (p.a.) (všechny Penta, ČR), chlorid sodný (p.a.) kyselina sírová (96 %), kyselina fosforečná (85 %), kyselina chlorovodíková (p.a.) (všechny Lachema, ČR) a deionizovaná voda (Milli Q Plus, Millipore, USA).

Pro čištění drátku byly použita leštící pasta Pragopol a saponát Jar (Procter & Gamble- Rakona, ČR).

Dusík (5,0 N), vodík (4,0 N) a syntetický vzduch pro plynovou chromatografii byly čerpány z tlakových lahví (Linde, ČR).

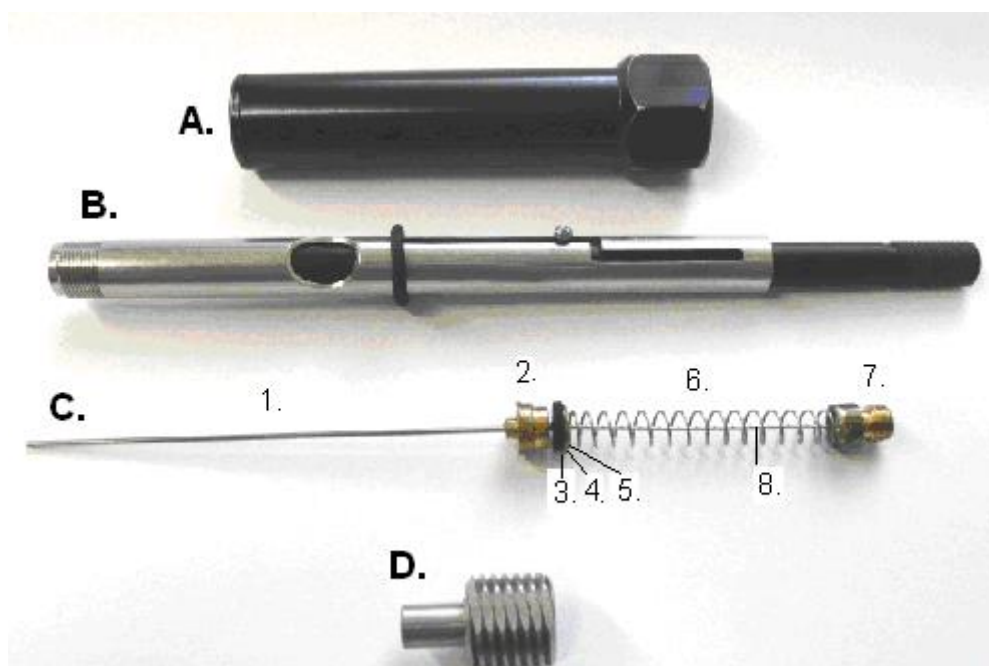
3.2 Použité přístroje

SPME vzorkovač typ 504 831 (Supelco Park, USA) byl použit pro všechny pokusy. Na obr. 5 je vyobrazen rozložený SPME vzorkovač.

V dílně Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy byla podle komerční předlohy SPME vlákna vyrobena sada pěti upravených platinových drátků pro SPME použití. Každý SPME drát měl délku 10,5 cm a průměr 0,35 mm. Ukázka upraveného drátu je uvedena na obr. 5.

Pro čištění pracovní a pomocné elektrody byl použit ultrazvukový přístroj Sonorex RK100 (Bandelin, Německo) a propan-butanový minihořák.

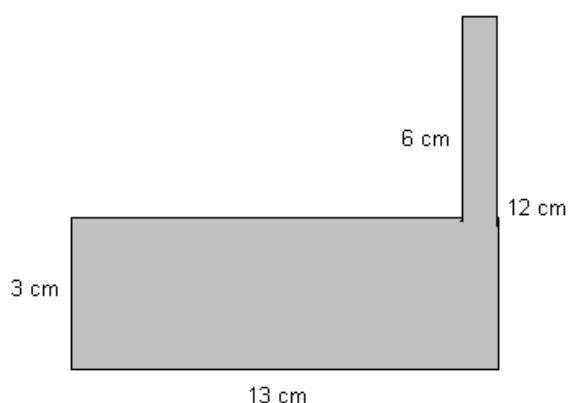
Pro elektrochemickou část diplomové práce, tedy pro elektropolymerizaci pyrolu byl použit přístroj Eco-Tribo Polarograf se softwarem Polar 5.1. (Polaro-Sensors, ČR). Jako pracovní elektroda byl použit jeden z připravených Pt drátků. Referentní elektroda byla použita nasycená kalomelová elektroda (ETP CZ RK 0106, Eco-Trend Plus, ČR, 3 mol dm⁻³ KCl) a jako pomocná elektroda byla použita titan-wolframová síťka (obr. 6) stočená do kruhu. Pokusy byly prováděny v elektrochemické pracovní cele, kterou byla kádinka o objemu 75 ml s oříznutým okrajem.



Obrázek 5. Rozložený SPME vzorkovač (A. krycí část těla stříkačky, B. tělo stříkačky, C. vnitřní část-vlákno s jehlou, D. matice; 1. jehla, 2. mosazná část v níž je jehla fixována, 3. teflonové septum se silikonovou vrstvou, 4. pryžové těsnění, 5. kovová podložka, 6. pružina, 7. mosazný díl fixující drát, 8. Pt drát.

Před vlastní analýzou byla PPy vrstva vytvořená na drátku kondicionována v píce pro SPME (Hamilton, USA), která byla připojena k malé vakuové pumpě a regulátoru teploty. Při headspace extrakci byla použita magnetická míchačka typ MR 3001 (Heidolph, Německo).

Pro chromatografické měření byl použit plynový chromatograf Pye Unicam 4600 (Unicam Ltd., Velká Británie) vybavený plamenově ionizačním detektorem (FID).



Obrázek 6. Schématický náčrt titan-wolframové sítě s rozměry.

V GC experimentech byla použita kolona Supelco SPB-5 (Supelco, USA) s rozměry 15 m x 0,25 mm ID a tloušťkou filmu 0,25 μm a SPME liner (3,5 mm ID). Ke sběru a vyhodnocení dat z plynového chromatografu byl použit program Clarity (ver. 2.6.5.517, DataApex, ČR). Pro grafickou prezentaci naměřených dat byl použit program Microcal Origin 6.1. (OriginLab, USA) a pro tvorbu tabulek byl využit program Microsoft Excel. Statistické vyhodnocení odlehklých výsledků bylo provedeno Dean a Dixonovými testy.

Snímky drátků byly pořízeny na elektronickém mikroskopu-kameře Mikro-zoom řady MZK 2701 (Intracomicro, ČR)

K pipetování vzorků sloužily automatické pipety 1-5 ml, 100-1000 μl a 10-100 μl (všechny Biohit, Finsko)

3.3 Příprava zásobního roztoku

Zásobní roztok směsi analytů o koncentraci každého z nich 1 mg ml^{-1} byl připraven z benzenu, toluenu, ethylbenzenu a xylenu. Postupně bylo naváženo 10 mg dané látky do odměrné baňky, poté byla baňka o objemu 10 ml doplněna methanolem po rysku. Zásobní roztok byl uchováván v lednici.

Pro headspace extrakci byl zásobní roztok naředěn deionizovanou vodou na požadovanou koncentraci 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

3.4 Příprava polypyrolového filmu

Vrstva polypyrolu byla připravena elektropolymerizací v tříelektrodevém systému potenciostatickou metodou.^{10,80} Upravený očištěný platinový drát byl použit jako pracovní elektroda (v elektrolytu ponořen 1,5 cm), jako referentní elektroda sloužila nasycená kalomelová elektroda a titan-wolframová síťka jako pomocná elektroda. Celý systém je možno vidět na obr. 7. Potenciál pracovní elektrody byl nastaven na + 0,8 V vůči SCE.^{10,80} Během elektropolymerizace se na povrchu elektrody se vytvořila souvislá vrstva černého PPy filmu kovového lesku.

Základní elektrolyt se skládal z vodného roztoku pyrolu o koncentraci 0,1 mol dm⁻³ a jednoho z dopantů uvedených v tabulce 3 s jeho příslušnou koncentrací. Před použitím byl elektrolyt vložen do ultrazvukové lázně po dobu 3 min, aby došlo k rozpuštění pyrolu. Po vytvoření filmu na povrchu pracovní elektrody byl film několikrát opláchnut deionizovanou vodou a sušen na vzduchu několik hodin za laboratorní teploty.

