

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Analytická chemie



Bc. Viktória Pátereková

PRÍPRAVA A CHARAKTERIZÁCIA POLYANILÍNOM  
POTIAHNUTÝCH STACIONARNÝCH FÁZ DOPOVANÝCH  
STRIEBROM

Preparation and characterization of polyaniline-coated  
stationary phases doped with silver

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Křížek, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Lukáš Taraba

Praha 2018

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne .....

.....

podpis

## Podakovanie

Podakovanie patrí môjmu školiteľovi RNDr. Tomášovi Křížkovi, Ph.D. za jeho čas a odborné rady pri tvorení tejto práce. Ďalej by som chcela poďakovať môjmu konzultantovi Mgr. Lukášovi Tarabovi za ochotu, cenné rady, nápomocnosť, čas a trpezlivosť, ktorú venoval mne a všetkým plneným kolónam.

# Abstrakt

Táto práca sa venuje príprave polyanilýnových stacionárnych fáz dopovaných striebrom s využitím pre HPLC. Boli napolymerizované polyanilínom potiahnuté stacionárne fázy s rôznym prídavkom  $\text{AgNO}_3$ . Niektoré z nich boli podrobené sedimentácii Ag, v iných bolo  $\text{AgNO}_3$  pridané až po polymerizácii. Stacionárne fázy boli skúmané elektrónovým mikroskopom, atómovou absorpčnou spektroskopiou, Ramanovou spektroskopiou a infračervenou spektroskopiou s Fourierovskými transformáciami. Kolóny naplnené pripravenými stacionárnymi fázami boli porovnané s polyanilínovou kolónou bez prídavku striebra separáciou zmesi pozostávajúcej z kofeínu, teobromínu a teofilínu v troch chromatografických módoch (NP-čistý ACN, HILIC-98/2 (v/v) ACN/voda a RP-20/80 (v/v) ACN/voda) pri prietoku  $5 \mu\text{L}/\text{min}$  s UV detekciou 265 nm a podobne separáciou zmesi 2'-aminoacetofenónu, 3'-aminoacetofenónu a 4'-aminoacetofenónu v rovnakých chromatografických módoch, pri prietoku  $5 \mu\text{L}/\text{min}$  až na mód RP, kedy bol použitý prietok  $10 \mu\text{L}/\text{min}$  na urýchlenie separácie. Polyanilínom potiahnuté kolóny dopované striebrom vykázali inú selektivitu v RP móde zmesi kofeínu, teobromínu a teofilínu oproti polyanilínom potiahnutých kolón bez prídavku striebra. Ďalej boli kolóny otestované s použitím jednoduchého chromatografického testu, ktorým boli charakterizované z hľadiska hydrofobicity/hydrofilicity a iónovo-výmenného charakteru. Tento test ukázal, že kolóny, kde bolo striebro pridané pred začiatkom polymerizácie mali, až na jednu výnimku, podobný hydrofilný charakter, väčší než kolóna bez pridaného striebra. Kolóna dopovaná striebrom po polymerizácii vykázala najväčší hydrofilný charakter, podobný silikagélovým stacionárnym fázam.

*Kľúčové slová:* HPLC, polyanilín, stacionárna fáza, striebro

# Abstract

The aim of this study is a preparation of polyaniline stationary phases doped with silver for application in HPLC. Various polyaniline coated stationary phases differing in the addition of AgNO<sub>3</sub> were polymerized. Some of them were subjected to Ag sedimentation, in others AgNO<sub>3</sub> was added after polymerization. Stationary phases were investigated by scanning electron microscopy, atomic absorption spectroscopy, Raman spectroscopy, and Fourier transformation infrared spectroscopy. Columns filled with prepared stationary phases were compared with silver-free polyaniline column by separating a mixture consisting of caffeine, theobromine and theophylline in three chromatographic modes (NP-pure ACN, HILIC-98/2 (v/v) ACN/water and RP-20/80 (v/v) ACN/water) at a flow rate of 5  $\mu$ L/min with UV detection at 265 nm and also by separating a mixture of 2'-aminoacetophenone, 3'-aminoacetophenone and 4'-aminoacetophenone in the same chromatographic modes, at a flow rate of 5  $\mu$ L/min except from RP mode where a flow rate of 10  $\mu$ L/min was used to accelerate separation. Polyaniline-coated columns doped with silver showed different selectivity in the RP mode of the mixture of caffeine, theobromine and theophylline when compared to polyaniline-coated columns without the addition of silver. Further, the columns were tested for hydrophobicity/hydrophilicity and ion exchange characteristics by simple chromatographic assay. This test showed that the columns where the silver was added prior to the start of the polymerization had, to one exception, similar hydrophilicity, greater than that of a column without silver. The column doped with silver after polymerization exhibited the greatest hydrophilic character, comparable with the silica gel stationary phases.

*Key words:* HPLC, polyaniline, stationary phase, silver

# Obsah

<b>Zoznam skratiek</b>	<b>7</b>
<b>1 Cieľ práce</b>	<b>8</b>
<b>2 Teoretická časť</b>	<b>9</b>
2.1 Kvapalinová chromatografia . . . . .	9
2.1.1 Stacionárne fázy v kvapalinovej chromatografii . . . . .	9
2.1.2 Mobilné fázy v kvapalinovej chromatografii . . . . .	10
2.1.3 Plnenie chromatografických kolón . . . . .	10
2.2 Polyanilín, jeho vlastnosti, využitie a príprava . . . . .	12
2.2.1 Využitie polyanilínu . . . . .	12
2.2.2 Príprava polyanilínu . . . . .	13
2.2.3 Štruktúry polyanilínu . . . . .	15
2.2.4 Dopovanie striebrom . . . . .	16
2.3 Charakterizácia chromatografických kolón . . . . .	19
2.3.1 FT-IR . . . . .	19
2.3.2 Ramanova spektroskopia . . . . .	19
2.4 Testovanie chromatografických kolón . . . . .	20
2.4.1 Jednoduchý chromatografický test . . . . .	20
<b>3 Experimentálna časť</b>	<b>21</b>
3.1 Použité prístroje a chemikálie . . . . .	21
3.2 Príprava kolón pre CLC . . . . .	22
3.2.1 Príprava stacionárnych fáz . . . . .	22
3.2.2 Plnenie kolóny . . . . .	23
3.3 Meranie na CLC . . . . .	24
3.3.1 Meranie zmesí CA, TB, TPH a 2AAP, 3AAP, 4AAP . . . . .	24
3.3.2 Jednoduchý chromatografický test . . . . .	25
3.4 Zistenie koncentrácie Ag v stacionárnej fáze pomocou AAS . . . . .	25

<b>4</b>	<b>Výsledky a diskusia</b>	<b>27</b>
4.1	Príprava stacionárnych fáz . . . . .	27
4.2	Meranie na CLC . . . . .	29
4.2.1	Meranie zmesí CA, TB, TPH a 2AAP, 3AAP, 4AAP . . . . .	29
4.2.2	Jednoduchý chromatografický test . . . . .	40
4.3	AAS . . . . .	41
4.4	FT-IR a Ramanova spektroskopia . . . . .	43
<b>5</b>	<b>Záver</b>	<b>46</b>
	<b>Literatúra</b>	<b>47</b>

## Zoznam skratiek

2AAP	–	2'-aminoacetofenón
3AAP	–	3'-aminoacetofenón
4AAP	–	4'-aminoacetofenón
AAS	–	atómová absorpčná spektroskopia
ACN	–	acetonitril
APS	–	peroxodisíran amónny
BTMA	–	benzyltrimetylamónny chlorid
CA	–	kofeín
CLC	–	kapilárna kvapalinová chromatografia
FT-IR	–	infračervená spektroskopia s Fourierovskou transformáciou
HILIC	–	hydrofilná interakčná chromatografia
NP	–	chromatografia na normálnej fáze
PANI	–	polyanilín
RP	–	chromatografia na obrátenej fáze
SEM	–	skenovací elektrónový mikroskop
TB	–	teobromín
TPH	–	teofilín



# 1 Cieľ práce

Cieľom tejto práce je príprava stacionárnych fáz pozostávajúcich z polyanilínom potiahnutých silikagélových častíček dopovaných striebrom, ich využitie pre HPLC a charakterizácia získaného materiálu z hľadiska fyzikálno-chemických a chromatografických vlastností.

## 2 Teoretická časť

### 2.1 Kvapalinová chromatografia

Kvapalinová chromatografia je analytická separačná metóda využívajúca ako základ separácie dvojfázové systémy, v ktorých sa proces ustaľovania distribučnej rovnováhy mnohonásobne opakuje. Jedna z použitých fáz je fyzicky stabilizovaná - nepohybuje sa a nazýva sa stacionárna fáza. Druhá fáza sa pohybuje a označuje sa mobilná fáza.

Kvapalinová chromatografia slúži na analýzu zmesí látok. Vzorky môžu byť vo forme zmesi kvapalných látok, alebo roztokov pevných látok. Umožňuje separovať nepolárne, nedisociovateľné látky a polárne, disociovateľné látky - ióny, látky organického a anorganického charakteru, nízkomolekulové aj vysokomolekulové látky. Základnou podmienkou je aby boli látky rozpustené.

V kvapalinovej chromatografii sa na separáciu látok využívajú fyzikálno-chemické deje. Je dôležité dosiahnuť dostatočne selektívny a účinný separačný systém pre analýzu zložitých zmesí látok, no hranice jednotlivých metód nie sú vždy jednoznačné a separačný mechanizmus sa môže skladať z rôznych interakcií súčasne. Ide o adsorpciu na povrchu tuhej fázy, rozdeľovanie medzi dve kvapaliny, výmenu iónov, separáciu molekúl podľa veľkostí a špecifické interakcie [1].

#### 2.1.1 Stacionárne fázy v kvapalinovej chromatografii

Stacionárne fázy v kvapalinovej chromatografii môžu pozostávať zo zín tuhého sorbentu, kvapaliny zachytenej na pevnom inertnom nosiči a bloku polymérnych materiálov. Medzi najčastejšie využívané patria anorganické materiály, ktoré zahŕňajú silikagél, grafit a metaloxidy [1, 2]. Silikagél sa vďaka jeho výhodným vlastnostiam ako dobrá mechanická odolnosť, vysoká chemická a termálna stabilita a

kontrolovateľná pórová štruktúra javí ako dobrá a zároveň je aj najpoužívanejšia stacionárna fáza pre HPLC [2].

Na dosiahnutie vysokej účinnosti kolón sa používajú také sorbenty, ktoré minimálne prispievajú k rozširovaniu elučných zón separovaných látok. Čím menšia je hodnota výškového ekvivalentu teoretickej priehradky  $H$ , tým sa dosiahne vyššia účinnosť kolóny. Z teórie chromatografie vyplýva, že na separáciu látok na tuhých sorbentoch má významný vplyv veľkosť, distribúcia a homogenita usporiadania zrn stacionárnej fázy. Najčastejšie sa používajú častice s veľkosťou 3 až 10  $\mu\text{m}$ , ale sú dostupné aj náplne s veľkosťou častíc menšou ako 2  $\mu\text{m}$  s pravidelným guľovým tvarom [1, 3].

### **2.1.2 Mobilné fázy v kvapalinovej chromatografii**

V kvapalinovej chromatografii sa používa kvapalná mobilná fáza, ktorej zloženie a vlastnosti v spolupráci so stacionárnou fázou ovplyvňujú zbrzdzenie látok v kolóne a teda aj účinnosť separácie a selektivitu separácie. Výber zloženia mobilnej fázy závisí od charakteru stacionárnej fázy a zloženia analyzovanej látky. Na klasifikáciu rozpúšťadiel v kvapalinovej chromatografii sa používajú viaceré kritériá. Mobilná fáza je charakterizovaná predovšetkým polaritou, no taktiež aj elučnou silou, viskozitou a veľkú rolu pri výbere mobilnej fázy zohráva aj toxicita [1, 3].

Zmesi organických rozpúšťadiel, vody a roztokov elektrolytov sú najčastejšie využívané mobilné fázy. Rozpúšťadlá by mali spĺňať podmienky ako čistota, nízka viskozita, chemická stálosť, schopnosť rozpúšťať stanovované látky, kompatibilita so stacionárnou fázou a kompatibilita so zvoleným typom detekcie. Mobilné fázy nesmú rozpúšťať stacionárnu fázou a reagovať s ňou, alebo so separovanými látkami [1].

### **2.1.3 Plnenie chromatografických kolón**

Materiály chromatografických kolón v HPLC musia odolávať vysokým tlakom. Kolóny sú zhotovené ako rovné rúrky s hladkým vnútorným povrchom vyrobené napríklad z nehrdzavejúcej ocele, kremeňa alebo pevného skla. Dĺžka kolón sa pre

jednotlivé druhy chromatografii líši. Najčastejšie využívaná dĺžka kolóny sa pohybuje medzi 5 a 25 cm s priemerom niekoľkých milimetrov, objemom vzorky 1 až 20  $\mu\text{L}$  a prietokom mobilnej fázy okolo 1 mL/min v závislosti od priemeru kolóny. Typy používaných kolón sú uvedené v tabuľke 1 [1, 3].

Tabuľka 1: Typické parametre používaných kolón v HPLC [3].

Typ kolóny	Vnútorý priemer	Prietok mobilnej fázy
Náplňová	3,0 až 4,5 mm	1 mL/min
Semimikronáplňová	2,5 mm	0,2 až 0,4 mL/min
Mikronáplňová	0,8 až 1,0 mm	20 až 60 $\mu\text{L}/\text{min}$
Kapilárna náplňová	0,2 až 0,5 mm	1 až 15 $\mu\text{L}/\text{min}$
Otvorená kapilára	10,0 $\mu\text{m}$	cca 1 $\mu\text{L}/\text{min}$

Napriek tomu, že existuje mnoho komerčne dostupných kapilárnych kolón pre HPLC, laboratórna príprava vlastnej, vyrobenej kolóny má pre ich finančnú nenáročnosť a možnosť prispôbiť si kolónu pre daný separačný problém, pre ktorý nie je dostupná komerčná kolóna, stále význam [4].

Plnenie analytických kolón možno jednoducho opísať ako filtráciu častíc stacionárnej fázy cez fritu, ktorá je umiestnená na výstupe kolóny. Prázdna kolóna sa pripevní k rezervoáru naplnenému požadovanou stacionárnou fázou, ktorá je tlakovaná a zachytávaná v kolóne fritou. Najčastejšie je plnenie kvapalinou. Vtedy sa do kolóny plní suspenzia umiestnená v rezervoári [4].

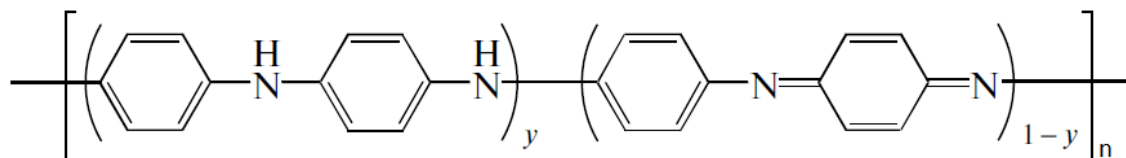
Sowa a kol. na plnenie polanilínom potiahnutej stacionárnej fázy použili HPLC kolónu z nehrdzavejúcej ocele o dĺžke 250 mm s vnútorným priemerom 2,1 mm. Pripravenú stacionárnu fázou zmiešali so zmesou metanol/dioxán/tetrachlórmetán v pomere 10:45:45 za vzniku kašičky a tú plnili plničom poháňaným plynom pri maximálnom tlaku 60 MPa [5].

Taraba a kol. na plnenie polyanilínovej stacionárnej fázy použili prázdnu kolónu pozostávajúcu z kremennej kapiláry s vnútorným priemerom 320  $\mu\text{m}$  a vonkajším

priemerom 430  $\mu\text{m}$ . Kolónu plnili po dobu 1 h pomocou 65/35 (v/v) ACN/voda pri tlaku 25 MPa pripravenou stacionárnu fázu, ktorú zmiešali s 50% metanolom, tak aby plnená koncentrácia bola 0,02 g/mL. Takto pripravenú a naplnenú kolónu následne postupne odtlakovali [6].

## 2.2 Polyanilín, jeho vlastnosti, využitie a príprava

Polyanilín (PANI) je ľahko syntetizovateľný polymér s vysokou chemickou stabilitou. Môže existovať v troch rôznych formách v závislosti na stupni protonizácii. Tieto formy majú rôznu farbu, stabilitu a vodivosť. Pernigranilín je úplne oxidovaná forma PANI, ktorej báza aj soľ sú modrej farby. Ďalšou formou PANI je emeraldín, ktorá je čiastočne oxidovaná. Jej báza je fialová a soľ zelená. PANI vo forme emeraldínovej soli je elektricky vodivý. Úplne redukovanou formou PANI je leukoemeraldín, ktorý je bezfarebný. Štruktúrny vzorec PANI je zobrazený na obrázku 1 [7, 8].



Obr. 1: Štruktúrny vzorec PANI. V závislosti od hodnoty  $y$  sa rozlišujú 3 formy PANI ( $y=0$  - pernigranilín,  $y= 0,5$  - emeraldín,  $y=1$  - pernigranilín) [7].

### 2.2.1 Využitie polyanilínu

PANI ponúka možnosť použitia v oblasti snímačov/senzorov, elektrochromizmu, superkondenzátorov a antistatických materiálov. Vďaka jednoduchej syntetizácii a vodivosti je jedným z najskúmanejších polymérov, ktorý má široké spektrum aplikácií. Pre jeho dobré elektrické, optické a chemické vlastnosti sa často využíva na modifikáciu povrchov [9]. PANI sa dá využiť aj vďaka jeho kationovo-výmennému

charakteru na odstraňovanie ťažkých kovov ako napríklad iónov  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  zo vzoriek vôd pomocou anodickej rozpúšťacej voltampérometrie s využitím PANI potiahnutej ortuťovej tenkovrstvovej elektródy [10]. Taktiež PANI potiahnuté piliny sa ukazujú ako vhodné riešenie na odstraňovanie iónov ťažkých kovov, najčastejšie  $\text{Hg}^{2+}$  z vôd a odpadkových vôd sorpciou, respektíve pohlcovaním kovov spôsobené najčastejšie tvorbou komplexov, alebo cheláciou medzi kovovými iónmi a amínovými skupinami v polyméri [11]. PANI nachádza uplatnenie aj v dobíjateľných batériách s energiou 280 Wh/kg avšak ich nevýhodou je ich nízka chemická stabilita počas dobíjania [7].

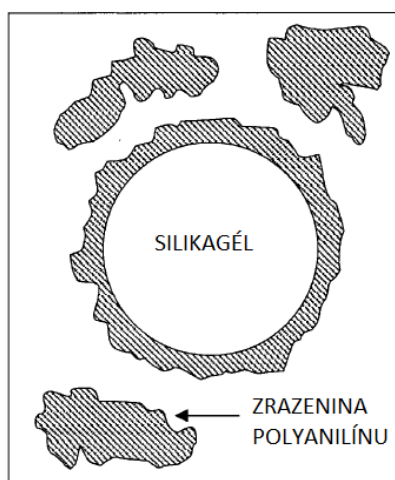
## 2.2.2 Príprava polyanilínu

PANI možno pripraviť rôznymi spôsobmi. V dostupnej literatúre sa uvádzajú chemické, elektrochemické, templátové, enzýmové, plazmové a iné metódy [7, 12, 13].

Elektrochemická polymerizácia anilínu sa vykonáva na elektróde z inertného vodivého materiálu najčastejšie vo vodných roztokoch obsahujúcich elektrolyty a kyselinu. Používajú sa potenciostatické, galvanické a potenciodynamické metódy. Výhodou elektrochemickej polymerizácie je syntéza čistého produktu, ktorý neobsahuje prímеси a nepotrebuje špeciálne postupy na jeho čistenie od nezreagovaných monomérov a iniciátorových molekúl [7].

Chemická polymerizácia anilínu za vzniku PANI v podobe emeraldínovej soli sa vykonáva vhodným oxidantom, napríklad s peroxodisíranom amónnym (APS), ktorý sa pomaly pridá k roztoku anilínu rozpustenému vo vodnom roztoku kyseliny pri  $\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Reakcia sa uskutočňuje v silne kyslom prostredí, ako je 1 M HCl pretože nízke pH podporuje spájanie anilínových monomérov. Po niekoľkých hodinách vzniká zelená zrazenina, ktorá sa zhromaždí a čistí tak, aby sa získal PANI. Je to pomerne jednoduchá príprava PANI a umožňuje aplikáciu vodivého polyméru na akýkoľvek substrát/matricu. Takto pripravený PANI je vysoko agregovaný, vykazuje zrnitú morfológiu nepravidelne tvarovaných mikrónových častíc a zvyčajne sa pozoruje rýchla sedimentácia z roztoku. V porovnaní s inými technikami prípravy sa týmto spôsobom vytvára PANI s vyššou molekulovou hmotnosťou [7, 14, 15, 16].

Prípravu silikagélu potiahnutého PANI pripraveného chemickou polymerizáciou opísali Stejskal a kol. K vodnému roztoku anilínu chloridu, ktorý obsahoval silikagél pridal APS a nechali miešať v ľadovom kúpeli po dobu 1h pri 0-2 °C. Na druhý deň sediment PANI potiahnutého silikagélu odobrali a viacnásobne redispergovali v 0,2 M HCl a následne aj v acetóne. Nakoniec vysušili. Na obrázku 2 je schematicky znázornený PANI potiahnutý silikagél . Okrem toho, že PANI pokrýva čiastočky silikagélu tenkou vrstvičkou, vytvorili sa aj zhluky PANI zrazenín [17].



Obr. 2: Silikagél potiahnutý PANI počas polymerizácie anilínu, ktorý je zároveň sprevádzaný aj tvorbou PANI zrazenín [17]. Prevzaté a upravené.

Sowa a kol. popisujú prípravu stacionárnej fázy sorbent-silikagél potiahnutý filmom PANI, ktoré využili v iónovej chromatografii. Reakčná zmes pozostávala zo silikagélu, 200 mL 0,2 M anilín chloridu, 50 mL 1 M kyseliny chlorovodíkovej a po kvapkách postupne pridávaného 0,2 M APS a bola za stáleho miešania chladená pri teplote 0-2 °C. Zmes nechali 12 h odpočívať a následne odobrali supernatant, ktorý zmiešali s 50% metanolom, prefiltrovali a premyli acetonitrilom (ACN), chloroformom a metanolom aby odstránili krátke reťazce polyméru anilínu [5].

Taraba a kol. uvádzajú podobnú prípravu PANI potiahnutých stacionárnych fáz chemickou polymerizáciou 16 mL 125 mM anilín hydrochloridu, ktorý bol zmiešaný so silikagélom. Na spustenie polymerizácie použili oxidačné činidlo 2 mL 0,5 M APS. Nakoľko je reakcia exotermická a na zabránenie vzniku nežiadúcich oligomérov s

krátkymi reťazcami, proces polymerizácie za stáleho miešania po dobu 1h, uskutočnili v ľadovom kúpeli pri  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Po tom, čo reakčnú zmes odstavili a nechali na tmavom mieste cez noc, odobrali supernatant a sediment PANI potiahnutej stacionárnej fázy redispergovali v 50% metanole, následne zmes prefiltrovali a premyli 0,2 M kyselinou chlorovodíkovou, acetónom a metanolom. Nakoniec takto pripravenú stacionárnu fázu vysušili pri  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  [6]

Matricová (templátová) polymerizácia anilínu môže byť uskutočnená za prítomnosti pevného templátu (*hard template*), alebo jemného templátu (*soft template*). Pevné templáty pozostávajú z anorganických materiálov ako napríklad z uhlíkových nanotrubic, grafitu, či anorganických oxidov na ktorých v prítomnosti anilínu a okysleného prostredia dochádza k adsorpcii monoméru, alebo radikálového anilínového katiónu na povrchu tejto matrice a následne pomocou oxidantu k oxidácii monoméru [7].