Tabulka 3. Seznam dopantů použitých v základním elektrolytu

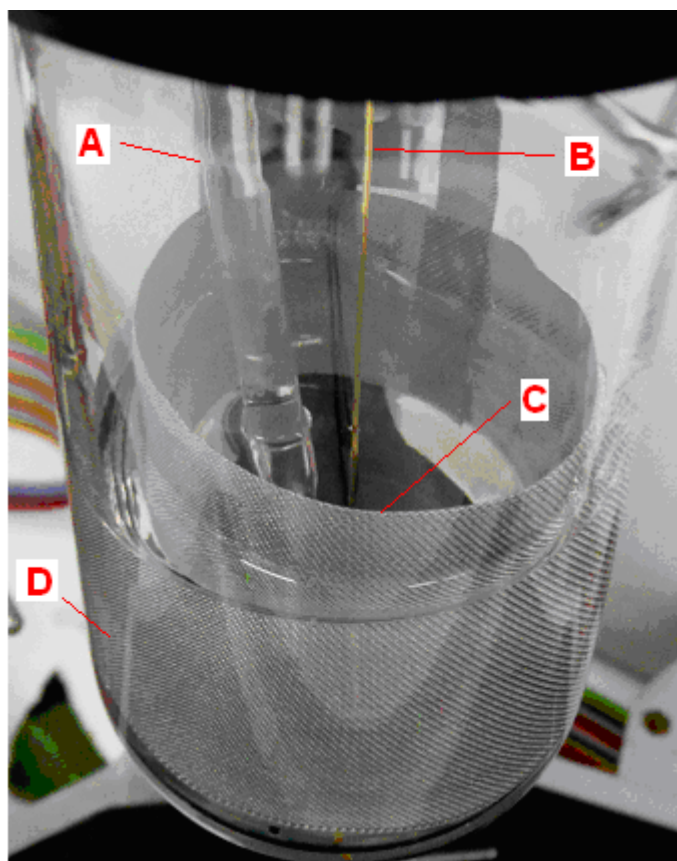
Dopanty	c (mol dm ⁻³)
SDBS	0,001
SDS	0,007 ^{78,79}
CuPcTS	0,01 ¹⁰
NiPcTS	0,01 ¹⁰
CoPcTS	0,01

Koncentrace SDBS a SDS v elektrolytu byla nižší než kritická micelární koncentrace, aby se v roztoku netvořily micely, (CMC (SDBS) = 0,0012 mol dm⁻³), (CMC (SDS) = 0,0083 mol dm⁻³).⁸²

Úprava elektrochemického postupu

Během pokusů bylo nutno upravit i elektropolymerizační techniku. U některých PPy filmů byla provedena redukce, při níž byl Pt drátek s připravenou PPy vrstvou znovu zapojen do tříelektrodevého systému, ale jako základní elektrolyt byl použit pouze vodný roztok daného protiiontu (z něhož bylo vlákno vytvořeno) o stejné koncentraci uvedené v tabulce 3 bez přidání pyrolu. Pracovní elektroda byla ponořena do elektrolytu

a byl nastaven potenciál o hodnotě - 0,244 V (záporný elektrodový potenciál kalomelové referenční elektrody vůči vodíkové elektrodě). Čas redukce byl nastaven na 400 s. Poté bylo vlákno opláchnuto deionizovanou vodou a sušeno za laboratorní teploty.



Obrázek 7. Tříelektrodový systém - ukázka použití pomocné elektrody. A. nasycená kalomelová elektroda (referenční), B. Au drát (pracovní elektroda), C. titan-wolframová síťka (pomocná elektroda), D. kádinka (pracovní cela).

3.5 Kondicionace vlákna

Před vlastní headspace extrakcí byl drátek vložen do SPME vzorkovače a byl opatrně zasunut do upravené injekční jehly, která ho chránila před poškozením. Poté bylo vlákno kondicionováno v pícce pro SPME při teplotě 122°C po dobu 20 minut se zapnutou vakuovou pumpou. Drátek byl dále kondicionován při teplotě 200°C v injektoru GC přístroje po dobu 50 minut.⁶⁶ Kondicionované SPME vlákno bylo vytaženo z GC injektoru, zataženo do jehly a ponecháno na vzduchu 10 min.

3.6 Headspace vzorkování

Do skleněné heaspace nádoby o objemu 20 ml byl připraven vodný roztok o objemu 10 ml a koncentrací $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ BTEX (ze zásobního roztoku). Do roztoku bylo přidáno určité množství soli a malé magnetické míchadlo. Headspace nádoba byla rychle uzavřena gumovým septem s hliníkovým uzávěrem. Roztok byl promíchán na magnetické míchačce po dobu nezbytnou k rozpuštění soli.

Těsně před headspace extrakcí bylo roztokem mícháno po dobu pěti minut při rychlosti 800 rpm. Proces míchání při stejné rychlosti probíhal i během extrakce. Princip extrakce spočívá v zasunutí jehly SPME vzorkovače do headspace nádoby a vysunutí drátku z jehly. Čas extrakce se pohyboval od 1 min do 60 min.

Po extrakci bylo vlákno zataženo do jehly a přeneseno do injektoru GC chromatografu.

Všechny pokusy byly prováděny za laboratorní teploty.

Všechna měření byla třikrát opakována na stejném vlákne pro určení opakovatelnosti.

3.7 Experimentální podmínky GC analýzy

Všechna měření probíhala na plynovém chromatografu PU 4600 s plamenově ionizačním detektorem (FID) a na stejné koloně SPB-5. Nosným plynem byl dusík a jeho objemová průtoková rychlost byla $0,5 \text{ ml/min}$ při tlaku 25 kPa. Teplota injektoru byla nastavena na $200 \text{ }^\circ\text{C}$ a detektoru $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Teplotní program byl nastaven na $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (2 min), $7 \text{ }^\circ\text{C/min}$ do $80 \text{ }^\circ\text{C}$ (2 min).⁸⁰

Desorpční čas vlákna byl 1 min a měření bylo prováděno ve splitless módu, který trval $0,5 \text{ min}$. Dávkování bylo prováděno ručně pomocí SPME vzorkovače.

Mezi dvěma měřeními bylo vlákno kondicionováno po dobu 10 min v injektoru na $200 \text{ }^\circ\text{C}$, aby nedocházelo k přenosu analytů mezi jednotlivými analýzami (carry-over).

3.8 Čištění elektrod

Před použitím bylo důležité pracovní elektrodu (Pt drát) dokonale vyčistit. Jako metoda čištění bylo zvoleno opalování drátku propan-butanovým minihořákem a

následné ponoření drátu do koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Tento postup byl opakován, dokud nebylo dosaženo čistého povrchu elektrody.

Pomocná elektroda byla čištěna v roztoku saponátu v ultrazvukové lázni po dobu cca 3 min. Poté byla vložena do deionizované vody a znovu umístěna do ultrazvuku.

4. Výsledky a diskuse

PPy vrstva vhodná pro SPME–GC musí splňovat mnoho parametrů. V diplomové práci byly studovány pouze některé z nich jako je vliv materiálu elektrody, vliv druhu aniontu, čas elektropolymerizace a vliv času headspace extrakce. Rovněž byl prováděn výzkum vlivu rychlosti míchání a vlivu koncentrace chloridu sodného v roztoku analytů. Tyto parametry byly také optimalizovány. Oproti těmto „klasickým“ parametrům bylo provedeno srovnání extrakce mezi redukovanou a nerdukovanou formou PPy filmu.

4.1 Elektrochemická příprava vlákna

4.1.1 Materiál pracovní elektrody a jeho čištění

Jedním z nejdůležitějších předpokladů pro vlastní přípravu PPy vlákna se stala volba materiálu pracovní elektrody (drát) a způsob jejího čištění.

Prvním typem drátku pro použití jako pracovní elektrody byl nerezový drátek (15 cm x 0,3 mm), který byl v SPME metodě zkoušen v několika studiích.^{31,75}

Důležitým krokem před vlastní přípravou polypyrolové vrstvy bylo čištění pracovní elektrody (drátku).

Práce s nerezovým drátkem - čištění

1. Drátek bylo nutno nejprve odmastit, což bylo provedeno otřením drátku buničinou namočenou v saponátu, poté se do zkumavky nalil roztok saponátu s vodou a do něj se vložil nerezový drátek. V ultrazvukové lázni byl drátek cca 3 min.
2. Poté byl drátek vyjmut z roztoku a vložen do zkumavky s deionizovanou vodou opět na 3 min do ultrazvuku, nakonec byl otřen acetonem.
3. Dále byl zkoušeno vyčištění pomocí leštící pasty Pragopol a dočištěn znovu v saponátu.

PPy filmy na takto vyčištěném drátku nebyly homogenní (některé části zůstaly nepokryty), proto byl vyzkoušen jiný čistící postup - elektrochemické čištění. Postup byl proveden podle C. L. Fausta pro čištění nerezové ocele. Jako základní roztok byla použita směs složená z kyseliny sírové (15 %), kyseliny fosforečné (43 %) a deionizované vody (42 %).⁸³ Do tříelektrodevého systému byl zapojen nerezový drát

jako pracovní elektroda. Elektrochemické čištění probíhalo po dobu 5 min při proudu 9,5 mA. Drátek nebyl tolik lesklý, ale byl očištěn. Přesto se na povrchu nerezového drátku netvořila homogenní vrstva.

Zajímavým zjištěním bylo, že na samém počátku nebyl drátek ani pomocná elektroda předem čištěny, a přesto se při elektropolymerizaci vytvořil na povrchu nerezového drátku souvislý film PPy. Jakmile bylo ale provedeno vyčištění vlákna a pomocné elektrody, na drátku se již nevytvořil souvislý film, ale nehomogenní vrstva (obr. 8). Důvodem mohla být pasivace povrchu nerezového drátku.



Obrázek 8. Ukázka nehomogenní vrstvy polypyrolu na povrchu nerezového drátu. Experimentální podmínky: $U = +0,8 \text{ V}$, $c(\text{pyrol}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{SDS}) = 0,007 \text{ mol dm}^{-3}$, (zvětšení: 230 x).

Z těchto důvodů byl jako materiál pracovní elektrody vyzkoušen zlatý drát (15 cm x 0,5 mm). Připravená PPy vrstva byla homogenní černá, kovově lesklá. Problémem bylo znovu dokonalé vyčištění Au drátku.

Z důvodu přílišné měkkosti Au drátku nebylo možno použít mechanické očištění jako u nerezového drátu, a proto byla pro odstranění vrstvy PPy z Au drátku použita elektrochemická metoda. Byl použit tříelektrodový systém, kdy bylo nastaveno pracovní napětí -1 V ($t = 700 \text{ s}$). Při tomto napětí byla PPy vrstva zredukována a odloupla se z povrchu vlákna.