Ďalšou možnou metódou prípravy PANI je enzymatická polymerizácia anilínu pomocou oxidoreduktázových enzýmov, ktoré sú schopné oxidovať aromatické amíny v prítomnosti peroxidu vodíka [12].

Ďalej boli vyvinuté techniky ako medzifázové polymerizácie, očkovanie nanovláknien a rádiolýza, ktoré taktiež umožňujú syntézu PANI [18].

### 2.2.3 Štruktúry polyanilínu

Vlastnosti PANI, konkrétne jeho štruktúra, morfológia a redoxný stav sa môžu meniť v závislosti na spôsobe syntézy, použitej teplote, pH, type oxidantu, dopantu, koncentrácii činidiel a pomere oxidačného činidla k monoméru. Tieto parametre často určujú konečnú morfológiu polyméru [7, 15]. Takýmito rôznymi zmenami v chemickej oxidácii anilínu je možné docieľiť vznik širokých škál mikro a nanoštruktúr PANI. Vysoká citlivosť polyméru aj na nepatrné zmeny reakčných podmienok umožňuje tvorbu širokej škály mikro a nanoštruktúr PANI [15].

Boli vyvinuté viaceré metódy na prípravu nanoštruktúr PANI pomocou činidiel pridaných počas chemickej polymerizačnej reakcie, ktoré zahŕňajú povrchovo aktívne



látky, kvapalné kryštály, polyelektrolyty, semená nanovlákién, anilínové oligoméry, rôzne organické dopanty a iné [19].

Li a kol. preskúmali ako sa morfológia častíc PANI vyvíja počas tradičnej chemickej oxidačnej polymerizácie a uvádzajú, že v počiatočnom štádiu polymerizačného procesu vzorka obsahuje takmer výlučne dobre rozptýlené nanovlákná. V neskorších fázach polymerizácie sa získané nanovlákná stávajú hrubšími. Konečný reakčný produkt obsahuje prevažne nepravidelne tvarované aglomeráty. Na základe tejto skutočnosti dospeli k záveru, že kľúčom k získaniu čistých PANI vlákién je zabrániť nadmernému rastu PANI. [14].

Pillalamarri a kol. uviedli, že PANI nanovlákná je možné vyrábať ožarovaním vodných roztokov anilínu, APS a kyseliny chlorovodíkovej s  $\gamma$  lúčmi. Postup vykonali v jednej vodnej fáze [16]. Werake a kol. uviedli jednoduchú syntézu tenkého filmu PANI vlákién polymerizáciou anilínu v okyslenom prostredí vystavenú UV žiareniu a vznik fibríl po ožiarení ortuťovou výbojkou [18].

## 2.2.4 Dopovanie striebrom

V posledných niekoľkých rokoch sa stali predmetom výskumu v mnohých oblastiach nanokompozity tvorené kovovými nanočasticami dispergovanými v elektricky vodivých polyméroch, ako je napríklad aj PANI. Polyméry sa ukazujú ako dobrý hostitelia na zachytávanie nanočastočiek kovov [20]. Inkorporácia kovových nanočastíc by mohla účinne zlepšiť elektrické, optické a dielektrické vlastnosti PANI kompozitov. Tieto vlastnosti sú mimoriadne citlivé na malé zmeny v obsahu kovu a vo veľkosti a tvare nanočastíc. Samotné nanočastice by mohli pôsobiť ako vodivé spojenia medzi reťazcami PANI, ktoré viedli k zvýšeniu elektrickej vodivosti kompozitov. Nakoľko striebro vykazuje najvyššiu elektrickú a tepelnú vodivosť spomedzi všetkých kovov, kombináciou PANI so striebrom môže vytvoriť funkčné materiály, ktoré majú zaujímavé elektrické vlastnosti [21].

Existujú dve všeobecné metódy na prípravu kovovo vodivých polymérnych nanokompozitov. V praxi sa kovové nanočastice môžu distribuovať do matrice hostiteľského polyméru pomocou miešania. Ide o jednoduchý prístup, avšak je ťažké

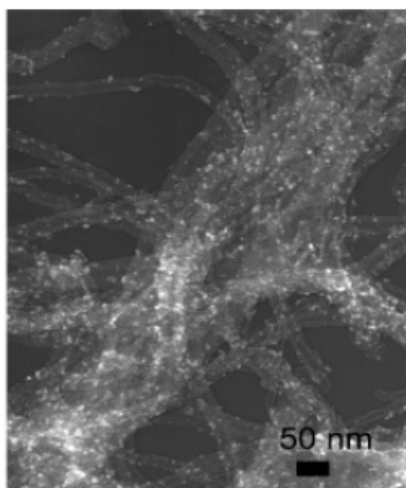
zabrániť agregácii nanočastíc. V druhom prístupe sa vytvárajú nanočastice počas polymerizácie čo vedie k rovnomernejšej distribúcii týchto častíc v polymérnej matrici. Začlenenie kovových častíc do vnútra polymérnej matrice je obtiažne a je obmedzené na nízke koncentrácie [22].

Bagheri a Banihashemi uvádzajú prípravu nanokompozitu Ag/PANI, ktorý bol syntetizovaný bez potreby templátu medzifázovou polymerizáciou v dvojfázovom vodno-organickom systéme s anilínom, ktorý bol rozpustený v organickom roztoku a s oxidantom – APS rozpusteným vo vodnom roztoku kyseliny. Následne ku vzniknutému tmavo-zelenému Ag/PANI pridali hydroxid amónny, prefiltrovali, premyli vodou, etanolom a vysušili. Ag/PANI nakoniec použili ako sorbent pre mikroextrakciu so sorbentom umiestneným v mikrostriekačke na extrakciu diuretických furosemidov zo vzoriek moču [20].

Safenz a kol. rozpustili anilín v 1 M kyseline dusičnej takisto ako aj dusičnan strieborný. Roztoky sa zmiešali, aby sa začala oxidácia pri laboratórnej teplote. Koncentrácia anilínu bola 0,4 M, molárny pomer dusičnanu striebra k anilínu bol 2:5. Reakcia bola pomalá, trvala aj niekoľko týždňov, preto bola aktivovaná UV žiarením. Na koniec PANI dopovaný striebrom v podobe zelenej pevnej látky na filtri niekoľkokrát premyli destilovanou vodou a vysušili pri laboratórnej teplote [21].

Pillalamarri a kol. opisujú techniku syntézy PANI nanofibrilov obsahujúcich čiastočky kovu – striebra s použitím 0,1 M anilínu, 0,3 M HNO<sub>3</sub>, 0,1 M AgNO<sub>3</sub> a 0,02 M APS. APS oxiduje anilín na PANI a tie pravdepodobne slúžia ako redukčné činidlá pre Ag<sup>+</sup> za vzniku kovových nanočastíc. Vzorky boli na dosiahnutie požadovanej fibrilárnej morfológie PANI ožiarené  $\gamma$  žiarením. Uvádzajú, že pridanie soli kovu k počiatočnému roztoku monoméru nemá významný vplyv na morfológiu PANI nanovláknien. Na obrázku 3 je znázornená snímka PANI dopovaného striebrom získané transmisným elektrónovým mikroskopom [23].

Bober a kol. uviedli prípravu vodivých polymérnych kryogélov oxidáciou 0,2 M hydrochloridu anilínu s 0,25 M APS v 5% vodnom roztoku polyvinylalkoholu pri teplote – 24 °C. Zodpovedajúce PANI aerogély s polyvinylalkoholom sa získali po rozmrazení kryogélov a následne ich lyofilizáciou. Aerogély obsahovali približne 58%



Obr. 3: Snímka PANI dopovaného striebrom zo zmesi 0,1 M anilín, 0,3 M  $\text{HNO}_3$ , 0,001 M  $\text{AgNO}_3$ , 0,02 M APS získaná transmisívnym elektrónovým mikroskopom [23].

PANI a 42% polyvinylalkoholu avšak obsah PANI sa môže trochu meniť v závislosti od stupňa protonizácie. Striebrum boli dopované vďaka schopnosti PANI redukovať ióny striebra po ponorení kryogélov, alebo aerogélov do roztoku dusičnanu strieborného. Kryogély boli na povrchu potiahnuté makroskopickými časticami striebra v dôsledku štruktúry uzavretých pórov v kryogéloch a obmedzenej penetrácie strieborných iónov na makropóry. Difúzia strieborných iónov na lyofilizované aerogély bola lepšia a ďalej sa zlepšila vákuovou úpravou. V póroch sa vytvorili strieborné mikrokuby, pričom hmotnostný podiel striebra v suchých kompozitoch bol okolo 13%. Vodivosť aerogélov stlačených na pelety závisí od spracovania a najvyššia hodnota bola  $0,27 \text{ S cm}^{-1}$  [24].

Ramalingam a kol. uvádzajú syntézu silikagélu pripraveného z popolu ryžových šupiek (*rice husk ash*) potiahnutého PANI a dopovaného striebrom, ktorú uskutočnili tak, že za stáleho miešania k anilínu rozpustenému vo vode pridali koncentrovanú kyselinu dusičnú, popol ryžových šupiek, dusičnan strieborný a na koniec ako oxidačné činidlo peroxid vodíka. Produkt získaný po troch hodinách prefiltrovali, premyli vodou a cez noc vysušili pri cca  $100^\circ\text{C}$ . Uvádzajú, že takto pripravená stacionárna fáza má vyššiu termálnu stabilitu než podobne pripravený čistý PANI [25].

## 2.3 Charakterizácia chromatografických kolón

Stacionárnu fázu možno charakterizovať pomocou Infračervenej spektroskopie s Fourierovskými transformáciami (FT-IR) a Ramanovej spektroskopie.

### 2.3.1 FT-IR

Metóda infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou (FT-IR) umožňuje charakterizovať vibrácie v molekulách meraním absorpcie svetla určitých energií, ktoré zodpovedajú vibračnej excitácii molekúl z nižších a vyšších stavov. Základom FT-IR spektrometru je Michelsonov interferometer pozostávajúci zo zdroja, deliča lúča, posuvných mechanizmov, fixného a pohyblivého zrkadla. Žiarenie zo zdroju dopadne na polopriepustný delič lúčov. Polovica lúčov prejde k pohyblivému zrkadlu a polovica sa odrazí k pevnému zrkadlu. Lúče sa od oboch zrkadiel odrážajú a v mieste deliča lúčov sa buď sčítajú, alebo odčítajú. Dochádza k interferencii. Odtiaľ sa časť lúčov vracia späť k zdroju a časť sa nasmeruje k detektoru, kde sa meria intenzita žiarenia ako funkcia rozdielu optických dráh lúčov a tento signál nazývaný interferogram sa spracuje Fourierovskými transformáciami na absorpčné infračervené spektrum [1, 26].