Pro zvýšení rovnoměrnosti pokrytí vlákna během polymerizace byla vyzkoušena rotace drátku. Překvapivě při ní došlo k pokrytí pracovní elektrody souvislým filmem pouze z jedné strany, proto bylo od tohoto způsobu přípravy upuštěno a byla použita předchozí jednodušší metoda.

Pro zkrácení doby přípravy drátu byl zkoušen způsobu čištění drátku opálením plamenem z propan-butanového minihořáku, což se následně ukázalo jako nejlepší řešení. Metoda čištění pomocí plamene byla vyzkoušena i na nerezovém drátě, ale nepřinesla požadované výsledky, tj. homogenní vrstvu PPy.

U Au drátku se stalo problémem tavení při čištění a jeho silný průměr, který se nevešel do upravené jehly SPME vzorkovače.

Nakonec byl zvolen jako nejlepší materiál pro přípravu PPy vrstvy v tříelektrodovém systému platinový drátek (15 cm x 0,35 mm), který při čištění neměkl a na jeho povrchu se tvořila souvislá vrstva PPy.

Z těchto důvodů byl pro následující experimenty používán upravený Pt drátek (obr. 5, 10,5 cm x 0,35 mm) a jako způsob čištění bylo zavedeno opalování propan-butanovým minihořákem a následným ponořením vlákna do koncentrované kyseliny chlorovodíkové.

Pro některé pokusy byla elektropolymerizační technika pozměněna, a to tak, že připravená oxidovaná PPy vrstva byla ihned po přípravě v tříelektrodovém systému zredukována postupem uvedeným v experimentální části.

4.1.2 Srovnání elektropolymerizace polypyrolu s různými protiionty

V diplomové práci byly použity jako dopanty pro přípravu PPy vrstvy tři druhy tetrasulfonovaných ftalocyaninů. Tetrasulfonovaný ftalocyanin měďnatý (CuPcTS), tetrasulfonovaný ftalocyanin nikelnatý (NiPcTS) a tetrasulfonovaný ftalocyanin kobaltaný (CoPcTS).

Během elektrochemických pokusů bylo zjištěno, že nejlepší pokrytí vrstvy poskytly NiPcTS a CuPcTS. Při polymerizaci tvořily s polypyrolem souvislou a homogenní vrstvu, zatímco ftalocyanin kobaltaný vytvořil nehomogenní vrstvu v mezifázi mezi elektrolytem a vzduchem, jak je vidět na obr. 9. Růst v mezifázi mezi elektrolytem a vzduchem je u polypyrolu známým jevem.

Výsledky získané z PPy vrstev obsahujících ftalocyaninové ionty ukázaly, že ne všechny tetrasulfonované ftalocyaniny mohou být elektrochemicky připraveny na povrchu kovu. Důvody byly vysvětleny v kapitole o dopingu a bylo potvrzeno, že na vlastnosti ftalocyaninu má rovněž vliv kation kovu koordinovaný v jeho středu. Přestože

ftalocyanin nikelnatý prokázal obdobné chemické vlastnosti jako CuPcTS, byl pro další pokusy zvolen pro přípravu PPy vlákna ftalocyanin měďnatý (CuPcTS).



Obrázek 9. PPy vrstva s tetrasulfonovaným ftalocyaninem kobaltnatým. $U = +0,8 \text{ V}$, $c(\text{pyrol}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{CoPcTS}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$, (zvětšení: 230x).

V diplomové práci byly dále jako dopanty pro přípravu PPy vrstvy vyzkoušeny dodecylsulfát sodný (SDS) a dodecylbenzensulfonát sodný (DBS). Při polymerizaci tvořily s polypyrolem souvislou a homogenní černou vrstvu.

4.2 Separace BTEX

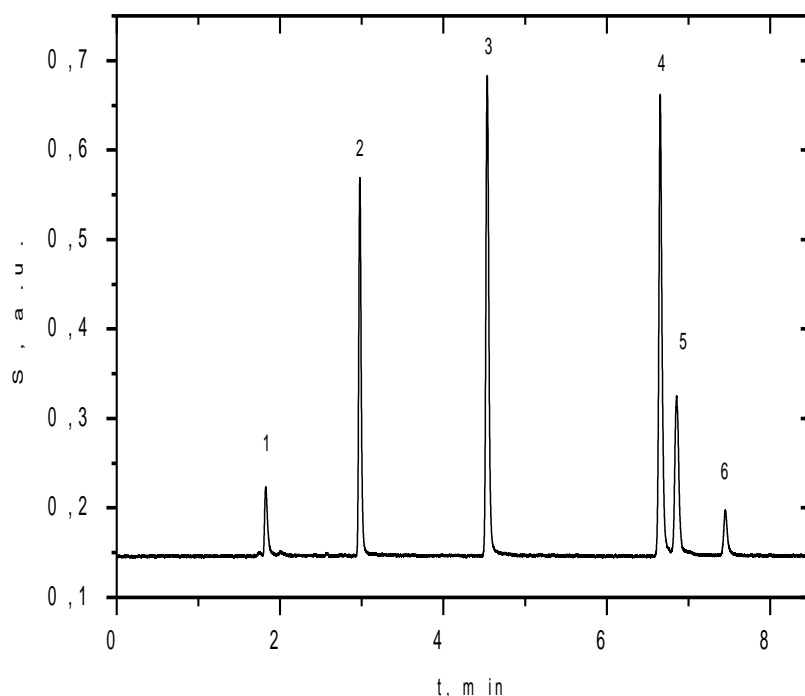
Retenční časy analytů byly zjištěny analýzou vzorku headspace nad roztokem standardů analytů ve vodě. Experimentální podmínky separace byly převzaty z práce Djozana⁸⁰. Na obr. 10 je znázorněn chromatogram headspace vzorku, ze kterého je vidět, že separace, až na m- a p-xylen, je dostačující. Z hlediska následujícího hodnocení účinnosti SPME není separace m- a p-xylenů nezbytná, a z tohoto důvodu nebylo třeba separační podmínky nijak měnit.

V tabulce 4 jsou uvedeny retenční časy jednotlivých zkoumaných analytů s jejich směrodatnými odchylkami získané při HS SPME s PPy-DBS vláknem.

Tabulka 4. Retenční časy BTEX

Sloučenina	Retenční čas (min) (n = 3)	Směrodatná odchylka (n= 3)
benzen	3,054	0,007
toluen	4,630	0,011
ethylbenzen	6,802	0,020
m + p-xylen	7,007	0,005
o-xylen	7,532	0,005

Opakovatelnost retenčních časů byla prokázána, jak plyne z této tabulky.



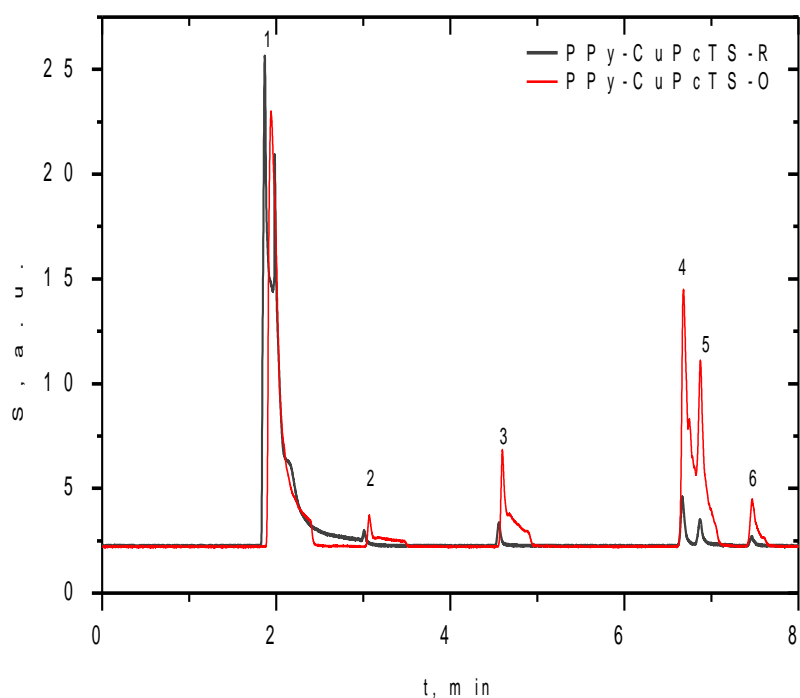
Obrázek 10. Chromatogram BTEX headspace vzorku z modelového vodného roztoku. $c(\text{B,T,E}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(\text{o, m, p-X}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $c(\text{NaCl}) = 160 \text{ g/l}$, rychlost míchání 800 rpm; Experimentální podmínky GC analýzy: teplota injektoru 200°C, teplota detektoru 300°C, teplotní program 40°C (2 min) rampa 7°C/min, 80°C (2 min), splitless 30 s, dávkování 5 μl ; 1...methanol, 2...benzen, 3...toluen, 4...ethylbenzen, 5...m + p-xylen, 6...o-xylen.

4.3. Mikroextrakce pevnou fází s využitím PPy-CuPcTS

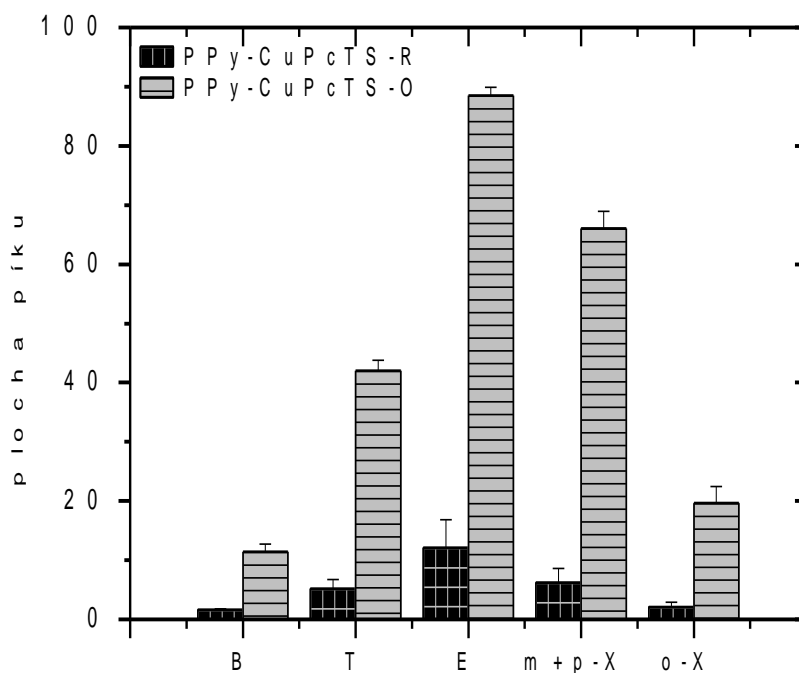
Oxidovaný film PPy-CuPcTS byl použit k HS SPME analytů z roztoku standardů. Po headspace extrakci nepolárních organických sloučenin na povrch PPy-CuPcTS bylo provedeno stanovení v plynovém chromatografu v teplotního programu 40°C (2 min), 7°C / min do 80°C (2 min).⁸⁰ Na chromatogramu (obr. 11) je ukázán příklad separace BTEX extrahovaných oxidovaným PPy-CuPcTS. Následně bylo pro stejnou extrakci za stejných podmínek použito vlákno redukováného PPy-CuPcTS a bylo zkoumáno, zda se zlepšila extrakční účinnost vůči BTEX. Na chromatogramu na obr. 11 je vidět, že redukované vlákno vytvořené z polypyrolu a ftalocyaninu měďnatého prokazuje nižší extrakční účinnost vůči BTEX než oxidované. U obou vláken se však velmi dobře extrahoval a následně desorboval methanol (methanol byl použit jako rozpouštědlo v zásobním roztoku pro nepolární organické BTEX), neboť jeho koncentrace v headspace byla řádově vyšší než ostatních látek. Dalším důvodem může být, že redukováný i oxidovaný PPy-CuPcTS mají vyšší selektivitu vůči methanolu a zřejmě i k dalším polárním těkavým sloučeninám. Podobné výsledky byly zjištěny v pracích zaměřených na plynné snímače a elektronické nosy.^{3,4} Na grafu (obr. 12) je uvedeno srovnání velikostí ploch píků pro redukováný i oxidovaný PPy-CuPcTS, z něhož je zřejmé, že efektivita u redukováného PPy-CuPcTS se desetkrát snížila oproti oxidovanému PPy-CuPcTS. Pro jednoduchost byla velikost plochy píku dále v práci použita jako veličina přímo korelující s účinností extrakce.

Stejným způsobem byl testován i PPy-NiPcTS, který poskytoval srovnatelné výsledky s PPy-CuPcTS.

Z důvodů zjištěných nízkých extrakčních účinností bylo zkoumání PPy-CuPcTS a PPy-NiPcTS ukončeno a jako dopující anionty byly dále zkoumány povrchově aktivní látky.



Obrázek 11. Chromatogram BTEX po headspace SPME extrakci z modelového vodného roztoku. $c(\text{B,T,E}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(\text{o, m, p-X}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $c(\text{NaCl}) = 160 \text{ g/l}$, čas extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s; rychlost míchání 800 rpm; R...redukované vlákno, O...oxidované vlákno; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; 1... methanol, 2... benzen, 3...toluen, 4...ethylbenzen, 5...m + p-xylen, 6...o-xylen.



Obrázek 12. Srovnání extrakčních schopností oxidovaného a redukováného PPy–CuPcTS filmu pro BTEX. c (B,T,E) = $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, c (o, m, p-X) = $10 \mu\text{g ml}^{-1}$, c (NaCl) = 160 g/l, čas extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s, rychlost míchání 800 rpm; R...reduované vlákno, O...oxidované vlákno; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; B...benzen, T...toluen, E...ethylbenzen, m + p-X...m + p–xylen, o-X...o-xylen.

4.4 Dodecylsulfát sodný a dodecylbenzensulfonát sodný

V diplomové práci byly použity jako dopanty pro PPy povrchově aktivní látky dodecylsulfát sodný (SDS) a dodecylbenzensulfonát sodný (SDBS).

SDS a SDBS jsou sloučeniny, které mají ve své molekule část nabitou a nenabitou nepolární uhlíkový řetězec. Díky tomu se může nabitá část molekuly zabudovat během elektropolymerizace do struktury PPy polymeru, zatímco nepolární část může přispět svými interakcemi k adsorpci analytů.

Na obr. 13 je vidět srovnání velikostí ploch píků jednotlivých analytů extrahovaných oxidovaným či redukovaným vláknem PPy-DS a PPy-DBS.

U oxidované a redukované formy PPy-DS nejsou vidět velké změny v extrakčních účinnostech, zatímco u PPy-DBS je možno pozorovat značné rozdíly, kdy se extrakční účinnost u redukovaného vlákna zvýšila vůči oxidovanému filmu o třetinu (u ethylbenzenu téměř o polovinu).

Mezi oxidovanými vrstvami PPy-DS a PPy-DBS je možné sledovat minimální rozdíly mezi jejich extrakčními účinnostmi. V porovnání ploch mezi oxidovanými filmy PPy-DS a PPy-DBS je malý rozdíl, ale jakmile dojde k jejich redukci, je vidět značný nárůst extrakční účinnosti u PPy-DBS.

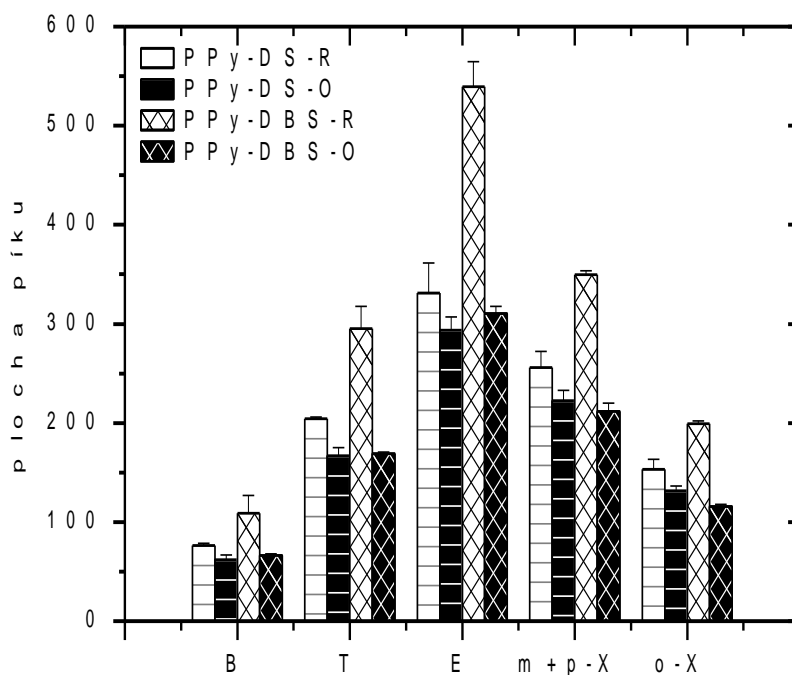
Vzhledem k tomu, že při redukci PPy mohou částečně DBS a DS opouštět matici (tj. v mělké povrchové vrstvě PPy) polymeru nelze jednoznačně určit, zda přitom dojde ke zvýšení či snížení polaroty výsledného polymeru. Skutečnost, že dojde ke zvýšení účinnosti extrakce vůči BTEX spíše ukazuje na snížení polaroty.

Tento závěr potvrzuje jeden z předpokladů, který vedl k volbě DBS jako dopujícího aniontu, a to že přítomnost DBS obsahujícího aromatický kruh, povede ke zvýšení intenzity interakce mezi aromatickými BTEX a DBS vázaném na PPy.

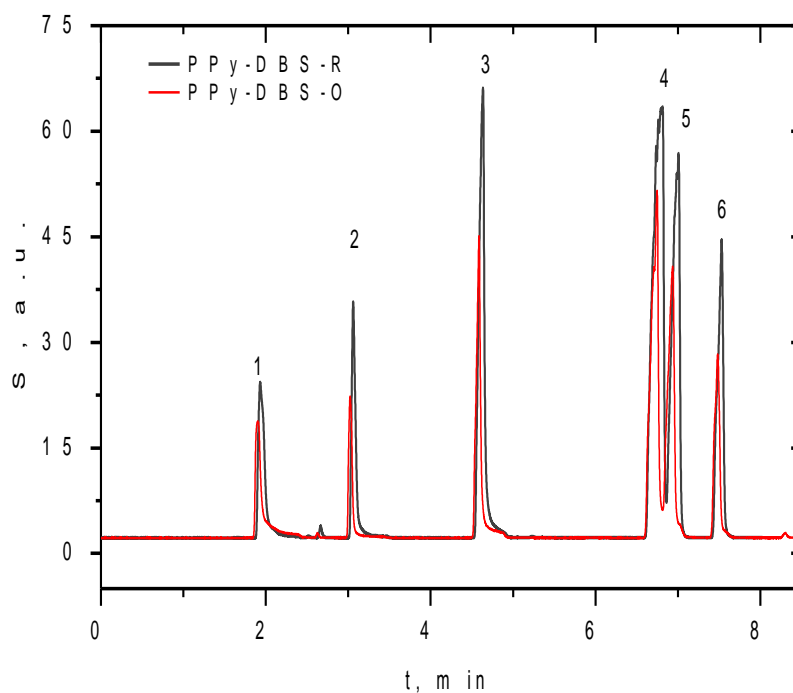
Závěrem lze říci, že redukovaný PPy-DBS vykazuje vyšší účinnost extrakce BTEX než oxidovaný, což je důsledkem jeho silnější interakce s těmito analyty.