### 2.3.2 Ramanova spektroskopia

Základom Ramanovej spektrometrie je meranie rozptýleného žiarenia, ktoré vzniká interakciou monochromatického žiarenia z viditeľnej až blízkej interferenčnej oblasti spektra s molekulami skúmanej vzorky za súčasnej zmeny ich vibračných a rotačných stavov. V Ramanovej spektroskopii sa vzorka osvetľuje monochromatickým laserovým lúčom, ktorý interaguje s molekulami vzorky a vzniká rozptýlené svetlo. Veľká časť rozptýleného žiarenia má frekvenciu, ktorá sa rovná frekvencii dopadajúceho žiarenia a predstavuje Rayleighov rozptyl. Malá časť rozptýleného žiarenia má frekvenciu odlišnú od frekvencie dopadajúceho žiarenia a predstavuje Ramanov rozptyl. Ak je frekvencia dopadajúceho žiarenia vyššia ako frekvencia

rozptýleného žiarenia, hovoríme o Stokesovom posune a v Ramanovom spektre sa objavia Stokesove čiary. A ak je frekvencia dopadajúceho žiarenia nižšia ako frekvencia rozptýleného žiarenia, hovoríme o Anti-Stokesovom posune a v Ramanovom spektre sa objavia Anti-Stokesove čiary. V praxi sa na meranie využíva Ramanov spektrometer, v ktorom je vzorka osvietená laserovým lúčom. Rozptýlené svetlo prechádza cez filter, kde sa odstráni žiarenie o rovnakej vlnovej dĺžke ako má laserový lúč a ponechá sa žiarenie so Stokesovským posunom, ktoré následne prechádza difrakčným monochromátorom, ktorý rozdelí žiarenie podľa vlnových dĺžok a preniká do analyzátoru, kde sa prevedie na signál. Výsledkom je graf zobrazujúci intenzitu žiarenia pri každej vlnovej dĺžke [1, 27].

## 2.4 Testovanie chromatografických kolón

### 2.4.1 Jednoduchý chromatografický test

Na otestovanie stacionárnych fáz je možné použiť jednoduché chromatografické testy. Ibrahim a kol. navrhli test, kde s použitím mobilnej fázy pozostávajúcej zo zmesi ACN/25 mM octan amónny s pH 6,8 v pomere 80/20 (v/v) a zmeraním látok uracilu, cytozínu a benzyltrimetylamónium chloridu (BTMA) charakterizuje danú stacionárnu fázu z hľadiska hydrofilicity/hydrofobicity a jej iónovo výmenného charakteru [28]. Na vodorovnej osi je vynesena selektivita látok cytozínu a uracilu, získaná pomerom retenčných faktorov týchto látok ktorá vyjadruje hydrofilicitu/hydrofobicitu. S narastajúcou hodnotou na tejto osi rastie hydrofilicita a naopak s klesajúcou hodnotou rastie hydrofobicita. Hodnoty na zvislej osi znázorňujú selektivitu látok BTMA a cytozínu. Táto os predstavuje iónovo výmenný charakter danej stacionárnej fázy. Čím je vyššia táto hodnota, tým má daná stacionárna fáza väčší kationový výmenný charakter a naopak, čím je hodnota nižšia, tým má väčší aniónový výmenný charakter [28, 29].

## 3 Experimentálna časť

### 3.1 Použité prístroje a chemikálie

Pri práci boli použité nasledujúce chemikálie: anilín ( $\geq 99,5\%$ , MERCK, USA), kyselina dusičná (65%, Lach-Ner, ČR), peroxidisíran amónny ( $\geq 98\%$ , MERCK, USA), dusičnan strieborný (99,8%, PENTA, ČR), acetonitril ( $\geq 99,9\%$ , MERCK, USA), metanol (99,99%, Fischer Scientific, UK), kofeín (99%, MERCK, USA), teobromín ( $\geq 99\%$ , MERCK, USA), teofilín ( $\geq 99\%$ , MERCK, USA), 2'-aminoacetofenón (98%, MERCK, USA), 3'-aminoacetofenón (97%, MERCK, USA), 4'-aminoacetofenón (99%, MERCK, USA), cytozín ( $\geq 99\%$ , MERCK, USA), uracil (99%, MERCK, USA), benzyltrimetylamónny chlorid (97%, MERCK, USA), octan amónny ( $\geq 98\%$ , Lach-Ner, ČR), hydroxid amónny (25%, Lach-Ner, ČR), deionizované voda prečistená so systémom čistenia vody (Premier MFG'D, USA).

Pri práci boli použité nasledujúce materiály: sférický silikagél (Hypersil 5  $\mu\text{m}$ , Shandon Southern Products UK), neupravená kremenná kapilára (vonkajší priemer 430  $\mu\text{m}$ , vnútorný priemer 320  $\mu\text{m}$ , MERCK, USA), trubička PEEK (vonkajší priemer 1,59 mm, vnútorný priemer 508  $\mu\text{m}$ , MERCK, USA), teflonová trubička, spojka PEEK (vnútorný priemer 1,59 mm, VICI Jour, Švajčiarsko), ručný kompaktný šrób PEEK (vnútorný priemer 1,59 mm, VICI Jour, Švajčiarsko), nerezová fritá (polomer 1,59 mm, hrúbka 0,75 mm, VICI Jour, Švajčiarsko), nylonový filter (porozita 0,45  $\mu\text{m}$ , Whatman, UK).

Pri práci boli použité nasledujúce prístroje: HPLC s UV-VIS detektorom (Agilent 1200 Series, Nemecko) a na vyhodnotenie 3D HPLC Chem Station Software (Agilent Technologies, Nemecko), ultrazvukový kúpeľ (Elmasonic S15, Nemecko), pH meter (P-lab, 3540 pH&conductivity Meter, ČR), analytické váhy (Precisa Instrument AGDietkon-CH, USA), atómový absorpčný spektrometer (ContraAA 700, Nemecko), plnič kolón (D Series Syringe Pumps Model 100 DM, USA).

## 3.2 Príprava kolón pre CLC

### 3.2.1 Príprava stacionárnych fáz

Príprava stacionárnych fáz pre kapilárnu kvapalinovú chromatografiu (CLC) bola uskutočnená poťahovaním silikagélu PANI pripraveným chemickou polymerizáciou anilínu a následným dopovaním striebrom.

Do kadičky o objeme 25 mL bolo vždy navážených 250 mg silikagélu, ku ktorému bol pridaný 1 mL deionizovanej vody a sonifikovaný po dobu 5 minút. Následne bol pridaný 1 mL roztoku 1 M anilínu a 1 M kyseliny dusičnej, 0,5-1,0 mL 1 M dusičnanu strieborného (alebo v pevnej forme 0,17 g dusičnanu strieborného), deionizovaná voda tak, aby bol celkový objem polymerizačnej zmesi 10 mL a nakoniec za stáleho miešania roztoku v ľadovom kúpeli, 1,25 mL 1M APS, ktorý spustil polymerizáciu. Polymerizácia bola uskutočnená v ľadovom kúpeli pri  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby sa predišlo tvorbe nežiadúcich krátkych reťazcov anilínových oligomérov. Jednotlivé polymerizačné zmesi takto pripravených stacionárnych fáz, ktoré sa od seba malými zmenami líšili sú uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2: Zloženie polymerizačných zmesí jednotlivých kolón naplnených pripravenými stacionárnymi fázami.

	Anilín [mol/L]	HNO <sub>3</sub> [mol/L]	AgNO <sub>3</sub> [mol/L]	APS [mol/L]	Poznámka
<b>K1</b>	0,1	0,1	0,1	0,125	–
<b>K2</b>	0,1	0,1	0,1	0,125	Sedimentácia Ag
<b>K3</b>	0,1	0,1	0,05	0,125	Sedimentácia Ag
<b>K4</b>	0,1	0,1	0,1	0,125	Ag - po polymerizácii
<b>K5</b>	0,1	0,1	0,1	0,125	–

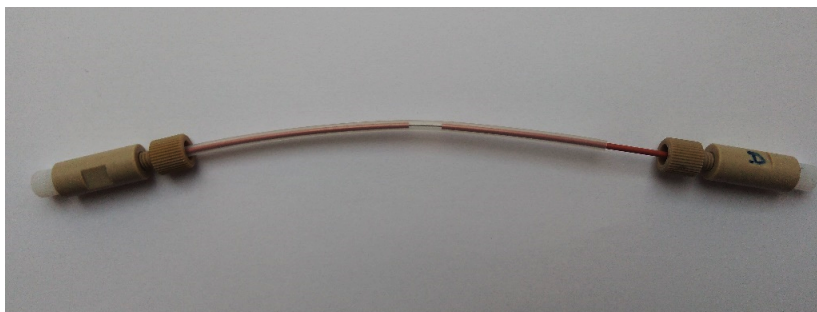
Po 1 hodine bola polymerizačná zmes odstavená od stáleho miešania z ľadového kúpeľa, prikrytá tesniacou fóliou a nechaná odpočívať cez noc. Na druhý deň bol

odobratý supernatant a sediment stacionárnej fázy zmiešaný s 20 mL 50/50 (v/v) metanol/voda a sonifikovaný po dobu 5 minút. Následne bola stacionárna fáza prefiltrovaná cez 0,45  $\mu\text{m}$  polyvinylidifluoridový filter, a premytá 30 mL roztokmi 0,2 M kyseliny dusičnej, acetónom, metanolom a deionizovanou vodou aby sa odstránili oligoméry s krátkymi reťazcami. Na záver bola stacionárna fáza vysušená pri teplote 60 °C.

S niektorými stacionárnymi fázami bola vykonaná sedimentácia Ag tak, že daná stacionárna fáza bola prenesená do 50 mL kadičky a rozdisperovaná vo vode. Po niekoľkých minútach sa čistočky striebra, ktoré klesali pomalšie na dno oddelili od čistočiek PANI potiahnutého silikagélu, ktoré klesali na dno rýchlejšie. Vrchná vrstva zmesi obsahujúca z väčšej časti čistočky striebra bola odobratá pomocou injekčnej striekačky. Následne bola takto upravená stacionárna fáza prefiltrovaná cez 0,45  $\mu\text{m}$  polyvinylidifluoridový filter, a vysušená pri teplote 60 °C.

### 3.2.2 Plnenie kolóny

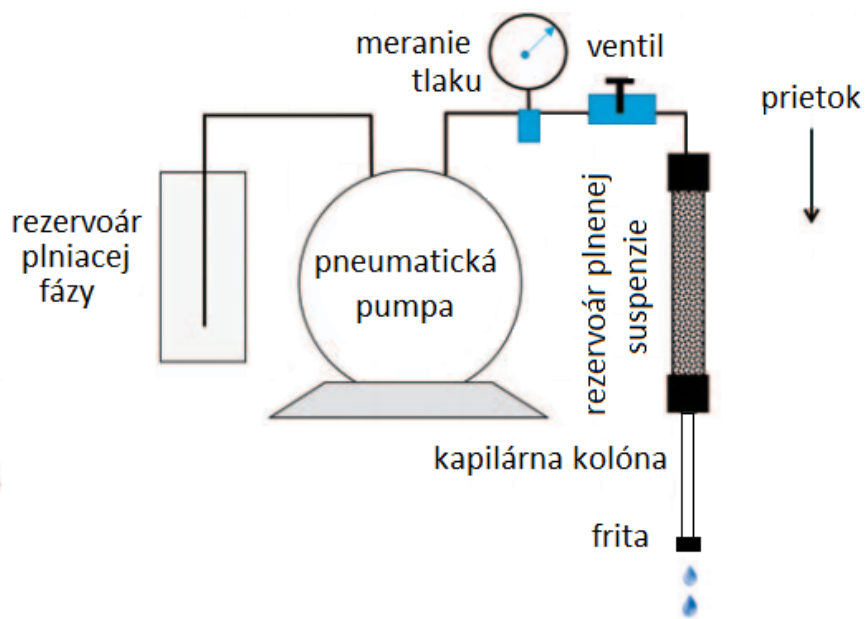
Bola pripravená prázdna kremenná kapilára o dĺžke 17,0 cm s vnútorným priemerom 320  $\mu\text{m}$  a vonkajším 430  $\mu\text{m}$ , ktorá bola vsadená do dvoch trubičiek PEEK o dĺžke 2×8 cm a následne do teflónovej trubičky o dĺžke 11 cm. Kapilára bola spojená so spojkou PEEK pomocou šróbikov PEEK. Na výstupe pripravenej kolóny bola umiestnená nerezová fritá. Pripravená kolóna je znázornená na obrázku 4.