Na obr. 14 je uvedena ukázka porovnání dvou chromatogramů PPy-DBS, kde je možno sledovat, jak se změní extrakční účinnost vůči nepolárním organickým sloučeninám BTEX mezi oxidovanou a redukovanou PPy vrstvou.

Na chromatogramu (obr. 14) je možno pozorovat, že jakmile je do PPy filmu vložen anion DBS, selektivita vzhledem k methanolu je srovnatelná s PPy-CuPcTS (obr. 11), ale vzroste jeho účinnost vůči nepolárním organickým sloučeninám. Adsorpci analytů na vlákno je tedy možné ovlivnit použitým protiiontem zabudovaným v PPy řetězci.



Obrázek 13. Srovnání účinnosti HS SPME extrakce oxidovaných a redukovaných vláken PPy-DS a PPy-DBS vůči BTEX sloučeninám. c (B,T,E) = $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, c (o, m, p-X) = $10 \mu\text{g ml}^{-1}$, c (NaCl) = 160 g/l, čas extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s, rychlost míchání 800 rpm; R...redukované vlákno, O...oxidované vlákno; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; B...benzen, T...toluen, E...ethylbenzen, m + p-X...m + p-xylen, o-X...o-xylen.



Obrázek 14. Chromatogram BTEX po HS SPME extrakci z modelového vodného roztoku. $c(\text{B,T,E}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(\text{o, m, p-X}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $c(\text{NaCl}) = 160 \text{ g/l}$, čas extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s, rychlost míchání 800 rpm; R...redukované vlákno, O...oxidované vlákno; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; 1... methanol, 2... benzen, 3... toluen, 4... ethylbenzen, 5... m + p-xylen, 6... o-xylen.

4.5 Optimalizace SPME

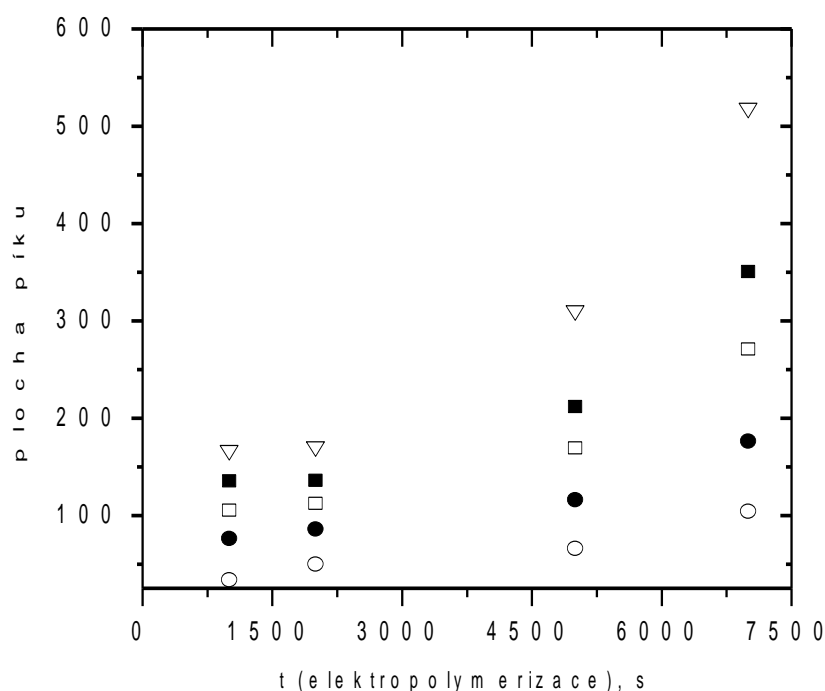
Redukovaný PPy-DBS film prokázal nejlepší extrakční účinnost vůči sloučeninám BTEX, z tohoto důvodu byla měření zaměřena na zkoumání základních parametrů jako byly vliv času elektropolymerizace, výzkum vlivu času headspace extrakce, změna koncentrace chloridu sodného a rychlost míchání.

4.5.1 Vliv času elektropolymerizace

Jak bylo uvedeno v kapitole o SPME má značný vliv na extrakční účinnost tloušťka filmu na vlákne. Těkavější analyty jsou snadněji adsorbovány na vlákno se silnější vrstvou, což je možno pozorovat i na grafu (obr. 15). Z grafu lze vyčíst, že účinnost analytů se zvyšuje s rostoucím časem polymerizace PPy filmu. Z grafu je možno vyčíst, že s rostoucím počtem atomů uhlíku v molekule stoupá i extrakční účinnost vůči analytu. Největší účinnost extrakce je prokázána u ethylbenzenu (C_8) a nejmenší u benzenu (C_6). Nízká efektivita u benzenu se dá vysvětlit jeho těkavostí a jeho nízkou distribuční konstantou. Obdobné výsledky vůči BTEX jsou pozorovatelné i u plynových sensorů používajících PPy filmy.⁴

Čas elektropolymerizace PPy byl testován při 1000, 2000, 5000 a 7000 s. Polymerizace byla provedena i v delších časových intervalech, ale PPy filmy byly nehomogenní a loupaly se, proto byl jako nejdelší čas použito 7000 s.

Jak je vidět z grafu (obr. 15) nejlepší extrakční účinnost PPy byla prokázána u vlákna s dobou elektropolymerizace 7000 s, ale z důvodů časové náročnosti byl nakonec pro následující pokusy vybrán PPy film s dobou polymerizace 5000 s.



Obrázek 15. Vliv elektropolymerizačního času PPy-DBS oxidovaného vlákna na extrakční účinnost. $c(\text{B,T,E}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(\text{o, m, p-X}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $c(\text{NaCl}) = 160 \text{ g/l}$, čas extrakce = 15 min, rychlost míchání 800 rpm; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; (○) benzen, (□) toluen, (▽) ethylbenzen, (■) m + p-xylen, (●) o-xylen.

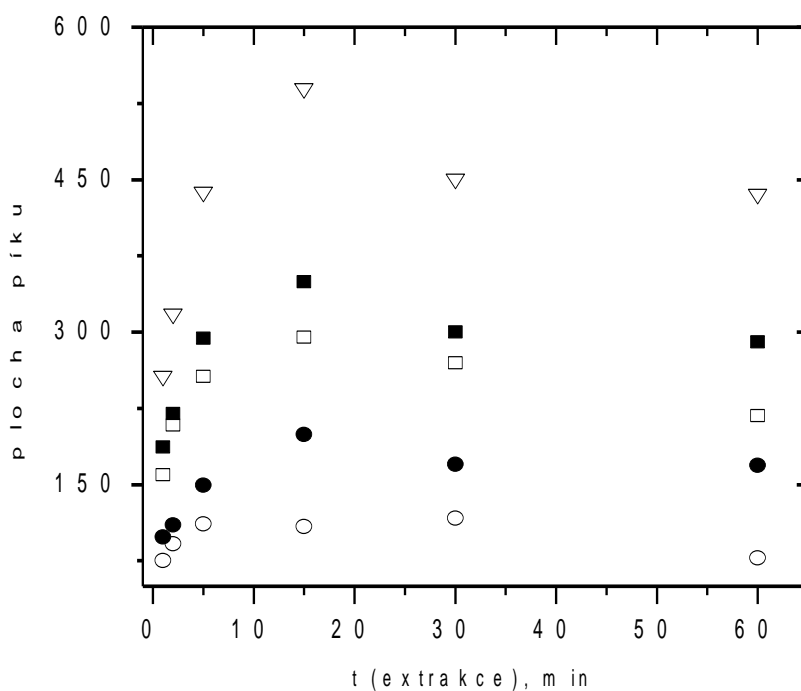
4.5.2 Vliv času headspace extrakce

Headspace extrakce byla použita z důvodů povahy zkoumaných analytů, protože všechny mají nízké molekulární hmotnosti, jsou velmi těkavé a dosahují poměrně rychle ustavení rovnováhy. Analyty mohou tedy difundovat k vláknu dostatečně rychle. Headspace extrakce probíhala v časech 1, 2, 5, 15, 30 a 60 min.

Graf na obr. 16 ukazuje závislost extrakční účinnosti na čase headspace extrakce při konstantní teplotě. Maximálních hodnot bylo dosaženo v 15-té minutě a rovnováhy bylo dosaženo po 30 min. V čase od 15 do 60 min dokonce dochází k mírnému poklesu účinnosti. Jedno z pravděpodobných vysvětlení je konkurenční sorpce, kdy dochází

k tomu, že nejméně těkavá sloučenina postupně vytěšňuje méně těkavé látky z PPy filmu.

Z výsledků měření byl jako optimální čas headspace extrakce zvolen čas 15 min, při němž bylo dosaženo maxima extrakční účinnosti BTEX sloučenin. Při těchto pokusech je tedy třeba pečlivě kontrolovat čas headspace extrakce, na rozdíl od extrakce prováděné při časech nad 30 min.