Obr. 4: Kolóna pripravená na plnenie stacionárnou fázou.



Pripravená stacionárna fáza o množstve 27 mg bola zmiešaná a redisperovaná s 1,8 ml 50/50 (v/v) metanol/voda. Táto plniaca zmes o koncentrácii 15 mg/mL bola naplnená do plniaceho rezervoáru plniča kolón a plnená do kolóny pod tlakom 25 MPa s 65/35 (v/v) ACN/voda po dobu 1h. Schéma pre plnenie kolóny je znázornená na obrázku 5. Naplnená kolóna bola postupne odtlakovávaná a následne pripojená ku kapilárnemu chromatografu.



Obr. 5: Schéma plnenia kolón. Prevzaté a upravené [30].

### 3.3 Meranie na CLC

#### 3.3.1 Meranie zmesí CA, TB, TPH a 2AAP, 3AAP, 4AAP

Toto meranie bolo uskutočnené na porovnanie pripravených PANI potiahnutých silikagélových stacionárnych fáz dopovaných striebrom a PANI potiahnutých silikagélových stacionárnych fáz bez prídavku striebra, ktoré uskutočnili Taraba a Křížek [31].

Naplnené kolóny boli pripojené k CLC a pomocou nej boli zmerané retencie látok zmesi kofeín (CA), teobromín (TB) a teofilín (TPH) a zmesi

2'-aminoacetofenón (2AAP), 3'-aminoacetofenón (3AAP) a 4'-aminoacetofenón (4AAP) v rôznych chromatografických módoch a tak zistená selektivita jednotlivých kolón. V normálnych fázach (NP) bol použitý čistý 100% ACN. V systéme hydrofóbnej interakčnej chromatografie (HILIC) bola ako mobilná fáza použitá zmes 98/2 (v/v) ACN/voda a v reverzných fázach (RP) bola použitá zmes 20/80 (v/v) ACN/voda. Dávkovanie vzoriek bolo 0,1  $\mu\text{L}$ . Prietok pre zmes CA, TB a TPH bol vo všetkých fázach nastavený na 5  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Pre zmes 2AAP, 3AAP a 4AAP bol prietok v NP a HILIC 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  a v RP 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Meranie prebiehala pri teplote 25 °C. Bola použitá UV detekcia látok pri 265 nm pre zmes CA, TB a TPH a pri 230 nm pre zmes 2AAP, 3AAP a 4AAP.

### 3.3.2 Jednoduchý chromatografický test

S jednotlivými kolónami bol vykonaný jednoduchý chromatografický test naväzujúci na Ibrahima a kol. [28] a Wanga a kol. [29].

S mobilnou fázou, ktorá pozostávala zo zmesi ACN/25 mM octan amónny s pH 6,8 v pomere 80/20 (v/v) boli zmerané látky uracil, cytozín a BTMA v pripravených kolónach naplnených danými stacionárnymi fázami. Meranie prebiehalo pri prietoku 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  a teplote 25 °C. Bola použitá UV detekcia látok pri 254 nm.

## 3.4 Zistenie koncentrácie Ag v stacionárnej fáze pomocou AAS

Bola odobratá vzorka príslušnej pripravenej stacionárnej fázy o množstve 10 mg, ktorá bola prenesená do eppendorfky a k nej bol pridaný 1 mL koncentrovanej  $\text{HNO}_3$  a nechala sa pretrepávať 20 minút. Následne bola prenesená do 25 mL odmernej banky a doplnená deionizovanou vodou. Vzorka bola prefiltrovaná cez 0,45  $\mu\text{m}$  polyvinylidfluoridový filter kvôli odstráneniu častočiek zbytkového silikagélu. Takto pripravená vzorka z príslušnej stacionárnej fázy vždy slúžila ako zásobný roztok a pomocou AAS metódou prídavku štandardu roztoku príslušného

množstva  $\text{Ag}^+$  o koncentrácii 0,0093 mol/L sa zisťovala koncentrácia striebra v danej stacionárnej fáze. Zisťovanie koncentrácie Ag v daných stacionárnych fázach bolo uskutočnené dva krát vrátane prípravy vzoriek. Prídavky štandardu a zmerané absorbancie sú uvedené v tabuľke 3. Merania prebiehali za použitia plameňa acetylén/vzduch.

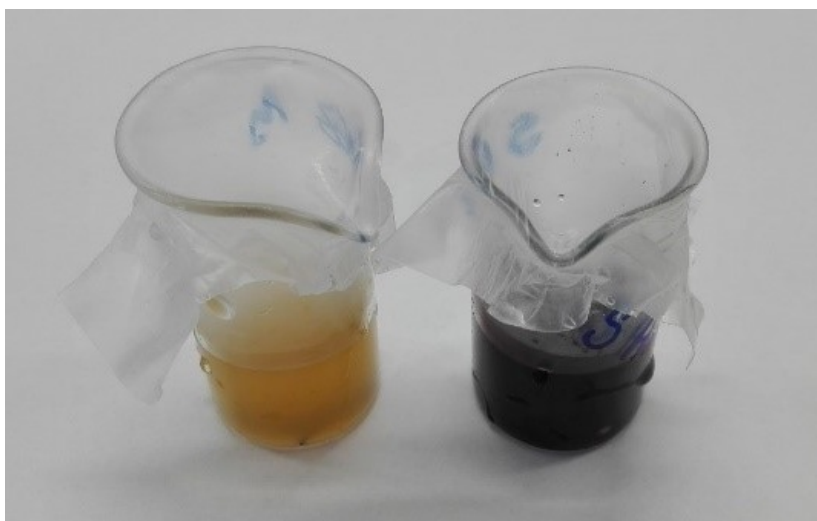
Tabuľka 3: K zásobnému roztoku zriedenému 10 krát bol pridaný príslušný objem štandardu 0,0093 mol/L  $\text{Ag}^+$  a boli zmerané hodnoty absorbancie. Príprava štandardov a meranie prebehlo dva krát.

Vzorka		$V_{\text{Ag}^+}$ [ $\mu\text{L}$ ]	meranie 1	meranie 2
			A [mAU]	A [mAU]
<b>K2</b>	0,1 M $\text{AgNO}_3$ , sedimentácia Ag	0	0,001	0,004
		10	0,048	0,041
		20	0,084	0,074
<b>K3</b>	0,05 M $\text{AgNO}_3$ , sedimentácia Ag	0	0,010	0,004
		10	0,051	0,042
		20	0,088	0,103
<b>K4</b>	0,1 M $\text{AgNO}_3$ , Ag - po polymerizácii	0	0,271	0,302
		110	0,527	0,496
		220	0,691	0,680
<b>K5</b>	0,1 M $\text{AgNO}_3$	0	0,291	0,360
		110	0,519	0,587
		220	0,722	0,685

## 4 Výsledky a diskusia

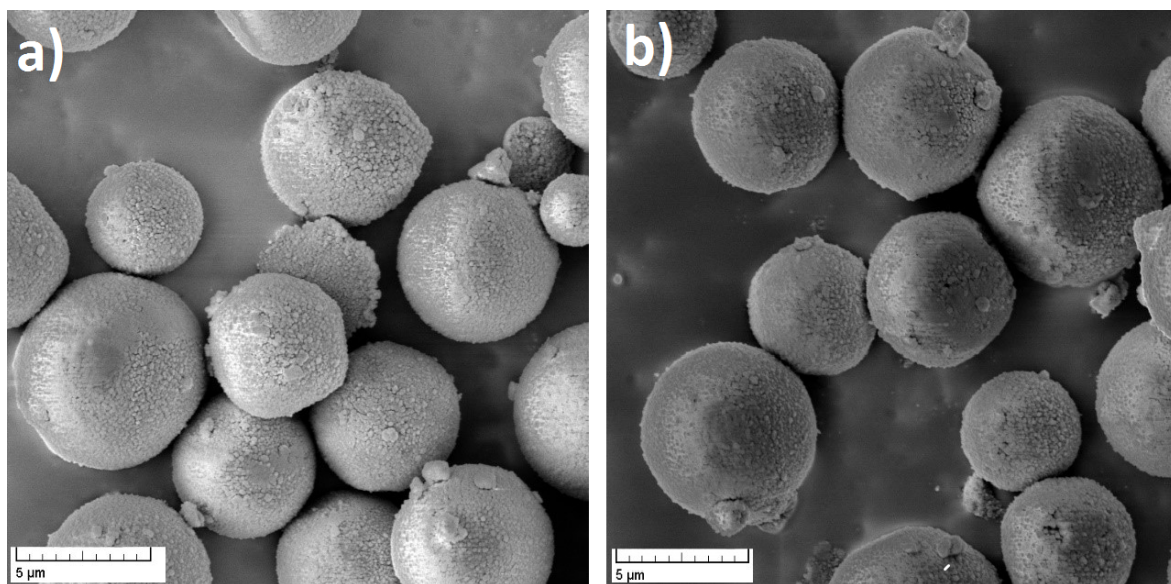
### 4.1 Príprava stacionárnych fáz

Pri oxidačnej polymerizácii anilínu, kde polymerizačná zmes neobsahovala pridaný dusičnan strieborný, sa roztok po 5 minútach od prídania APS zmenil na žltý a postupom času prechádzal do hnedej. Po 30 minútach bol roztok tmavohnedej až bordovej farby až nakoniec po 1 hodine zostal roztok tmavozelený. To sa pravdepodobne deje v dôsledku prechodu cez vyššie spomenuté rôznofarebné formy PANI až k záverečnej tmavozelenej forme – emeraldínovej soli. Pri roztoku, ktorý dusičnan strieborný obsahoval došlo ihneď po začiatku polymerizácie prídavkom APS k náhlejšej zmene sfarbenia polymerizačného roztoku do 5 minút do tmavo zelenej farby. Táto náhla zmena je pravdepodobne spôsobená tým, že strieborné ióny pôsobia ako katalyzátor a určitým spôsobom mení mechanizmus polymerizácie. Na obrázku 6 sú zaznamenané polymerizačné roztoky s prídavkom a bez prídavku dusičnanu strieborného po 5 minútach od začiatku polymerizácie.

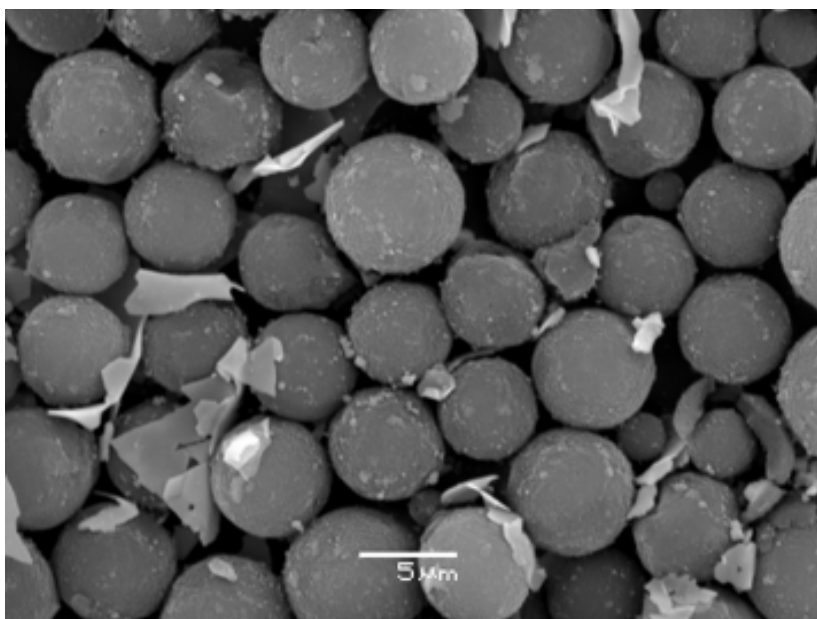


Obr. 6: Polymerizačné roztoky po 5 minútach od odštartovania polymerizácie: vľavo bez prídavku  $\text{AgNO}_3$  a v pravo s prídavkom  $\text{AgNO}_3$ .

Boli zhotovené snímky pripravených stacionárnych fáz pomocou skenovacieho elektrónového mikroskopu (SEM) stacionárne fázy K2 s pridaným obsahom 0,1 M  $\text{AgNO}_3$  v polymerizačnej zmesi, K3 s pridaným obsahom 0,05 M  $\text{AgNO}_3$ . Obe vzorky boli po uskutočnenej sedimentácii Ag. Snímky sú zobrazené na obrázku 7. Na SEM snímkach možno pozorovať PANI potiahnuté čiastočky silikagélu. Okrem toho pomimo i zhluky PANI. Prítomnosť striebra pomocou elektrónového mikroskopu nemožno preukázať. Bola zhotovená aj snímka SEM stacionárnej fázy s pridaným obsahom 0,1 M  $\text{AgNO}_3$  po polymerizácii zobrazená na obrázku 8. Na tejto snímke možno pozorovať PANI potiahnuté čiastočky silikagélu a medzi nimi šupinky striebra.



Obr. 7: SEM snímky stacionárnych fáz zväčšené  $10000\times$  a) K2: 0,1M  $\text{AgNO}_3$  po sedimentácii Ag a b) K3: 0,05 M  $\text{AgNO}_3$  po sedimentácii Ag.



Obr. 8: SEM snímka stacionárnej fázy obsahujúcej 0,1 M  $\text{AgNO}_3$  pridané po polymerizácii

## 4.2 Meranie na CLC

### 4.2.1 Meranie zmesí CA, TB, TPH a 2AAP, 3AAP, 4AAP

Boli získané chromatogramy zmesi CA, TB, TPH a zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP pre kolóny K1, K2, K3, K4 a K5 v chromatografických módoch NP, HILIC a RP, ktoré sú na obrázkoch 9, 10, 11, 12 a 13. Na porovnanie je k jednotlivým chromatogramom pridaný aj chromatogram označený ako a) a predstavuje separácie uskutočnené na kolóne  $\text{PANI-SiO}_2$  bez pridaného striebra uvedené v článku od Tarabu a Křížka [31]. Chromatografické parametre pre uskutočnené separácie zaznamenávajú tabuľky 4 a 5.

Tabuľka 4: Chromatografické parametre separácie zmesi CA, TB, TPH v kolónach K1, K2, K3, K4, K5 v rôznych chromatografických módoch.  $t_R$  - retenčný čas,  $A_S$  - symetria píku,  $N$  - počet teoretických priehradiek,  $R$  - rozlíšenie píkov.

Mobilná fáza		NP			HILIC			RP					
Látka	Kolóna	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$
CA	K1	5,58	0,56	234		5,01	0,57	298		7,89	0,58	44	1,26
	K2	4,91	0,59	404		4,29	0,61	468		6,45	0,48	25	0,68
	K3	4,49	0,80	171		4,18	0,71	217		5,59	0,56	26	0,70
	K4	5,53	0,49	188		4,92		178		11,69	0,66	34	1,44
	K5	5,71	0,55	120		5,25	0,66	127		9,65	0,69	23	0,80
TB	K1	9,27	0,56	227	1,88	7,00	0,90	489	1,64	4,66	0,58	40	
	K2	8,35		688	3,06	6,33	0,58	254	1,71	4,35		43	
	K3	4,49	0,80	171		4,18	0,71	217		3,06	0,50	25	
	K4	9,79	0,42	107	1,58	6,50	0,50	111	0,80	6,35		41	
	K5	10,23	0,61	132	1,61	7,30	0,00	258	1,11	5,47	0,80	28	
TPH	K1	12,91	0,58	186	2,65	7,82	0,48	278	0,52	5,83	0,56	35	0,88
	K2	9,17	0,37	180	2,49	6,33	0,58	254		5,07	0,60	29	0,55
	K3	4,49	0,80	172	1,64	4,18	0,71	217		4,37	0,68	28	1,01
	K4	36,03	0,64	76	3,06	13,22	0,43	87	1,65	7,77	0,58	32	0,76
	K5	14,85	0,53	1	0,32	8,17	0,34	108	0,35	6,92	0,62	22	0,61

Tabuľka 5: Chromatografické parametre separácie zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP v kolónach K1, K2, K3, K4, K5 v rôznych chromatografických módoch.  $t_R$  - retenčný čas,  $A_S$  - symetria píku,  $N$  - počet teoretických priehradiek,  $R$  - rozlíšenie píkov.

Mobilná fáza		NP					HILIC					RP				
Látka	Kolóna	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$	$t_R$ [min]	$A_S$	$N$	$R$			
<b>2AAP</b>	K1	2,74	0,60	586		2,56	0,39	170		10,28	0,51	51	2,05			
	K2	2,72	0,84	0	0,04	2,50	0,40	180		10,98	0,54	43	1,95			
	K3	3,29	0,39	56		3,05	0,33	116		12,13	0,50	43	1,39			
	K4	3,15	0,45	126		2,96	0,35	109		6,56	0,58	34	1,41			
	K5	3,20	0,65	98	1,01	2,88	0,28	90		13,67	0,52	32	1,78			
<b>3AAP</b>	K1	2,74	0,60	586	0,50	2,56	0,39	170		4,34	0,70	51				
	K2	2,72	0,84	0	0,04	2,50	0,40	180		4,39	0,53	33				
	K3	3,29	0,39	56		3,05	0,33	116		5,55	0,53	36				
	K4	3,15	0,45	126		2,96	0,35	109		3,05	0,46	31				
	K5	3,20	0,65	98	1,01	2,88	0,28	90		4,85	0,52	27				
<b>4AAP</b>	K1	2,98	0,24	564	0,50	2,56	0,39	170		7,19	0,76	61	2,98			
	K2	3,36	0,47	306	0,04	2,50	0,40	180		7,07	0,59	41	1,87			
	K3	3,29	0,39	56		3,05	0,33	116		8,90	0,50	43	1,96			
	K4	3,15	0,45	126		2,96	0,35	109		4,42	0,58	34	1,28			
	K5	4,56	0,63	168	1,01	2,88	0,28	90		7,97	0,70	31	1,51			



Chromatogramy separácií zmesi CA, TB, TPH získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme NP, kde bol ako eluent použitý 100% ACN, sú zobrazené na obrázku 9. Elučné poradie separovaných látok v kolónach dopovaných striebrom sa javí byť podobné kolóne nedopovanej striebrom. V kolóne K1 sa oproti kolóne neobsahujúcej striebro látky zdržiavali dlhšie. V Kolóne K2 látky TB a TPH migrujú veľmi tesne pri sebe. V kolóne K3 sa látky neseperovali a migrovali všetky spoločne. V kolóne K4 sa od seba separovali všetky látky a látka TPH sa zdržiavala s pomedzi všetkých kolón najdlhšie. Látky separované v kolóne K5 sa zdržiavali podobne dlho ako v prípade kolóny K1. Najväčšie rozlíšenie píkov CA a TB možno pozorovať v prípade kolóny K2. A najlepšie rozlíšenie píkov TB a TPH v prípade kolóny K4.

Chromatogramy separácií zmesi CA, TB, TPH získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme HILIC, kde bol ako eluent použitý 98/2 (v/c) ACN/voda sú zobrazené na obrázku 10. V prípade dopovaných kolón striebrom sa zachovalo podobné elučné poradie ako v prípade nedopovaných kolón. V prípade kolón K1 a K5 sa separácia látok oproti nedopovanej kolóne mierne urýchlila. Látky TB a TPH však migrovali veľmi tesne pri sebe a hodnota ich rozlíšenia je nízka. V kolóne K2 látky TB a TPH migrovali rovnako ako v NP. A v prípade kolóny K3 migrovali taktiež ako v NP spoločne všetky tri látky. V prípade kolón K4, kde bolo striebro pridané až po polymerizácii TPH jasne rozlišuje od TB, ktorý migruje skôr v tesnejšej blízkosti s CA. Najväčšie rozlíšenie píkov TB a TPH možno pozorovať v prípade kolóny K4, čo by mohlo byť spôsobené zmenou selektivity voči TB vplyvom prídania striebra až po polymerizácii .

Chromatogramy separácií zmesi CA, TB, TPH získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme RP, kde bol ako eluent použitý 2/80 (v/v) ACN/voda sú zobrazené na obrázku 11. V prípade dopovaných kolón striebrom sa ukazuje iná selektivita ako v prípade nedopovaných kolón. Najviac zdržiavanou látkou bola v prípade dopovaných kolón látka CA. Najlepšie rozlíšenie CA je možné pozorovať pri kolónach K2 a K4. Najmenšie rozlíšenie látok možno pozorovať v kolóne K2. Najrýchlejšia separácia bola uskutočnená v kolóne K3. V kolónach K4 a K5 sa látky zdržiavali približne rovnako a odlišujú sa malými rozdielmi v rozlíšení medzi látkami TB a TPH. Lepšie rozlíšenie látok TB a TPH možno pozorovať v kolóne K3 a medzi látkami TPH a CA v kolóne K4.

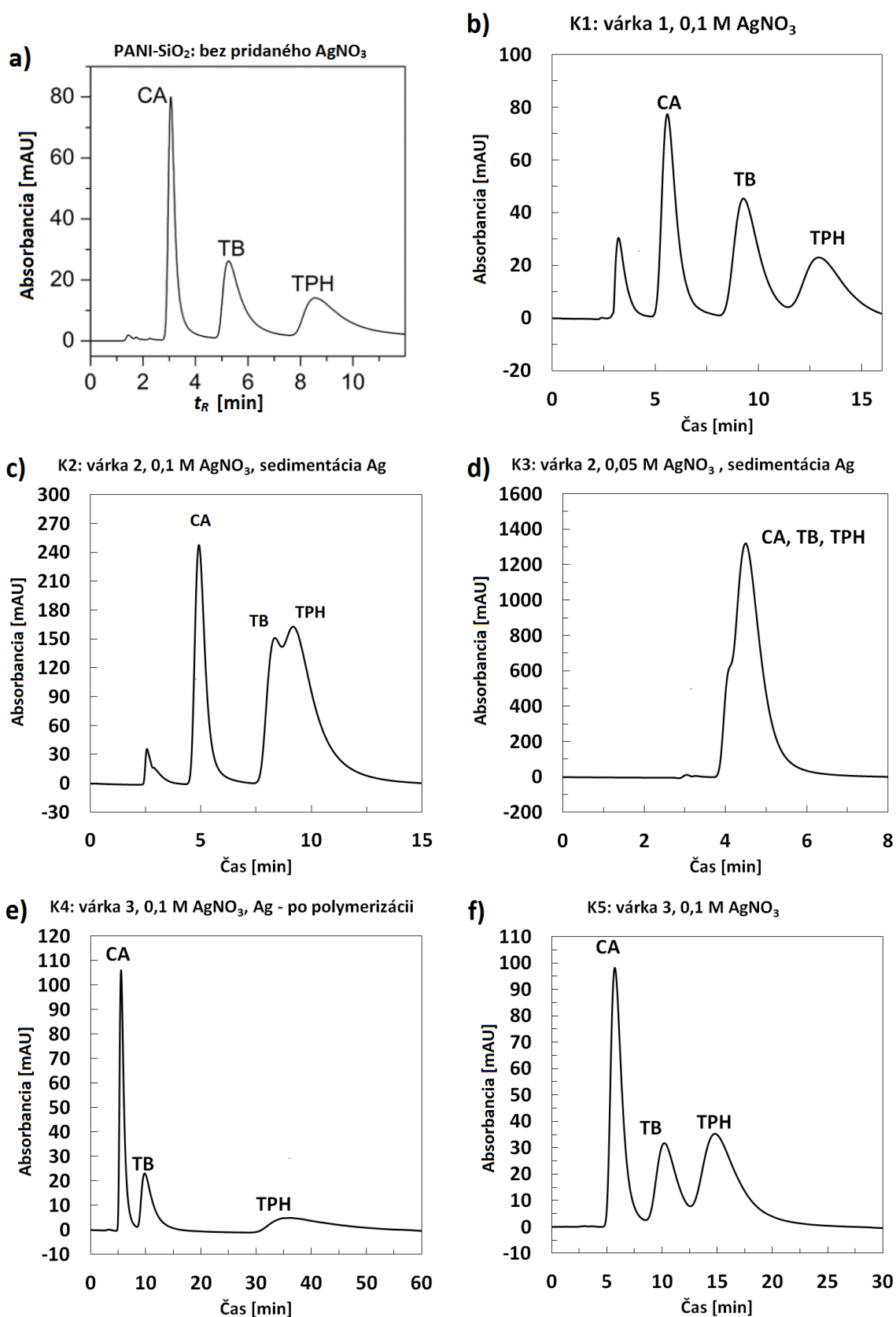
Chromatogramy separácií zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme NP, kde bol ako eluent použitý 100% ACN sú zobrazené na obrázku 12. Selektivita kolón dopovaných striebrom sa javí byť iná v porovnaní s kolónou nedopovanou striebrom. Látky migrujú spoločne s výnimkou kolón K1, K2 a K5 kedy sa čiastočne oddelil 4AAP. Striebro pravdepodobne blokuje aktívne miesta, ktoré inak umožňujú separáciu látok 2AAP, 3AAP a 4AAP.