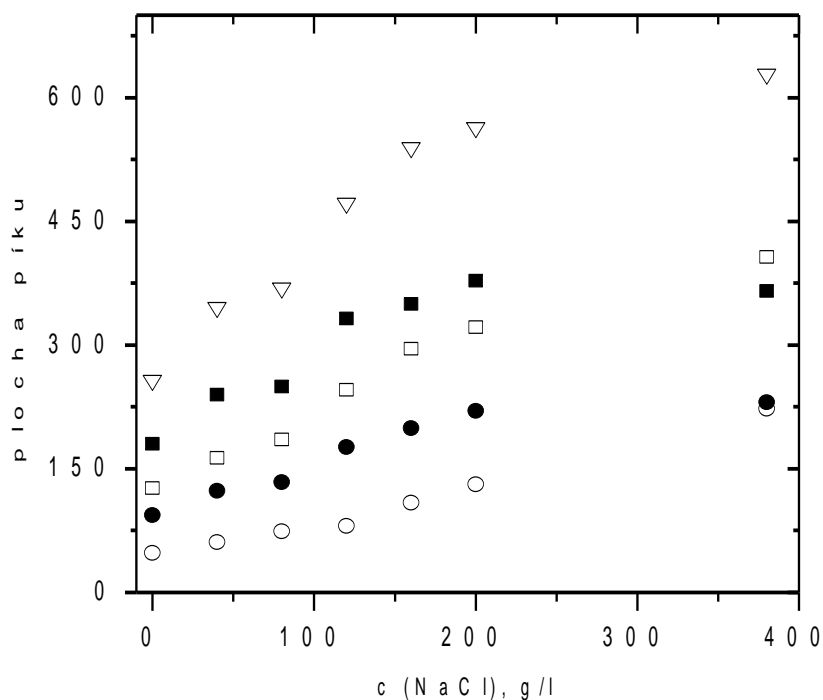
Obrázek 16. Závislost extrakční účinnosti na čase headspace extrakce. PPy-DBS redukované vlákno; $c(\text{B,T,E}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(\text{o, m, p-X}) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $c(\text{NaCl}) = 160 \text{ g/l}$, čas elektropolymerizace 5000 s, rychlost míchání 800 rpm; Experimentální podmínky u GC analýzy jako u obr. 10; (○) benzen, (□) toluen, (▽) ethylbenzen, (■) m + p-xylen, (●) o-xylen.

4.5.3 Vliv vysolování

Dalším důležitým parametrem SPME extrakce je koncentrace chloridu sodného v headspace roztoku a její vliv na sorpci BTEX. Koncentrace soli může značně ovlivnit účinnost extrakce. Přítomnost soli zvyšuje iontovou sílu vodných roztoků a tím většinou

způsobí snížení rozpustnosti organických látek.^{56,58} Vysolení (salting-out) pomáhá hlavně u neutrálních sloučenin, u nichž dojde ke snížení rozpustnosti a snadnému přestupu do headspace fáze.

Na grafu (obr. 17) je uvedena závislost HS SPME extrakční účinnosti BTEX na množství chloridu sodného ve vzorku. Z grafu je možno vyčíst, že s pravidelně rostoucí koncentrací NaCl se rovnoměrně zvyšuje adsorpční schopnost analytů. Nejvyšší extrakční účinnosti bylo dosaženo u nasyceného roztoku NaCl, ovšem u všech předchozích experimentů byla použita koncentrace NaCl 160 g/l.



Obrázek 17. Závislost extrakční účinnosti HS SPME redukovaného vlákna PPy-DBS na koncentraci chloridu sodného. $c(B,T,E) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, $c(o, m, p-X) = 10 \mu\text{g ml}^{-1}$, čas extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; (○) benzen, (□) toluen, (▽) ethylbenzen, (■) m + p-xylen, (●) o-xylen.

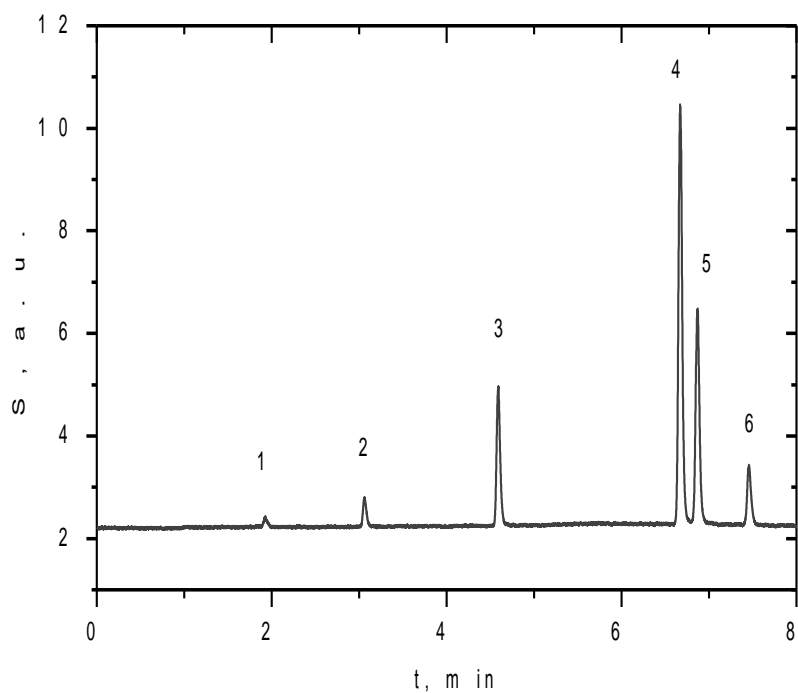
4.5.4 Vliv míchání vzorku

Při pokusech bylo zjištěno, že nejmenší vliv na extrakční účinnost PPy-DBS prokázala rychlost míchání. Míchání vzorků zlepšuje přenos hmoty ve vodné fázi a ovlivňuje tak jeho přestup do headspace. Díky tomu je ustavena rovnováha mnohem rychleji a zároveň dochází ke zlepšení transportu analytů směrem k vláknu, hlavně u látek s vyšší molekulovou hmotností.^{78,79} V tomto experimentu byly porovnány pouze dvě rychlosti 200 a 800 rpm. Pokusy prokázaly, že k žádným velkým změnám nedochází, pravděpodobně z důvodu malého headspace prostoru, proto byla pro všechny pokusy použita rychlost míchání 800 rpm.

4.6 Redukované PPy-DBS s nižší koncentrací BTEX

Jako poslední pokus byla prováděna headspace extrakce PPy-DBS redukovaným vláknem za optimálních podmínek se 100x nižší koncentrací BTEX. Výsledek je uveden na chromatogramu (obr. 18.).

Z časových důvodů nebylo možno zjistit LOD a LOQ této metody, ale z obr. 18 lze usuzovat, že dokonce i 10x nižší koncentraci by bylo zřejmě možné stanovit extrahované sloučeniny.



Obrázek 18. Chromatogram BTEX po extrakci z modelového vodního roztoku headspace SPME. PPy-DBS redukované vlákno; c (B,T,E) = $0,1 \mu\text{g ml}^{-1}$ každé sloučeniny, c (o, m, p-X) = $0,1 \mu\text{g ml}^{-1}$, c (NaCl) = 160 g/l , čas headspace extrakce = 15 min, čas elektropolymerizace 5000 s, rychlost míchání 800 rpm; Experimentální podmínky GC analýzy jako u obr. 10; 1... methanol, 2... benzen, 3... toluen, 4... ethylbenzen, 5... m + p-xylen, 6... o-xylen.

5. Závěr

Diplomová práce byla zaměřena na vývoj a testování polypyrolového filmu pro využití na prekoncentraci analytů metodou HS SPME a jejich stanovení pomocí plynové chromatografie.

Proces polymerizace byl testován na drátku z nerezové oceli, zlata a platiny. Jako nejlepším materiálem se ukázal Pt drátek, protože během čištění neměkl a na jeho povrchu bylo možno opakovaně vyloučit rovnoměrnou vrstvu PPy. Zlatý drát měl velkou nevýhodu, že byl poměrně křehký a při čištění se taval. Na nerezovém drátku se netvořila homogenní vrstva PPy.

Jako protiionty byly zkoušeny tetrasulfonovaný ftalocyanin měďnatý, nikelnatý a kobaltnatý. Nejlepšími dopanty se ukázaly CuPcTS a NiPcTS, které prokázaly obdobné vlastnosti, zatímco CoPcTS netvořil homogenní film. Dále byly jako dopanty pro přípravu PPy vrstvy vyzkoušeny dodecylsulfát sodný (SDS) a dodecylbenzensulfonát sodný (DBS). Při polymerizaci tvořily s polypyrolem souvislou a homogenní černou vrstvu.

Připraveného PPy-CuPcTS bylo použito jako stacionární fáze pro HS SPME ve spojení s plynovou chromatografií pro stanovení nepolárních organických aromatických sloučenin (BTEX).

Výsledky u PPy filmů dopovaných s CuPcTS prokázaly nízkou extrakční účinnost vůči zkoumaným analytům (BTEX), proto byla následně upravena polymerizační technika, tak, že PPy vlákna byla zredukována a byly zkoumány jejich extrakční účinnosti. Z výsledků však vyplynulo, že u redukováného vlákna PPy-CuPcTS dochází ke značnému poklesu účinnosti extrakce.

Z těchto důvodů byla diplomová práce zaměřena na přípravu PPy vrstev dopovaných dodecylsulfátem sodným a dodecylbenzensulfonátem sodným, které byly použity pro HS SPME s GC pro stanovení BTEX.

Vrstvy PPy-DBS ve srovnání s PPy-DS adsorbovaly zkoumané analyty lépe, hlavně v redukované formě, což lze vysvětlit přítomností aromatického kruhu v molekule protiiontu DBS. Z těchto důvodů byla PPy-DBS vrstva použita pro optimalizaci SPME. Při optimalizaci byly zkoumány vliv času extrakce na extrakční účinnost Py-DBS, času elektropolymerizace, koncentrace chloridu sodného apod. Jako optimální podmínky byly určeny: čas elektrochemické polymerizace PPy vrstvy byl 7000 s, čas headspace

extrakce byl 15 min, koncentrace chloridu sodného byla 380 g/l. Rychlost míchání neměla na extrakční účinnost téměř vliv.