Chromatogramy separácií zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme HILIC, kde bol ako eluent použitý 98/2 (v/v) ACN/voda sú zobrazené na obrázku 13. Kolóny dopované striebrom vykazovali podobne nízku selektivitu ako kolony nedopované. Látky sa neseparovali v dôsledku ich nízkej polarita. Migrovali spoločne približne v tretej minúte.

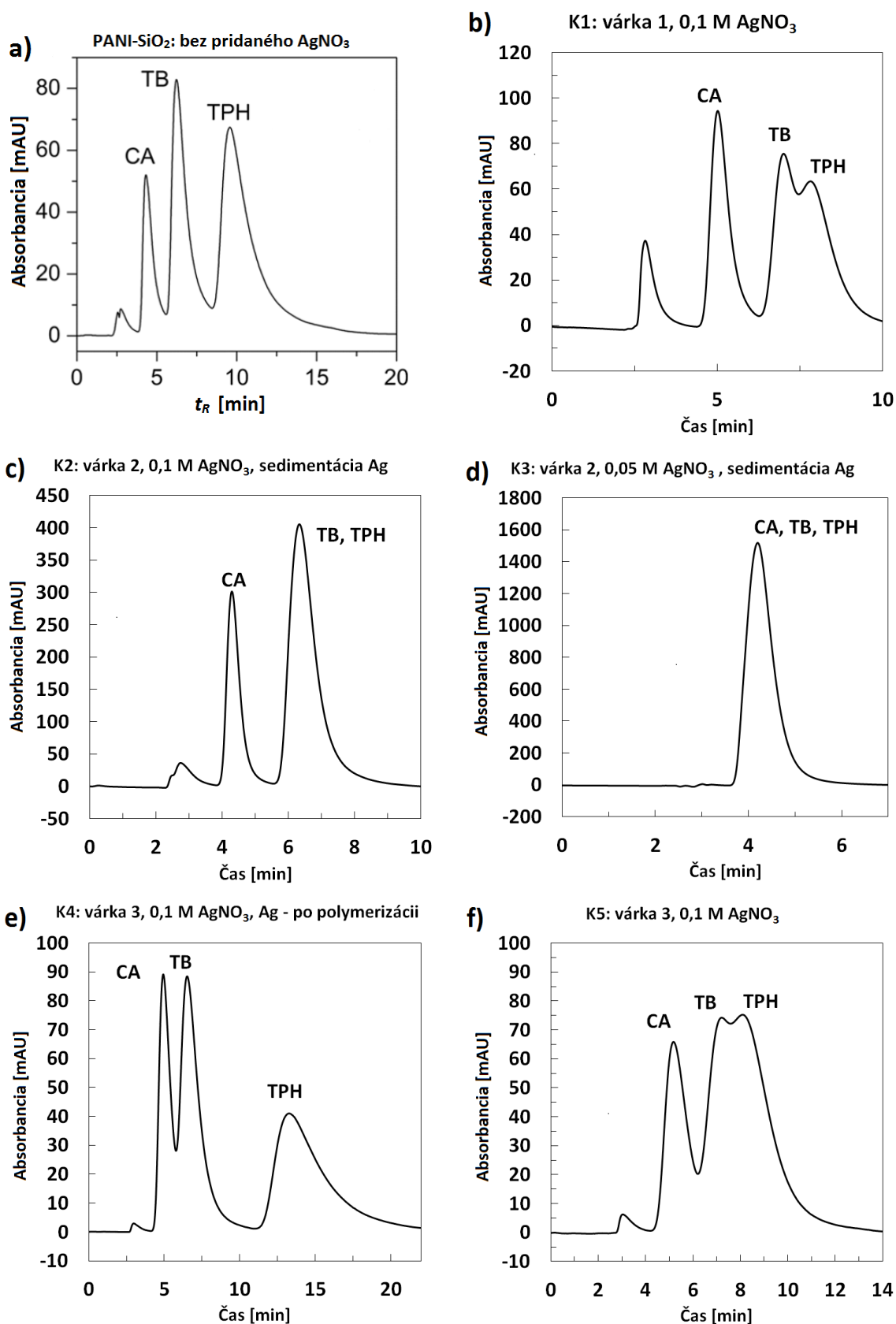
Chromatogramy separácií zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP získané s využitím kolón K1, K2, K3, K4 a K5 v systéme RP, kde bol ako eluent použitý 20/80 (v/v) ACN/voda sú zobrazené na obrázku 14. V prípade dopovaných kolón striebrom sa ukazuje podobná selektivita ako v prípade nedopovaných kolón. Najviac zadržívanou látkou bola v tomto prípade 2AAP. V prípade dopovaných kolón bola najrýchlejšia separácia uskutočnená v kolóne K4 a najpomalšia v prípade kolóny K3. Rozlíšenie medzi látkami bolo vo všetkých prípadoch väčšie než 1,2. Najväčšie rozlíšenie medzi látkami 3AAP a 4AAP a medzi 4AAP a 2AAP je možno pozorovať na kolóne K1.

Prídavok striebra po polymerizácii nepozmenil poradie píkov oproti stacionárnym fázam kde bolo striebro pridané pred polymerizáciou, no v zmesi CA, TB, TPH v RP móde zostalo v porovnaní s kolónami neobsahujúcimi striebro vymenené poradie látok CA a TPH. Pridané striebro po polymerizácii malo vplyv na zadržiavanie TPH v NP a HILIC móde, kedy sa separácia predĺžila.

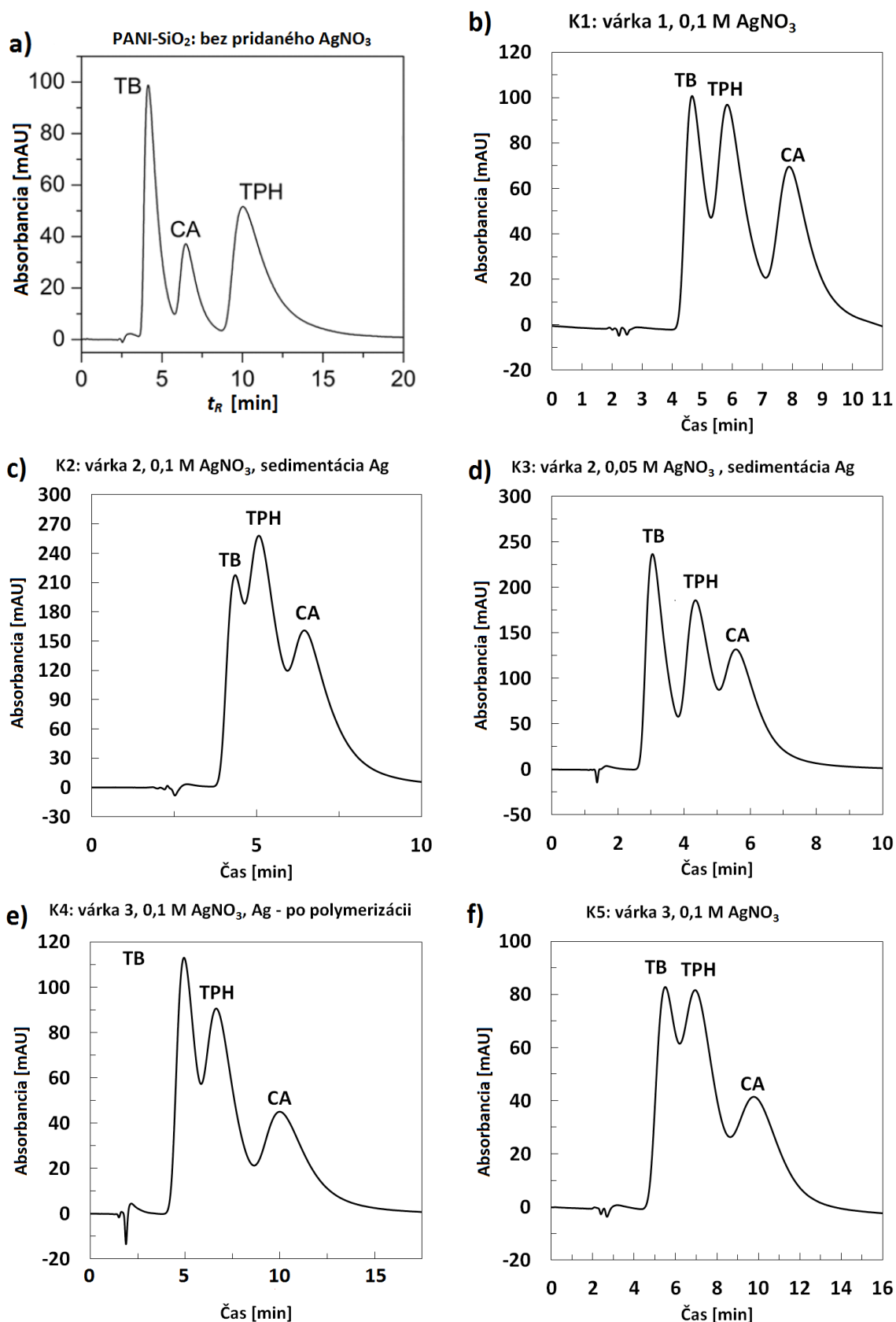
Separácie rovnakých látok v kolónach naplnených rovnakými stacionárnymi fázami za rovnakých podmienok sa od seba líšia. Preto možno hovoriť o nie veľmi dobrej reprodukovateľnosti kolón.