Pro otestování schopností studované metody byla provedena analýza BTEX o koncentraci 100 ng ml^{-1} , která prokázala, že LOD leží ještě pod touto hranicí. Z tohoto hlediska lze tuto metodu označit za stopovou analýzu.

Výsledky prokázaly, že nejlepším a nejvhodnějším zkoumaným vláknem pro stanovení nepolárních organických sloučenin metodou headspace SPME je redukovaný polypyrolový film s dodecylbenzensulfonátovým aniontem (PPy-DBS), který byl připraven na platinový drátek.

U metody HS SPME-GC s použitím PPy filmů by bylo možno provést další zlepšení, např. optimalizací teploty extrakce. Zajímavé by bylo srovnání PPy filmů s komerčními vlákny, které jsem z časových důvodů již nestihla provést.

Z výsledků je vidět, že metoda HS SPME-GC s použitím PPy filmů má mnoho předpokladů stát se úspěšnou alternativou ke klasickým komerčním SPME vláknům a poskytnout tak cenné informace při analýze různých druhů analytů.

6. Seznam použité literatury

1. Wynne, K. J.; Street, G. B.:
Conducting polymers. A short review.
Industrial and Engineering Chemistry Product Research and Development. **21**,
23-28 (1982).
2. Trojanowicz, M.:
Application of conducting polymers in chemical analysis.
Microchimica Acta **143**, 75-91 (2003).
3. Topart, P.; Josowicz, M.:
Characterization of the interaction between poly(pyrrole) films and methanol
vapor.
Journal of Physical Chemistry **96**, 7824 - 7830 (1992).
4. Lin, C. W.; Liu, S. S.; Hwang, B. J.:
Study of the actions of BTEX compounds on polypyrrole film as a gas sensor.
Journal of Applied Polymer Science **82**, 954 - 961 (2001).
5. Ge, Z.; Brown, C.W.; Sun, L.; Yang, S. C.:
Fiber-optic pH sensor based on evanescent wave absorption spectroscopy
Analytical Chemistry. **65**, 2335-2340 (1993).
6. Prokeš, J.; Stejskal, J.; Omastková, M.:
Polyanilin a polypyrrol-dva představitelé vodivých polymerů.
Chemické Listy **95**, 484-492 (2001).
7. Čabala, R.:
A study of polypyrrole to vapor and gas sensing.
Doktorská disertační práce. Katedra analytické chemie UK PŘF Praha (1998).
8. Wang, J.:
Analytical Electrochemistry.
2.vyd. New York, Wiley-VCH 2000, s. 38- 60.
9. Trivedi, D. C.:
Influence of counter ion on polyaniline and polypyrrole.
Bulletin of Material Science **22**, 447-455 (1999).

10. Čabala, R.; Meister, V.; Potje-Kamloth, K.:
Effect of competitive doping on sensing properties of polypyrrole.
Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions **93**, 131-137 (1997).
11. Angeli, A.; Alessandri, L.:
Pyrrole black. Preliminary note II.
Gazzetta Chimica Italiana **46**, 283 (1916), citováno v ^{6,7}.
12. Diaz, A. F.; Kanazawa, K. K.; Gardini, G. P.:
Electrochemical polymerization of pyrrole.
Journal of the Chemical Society, Chemical Communications **373**, 635-636 (1979).
13. Kupila, E.-L.; Kankare, J.:
Influence of electrode pretreatment, counter anions and additives on the electropolymerization of pyrrole in aqueous solution.
Synthetic Metals **74**, 241 - 249 (1995).
14. Andrieux, C. P.; Audebert, P.; Hapiot, P.; Savéant, J.-M.:
Identification of the first steps of the electrochemical polymerization of pyrroles by means of fast potential step techniques.
Journal of Physical Chemistry **95**, 10158 - 10164 (1991).
15. Diaz, A. F.; Castillo, J. I.; Logan, J. A.; Lee, W.-Y.:
Electrochemistry of conducting polypyrrole films.
Journal of Electroanalytical Chemistry **129**, 115 - 132 (1981).
16. Mao, H.; Pickup, P. G.:
Ion transport in a polypyrrole-based ion-exchange polymer.
Journal of Physical Chemistry **93**, 6480-6485 (1989).
17. Wang, X.; Smela, E.:
Experimental studies of ion transport in PPy(DBS).
Journal of Physical Chemistry C **113**, 369-381 (2009).
18. Pei, Q.; Inganäs, O.:
Electrochemical applications of the bending beam method, a novel way to study ion transport in electroactive polymers.
Solid State Ionics **60**, 161-166 (1993).

19. Matencio, T.; De Paoli, M.-A.; Peres, R. C. D.; Torresi, R. M.; Cordoba de Torresi, S. I.:
Ionic exchanges in dodecylbenzenesulfonate doped polypyrrole.
Synthetic Metals **72**, 59 - 64 (1995).
20. Otero, T. F.; Grande, H.; Rodriguez, J.:
Conformational relaxation during polypyrrole oxidation: from experiment to theory.
Electrochimica Acta **41**, 1863- 1869 (1996).
21. Satoh, M.; Kaneto, K.; Yoshino, K.:
Dependences of electrical and mechanical properties of conducting polypyrrole films on conditions of electrochemical polymerization in an aqueous medium.
Synthetic Metals **14**, 289 - 296 (1986).
22. Tamm, J.; Hallik, A.; Alumaa, A.:
Electrochemical properties of dodecylsulphate doped polypyrrole films.
Synthetic Metals **55 - 57**, 1473 - 1476 (1993).
23. Masuda, H.; Asano, D. K.:
Preparation and properties of polypyrrole.
Synthetic Metals **135-136**, 43-44 (2003).
24. Velazquez Rosenthal, M.; Skotheim, T. A.; Linkous, C. A.:
Polypyrrole- phthalocyanine.
Synthetic Metals **15**, 219-227 (1986).
25. Saunders, B. R.; Murray, K. S.; Fleming, R. J.:
Physical properties of polypyrrole films containing sulfonated metallophthalocyanine anions.
Synthetic Metals **47**, 167- 178 (1992).
26. Tadros, T. F.:
Applied Surfactants: Principles and Applications.
Weinheim, Wiley-VCH Verlag 2005, s. 1-3.
27. Chester, D. A.; Christensen, P. A.; Hamnet, A.:
Anion movement and carrier type in polypyrrole/dodecyl sulfate.
Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions **89**, 303-309 (1993).

28. Funkhouser, G. P.; Arévalo, M.; Glatzhofer, D. T.; O'Rear, E. A.:
Solubilization and adsolubilization of pyrrole by sodium dodecyl sulfate:
Polypyrrole formation on alumina surfaces.
Langmuir **11**, 1443 - 1447 (1995).
29. Kim, D. Y.; Kim, J. K.; Lee, J. Y.; Rhee, H. W.; Kim, C. Y.:
Effect of electrolytes on redox reactivity of polypyrrole.
Polymers for advanced technologies **8**, 184 -188 (1997).
30. Hallik, A.; Alumaa, A.; Sammelselg, V.; Tamm, J.:
A comparison of redox processes for polypyrrole/dodecylsulfate films in
aqueous and non - aqueous media.
Journal of Solid State Electrochemistry **5**, 265 - 273 (2001).
31. Prissanaroon, W.; Brack, N.; Pilgram, P. J.; Liesegang, J.; Cardwell, T. J.:
Surface and electrochemical study of DBSA - doped polypyrrole films grown on
stainless steel.
Surface and interface analysis **33**, 653 - 662 (2002).
32. Bay, L.; Jacobsen, T.; Skaarup, S.; West, K.:
Mechanism of actuation in conducting polymers: Osmotic expansion.
Journal of Physical Chemistry B **105**, 8492-8497 (2001).
33. West, K.; Bay, L.; Nielsen, M. M.; Velmurugu, Y.; Skaarup, S.:
Electronic conductivity of polypyrrole- dodecyl benzene sulfonate complexes.
Journal of Physical Chemistry B **108**, 15001-15008 (2004).
34. Gade, V. K.; Shirale, D. J.; Gaikwad, P. D.; Kakde, K. P.; Savale, P. A.; Kharat,
H. J.; Shirsat, M. D.:
Synthesis and characterization of Ppy- PVS, Ppy - pTS and Ppy - DBS composit
films.
International Journal of Polymeric Materials **56**, 107 - 114 (2007).
35. Shafiee - Dastjerdi, L.; Alizadeh, N.:
Coated wire linear alkylbenzenesulfonate sensor based on polypyrrole and
improvement of the selectivity behavior.
Analytica Chimica Acta **505**, 195 - 200 (2004).

36. Wang, X.; Smela, E.:
Color and volume change in PPy(DBS).
Journal of Physical Chemistry C **113**, 359-368 (2009).
37. Shimoda, S.; Smela, E.:
The effect of pH on polymerization and volume change in PPy(DBS).
Electrochimica Acta **44**, 219-238 (1998).
38. Linstead, R. P.:
Phthalocyanines Part I: A new type of synthetic colouring matters.
Journal of the Chemical Society, 1016-1617 (1934).
39. Peeters, K.; De Wael, K.; Bogaert, D.; Adriaens, A.:
The electrochemical detection of 4 -chlorophenol at gold electrodes modified with different phthalocyanines.
Sensors and Actuators B **128**, 494 - 499 (2008).
40. Lee, Y.-L.; Sheu, C.-Y.; Hsiao, R.-H.:
Gas sensing characteristics of copper phthalocyanine films: effects of film thickness and sensing temperature.
Sensors and Actuators B **99**, 281 - 287 (2004).
41. Saunders, B. R.; Murray, K. S.; Fleming, R. J.; Korbatieh, Y.:
Physical and spectroscopic studies of polypyrrole films containing tetrasulfonated metallophthalocyanine counterions prepared from nonaqueous solution.
Chemistry of Materials **5**, 809 - 819 (1993).
42. Valera, H.; Bruno, R. L.; Torresi, R.:
Ionic transport in conducting polymers/ nickel tetrasulfonated phthalocyanine modified electrodes.
Polymer **44** (18), 5369-5379 (2003).
43. De Wael, K.; Adriaens, A.:
Comparison between the electrocatalytic properties of different metal ion phthalocyanines and porphyrins towards the oxidation of hydroxide.
Talanta **74**, 1562-1567 (2008).

44. Radhakrishnan, S.; Deshpande, S. D.:
Electrical properties of conducting polypyrrole films functionalized with phthalocyanine.
Materials Letters **48**, 144-150 (2001).
45. Pailleret, A.; Bedioui, F.:
N₄- Macrocyclic Metal Complexes (8.kapitola)
New York, Springer Science + Business Media 2006, s. 363-422.
46. Hatchett, D. W.; Josowicz, M.:
Composites of intrinsically conducting polymers as sensing nanomaterials.
Chemical Reviews **108**, 746 - 769 (2008).
47. Osaka, T.; Naoi, K.; Hirabayashi, T.; Nakamura, S.:
Electrocatalytic oxygen reduction at (tetrasulfonatophthalocyaninato)-cobalt incorporated polypyrrole film electrode.
Bulletin of the Chemical Society of Japan **59**, 2717 - 2722 (1986).
48. Coutanceau, C.; Rakotondrainibe, A.; Crouigneau, P.; Léger, J. M.; Lamy, C.:
Spectroscopic investigation of polymer - modified electrodes containing cobalt phthalocyanine: application to the study of oxygen reduction at such electrodes.
Journal of Electroanalytical Chemistry **386**, 173 - 182 (1995), citováno ve ⁴⁷
49. Coutanceau, C.; Crouigneau, P.; Léger, J. M.; Lamy, C.:
Mechanism of oxygen electroreduction at polypyrrole electrodes modified by cobalt phthalocyanine.
Journal of Electroanalytical Chemistry **379**, 389 - 397 (1994), citováno ve ⁴⁷
50. Chan, S.; Tachikawa, H.:
Electrochemical behavior and characterization of polypyrrole-copper phthalocyanine tetrasulfonate thin film: Cyclic voltametry and in situ Raman spectroscopic investigation.
Journal of the American Chemical Society **112**, 1757 - 1768 (1990).
51. Walton, D. J.; Hadingham, D. M.; Hall, C. E.; Viney, I. V. F.; Chyla, A.:
Competitive doping in polypyrrole.
Synthetic Metals **41-43**, 295-299 (1991).

52. Muthuraman, G.; Yoon-Bo, S.; Yoon, J.-H.; Won, M.-S.:
Simultaneous immobilization of cobalt tetrasulfonated phthalocyanine during electropolymerization of pyrrole in presence of surfactants: a study of film morphology and its conductivity.
Synthetic Metals **150**, 165 - 173 (2005).
53. Churáček, J. a kol:
Analytická separace látek.
Praha, SNTL 1990. s. 380
54. Arthur, C. L.; Pawliszyn, J.:
Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers.
Analytical Chemistry. **62**, 2145- 2148 (1990).
55. Zhang, Z.; Pawliszyn, J.:
Headspace solid- phase microextraction.
Analytical Chemistry **65**, 1843 - 1852 (1993).
56. Lord, H.; Pawliszyn, J.:
Evolution of solid- phase microextraction technology.
Journal of Chromatography A **885**, 153-193 (2000).
57. Risticovic, S.; Niri, V. H.; Vuckovic, D.; Pawliszyn, J.:
Recent developments in solid- phase microextraction.
Analytical and Bioanalytical Chemistry **393**, 781- 795 (2009).
58. Pawliszyn, J.:
Solid phase microextraction (Theory and practise).
New York, Wiley-WCH 1997.
59. Liška, I.:
Fifty years of solid- phase extraction in water analysis historical development and overview.
Journal of Chromatography A **885**, 3-16 (2000).
60. Kataoka, H.; Lord, H.; Pawliszyn, J.:
Applications of solid- phase microextraction in food analysis.
Journal of Chromatography A **880**, 35 - 62 (2000).

61. Eisert, R.; Levsen, K.:
Solid - phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water.
Journal of Chromatography A **733**, 143 - 157 (1996).
62. Louch, D.; Motlagh, S.; Pawliszyn, J.:
Dynamic of organic compound extraction from water using liquid - coated fused silica fibers.
Analytical Chemistry **64**, 1187 - 1199 (1992).
63. Motlagh, S.; Pawliszyn, J.:
On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction- gas chromatography.
Analytica Chimica Acta **284**, 265 - 273 (1993).
64. Buchholz, K. D.; Pawliszyn, J.:
Optimization of solid phase microextraction conditions for determination of phenols.
Analytical Chemistry **66**, 160- 167 (1994).
65. Magdic, S.; Boyd-Boland, A.; Jinno, K.; Pawliszyn, J.:
Analysis of organophosphorus insecticides from environmental samples using solid-phase microextraction.
Journal of Chromatography A **736**, 219-228 (1996).
66. Wu, J.; Pawliszyn, J.:
Preparation and applications of polypyrrole films in solid- phase microextraction
Journal of Chromatography A **909**, 37-52 (2001).
67. Ouyang, G.; Pawliszyn, J.:
SPME in environmental analysis.
Analytical and Bioanalytical Chemistry **386**, 1059- 1073 (2006).
68. Lambropoulou, D. A.; Konstantinou, I. K.; Albanis, T. A.:
Recent developments in headspace microextraction techniques for the analysis of environmental contaminants in different matrices.
Journal of Chromatography A **1152**, 70- 96 (2007).

69. Pragst, F.:
Application of solid - phase microextraction in analytical toxicology.
Analytical and Bioanalytical Chemistry **388**, 1393-1414 (2007).
70. Djozan, D.; Bahar, S.:
Solid - phase microextraction of aliphatic alcohols based on polyaniline coated fibers.
Chromatographia **59**, 95 - 99 (2004).
71. Li, X.; Li, C.; Chen, J.; Li, C.; Sun, C.:
Polythiophene as a novel fiber coating for solid - phase microextraction.
Journal of Chromatography A **1198-1199**, 7-13 (2008).
72. Čiuvašovaite, V.; Adomavičiute, E.; Vičkačkaite, V.:
Solid - phase microextraction of parabens by polyaniline - polypyrrole coating.
Chemija **18**, 11 - 15 (2007).
73. Wu, J.; Mullett, W. M.; Pawliszyn, J.:
Electrochemically controlled solid - phase microextraction based on conductive polypyrrole films.
Analytical Chemistry **74**, 4855 - 4859 (2002).
74. Yates, B. J.; Temsamani, K. R.; Ceylan, Ö.; Öztemiz, S.; Gbatu, T. P.; LaRue, R. A.; Tamer, U.; Mark Jr., H. B.:
Electrochemical control of solid phase micro - extraction: conducting polymer coated film material applicable for preconcentration/ analysis of neutral species.
Talanta **58**, 739 - 745 (2002).
75. Kaykhaii, M.; Saffari, F.:
Application of polypyrrole coated stainless- steel wire to the headspace solid-phase microextraction of aliphatic amines.
Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran **19**, 111-117 (2008).
76. Mehdina, A.; Ghassempour, A.; Rafati, H.; Heydari, R.:
Determination of N- vinyl - 2- pyrrolidone and N- methyl - 2- pyrrolidone in drugs using polypyrrole- based headspace solid-phase microextraction and gas chromatography- nitrogen- phosphorous detection.
Analytica Chimica Acta **587**, 82-88 (2007).

77. Shahtaheri, S. J.; Heidari, H. R.; Golbabaie, F.; Alimohammadi, M.; Rahimi Froshani, A.:
Solid phase microextraction for trace analysis of urinary benzene in environmental monitoring.
Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng. **3**, 169-176 (2006).
78. Alizadeh, N.; Zarabadipour, H.; Mohammadi, A.:
Headspace solid- phase microextraction using an electrochemically deposited dodecylsulfate- doped polypyrrole film to determine of phenolic compounds in water.
Analytica Chimica Acta **605**, 159-165 (2007).
79. Mohammadi, A.; Yamini, Y.; Alizadeh, N.:
Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid- phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons.
Journal of Chromatography A **1063**, 1-8 (2005).
80. Djozan, D.; Pournaghi-Azar, M. H.; Bahar, S.:
Modified polypyrrole with tetrasulphonated nickel phthalocyanine as a fiber for solid- phase microextraction. Application to the extraction of BTEX compounds from water samples.
Chromatographia **59**, 595-599 (2004).
81. Škarda, J.:
Polypyrrole layers doped with metallophthalocyanines for gas sensors.
Disertační práce. Katedra analytické chemie PŘF UK Praha (2001).
82. Chemistry and technology of agrochemical formulations.
Knowles, D. A. (ed.).
Springer-Verlag 1998, s. 61.
83. Handbuch der Galvanotechnik.
Dettner, Elze, Raub (ed.).
1.sv., díl 2. kap. 12.2.
Mnichov, Carl Hansel Verlag 1964,