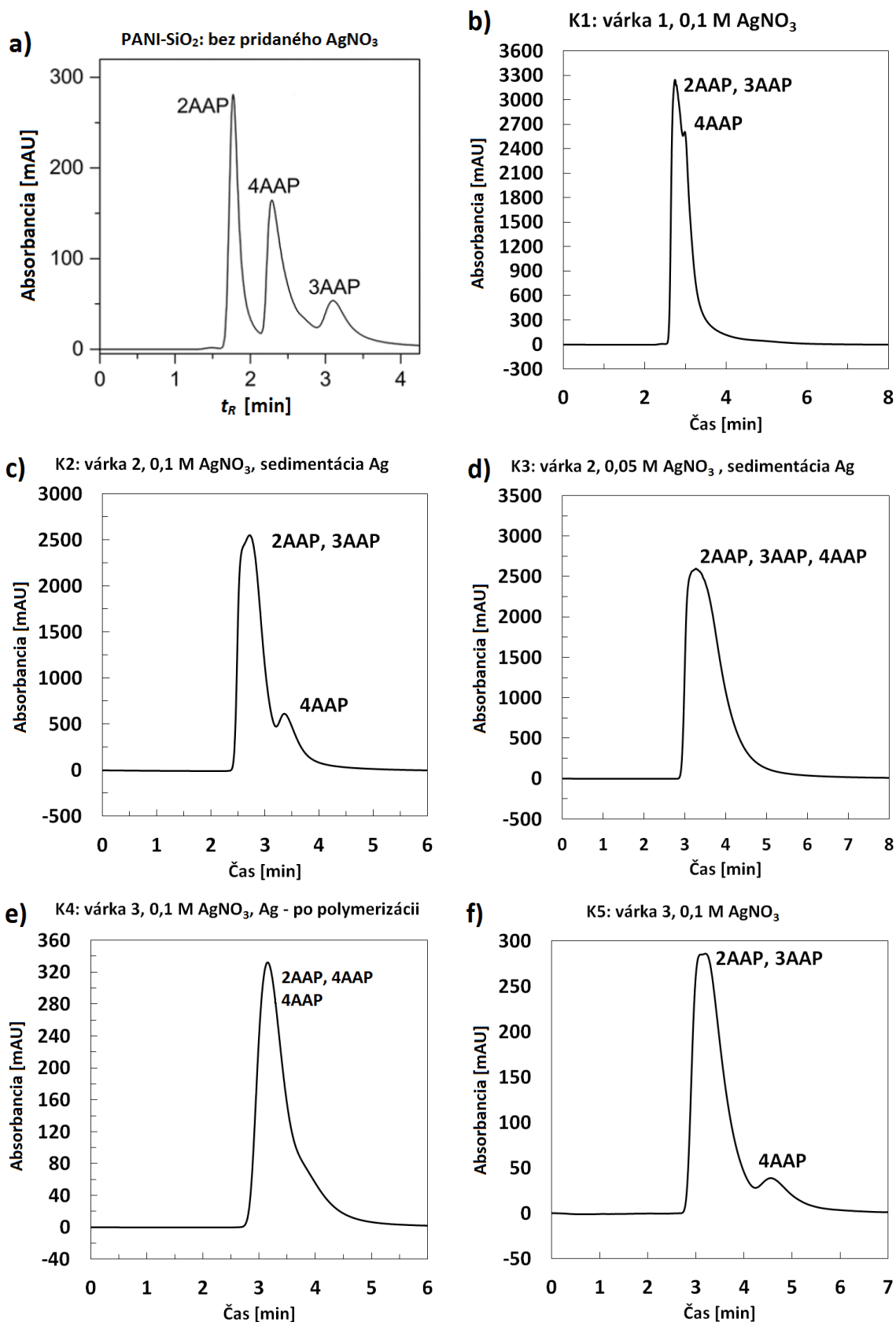
Obr. 9: Separácie zmesi CA, TB, TPH uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde NP za použitia 100% ACN ako mobilnej fázy.



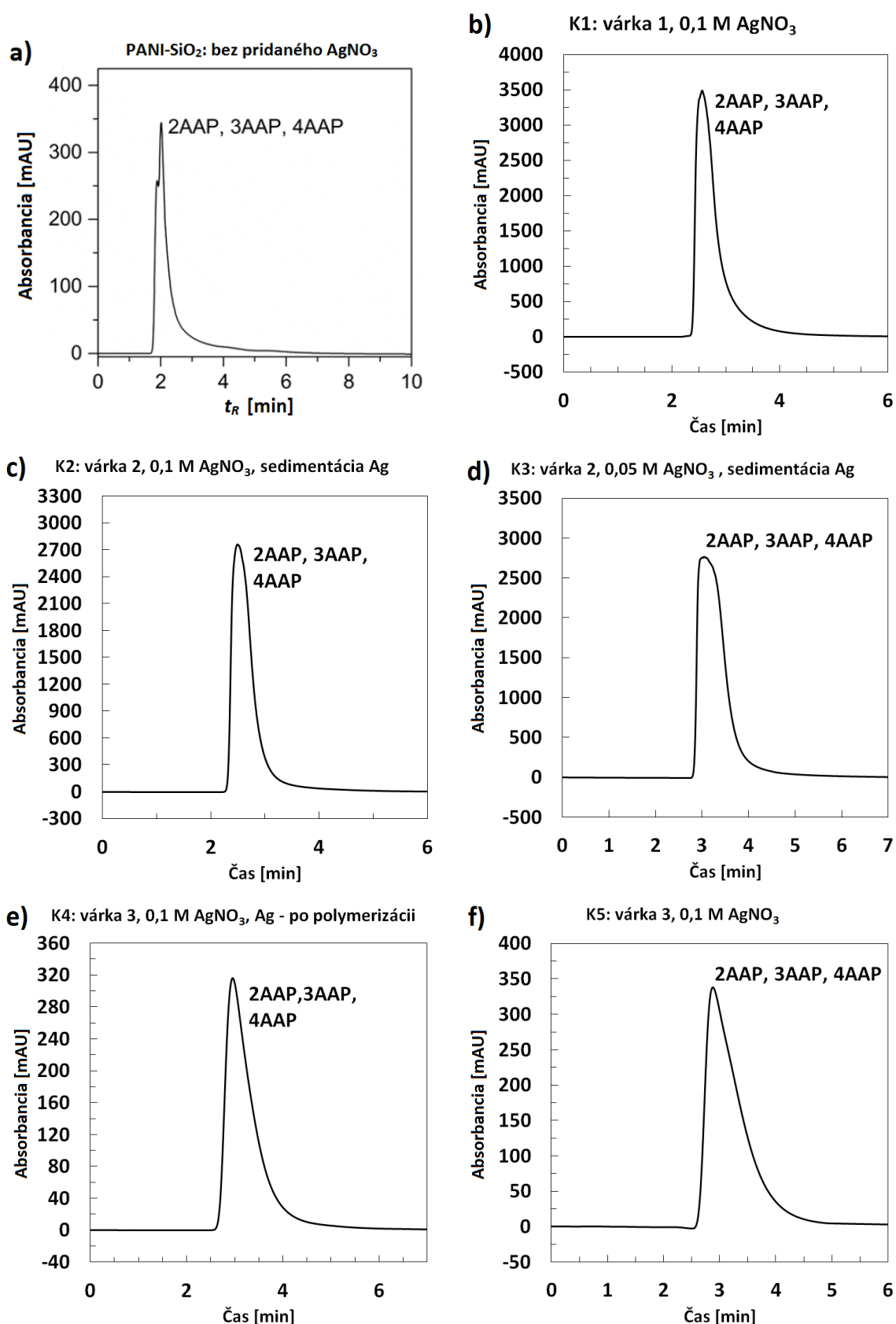
Obr. 10: Separácie zmesi CA, TB, TPH uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde HILIC za použitia 98/2 (v/c) ACN/voda ako mobilnej fázy.



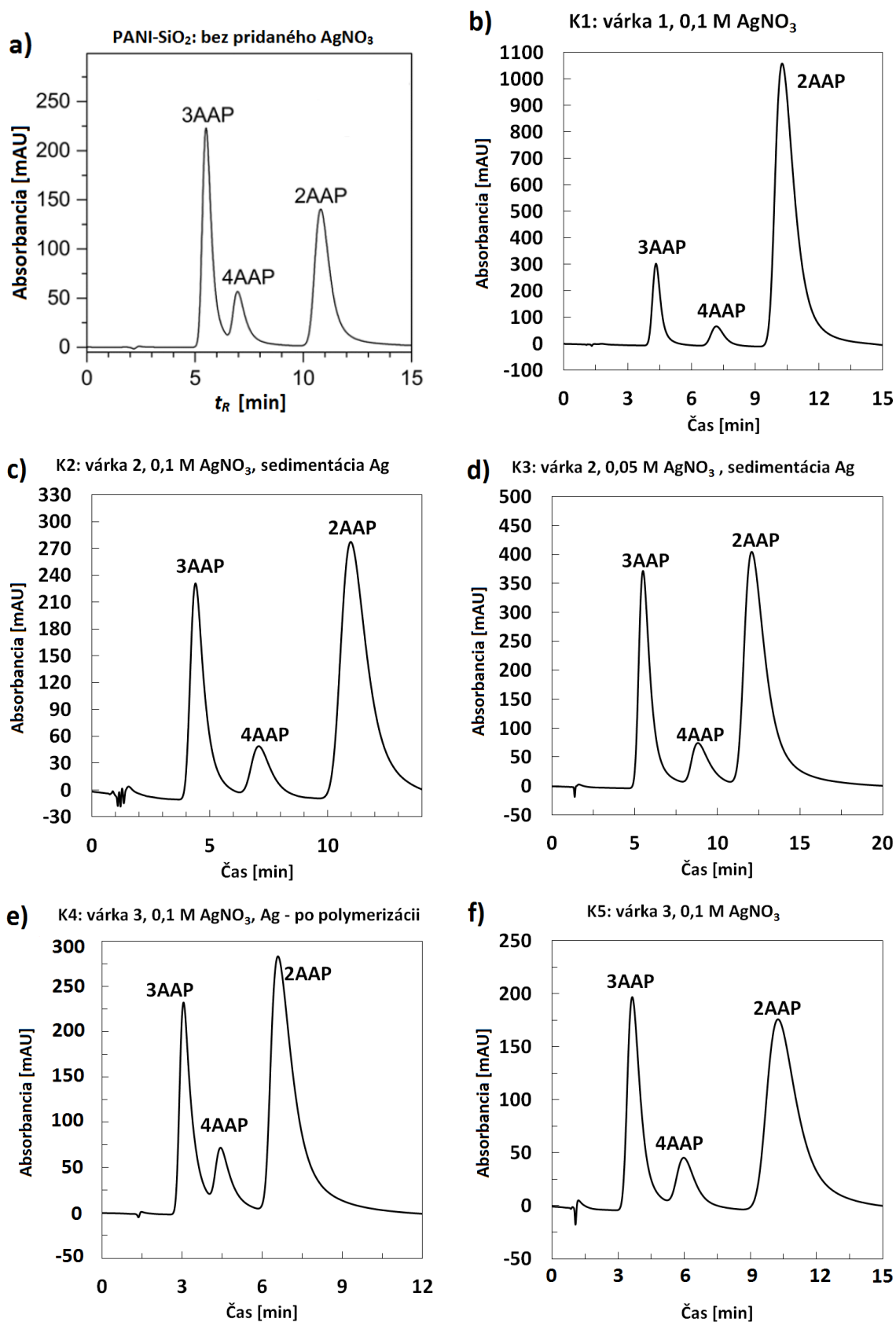
Obr. 11: Separácie zmesi CA, TB, TPH uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde RP za použitia 20/80 (v/v) ACN/voda ako mobilnej fázy.



Obr. 12: Separácie zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde NP za použitia 100% ACN ako mobilnej fázy.



Obr. 13: Separácie zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde HILIC za použitia 98/2 (v/v) ACN/voda ako mobilnej fázy.



Obr. 14: Separácie zmesi 2AAP, 3AAP, 4AAP uskutočnené v kolónach a) kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> [31] b) kolóna K1, c) kolóna K2, d) kolóna K3, e) kolóna K4 a f) kolóna K5 v chromatografickom móde RP za použitia 20/80 (v/v) ACN/voda ako mobilnej



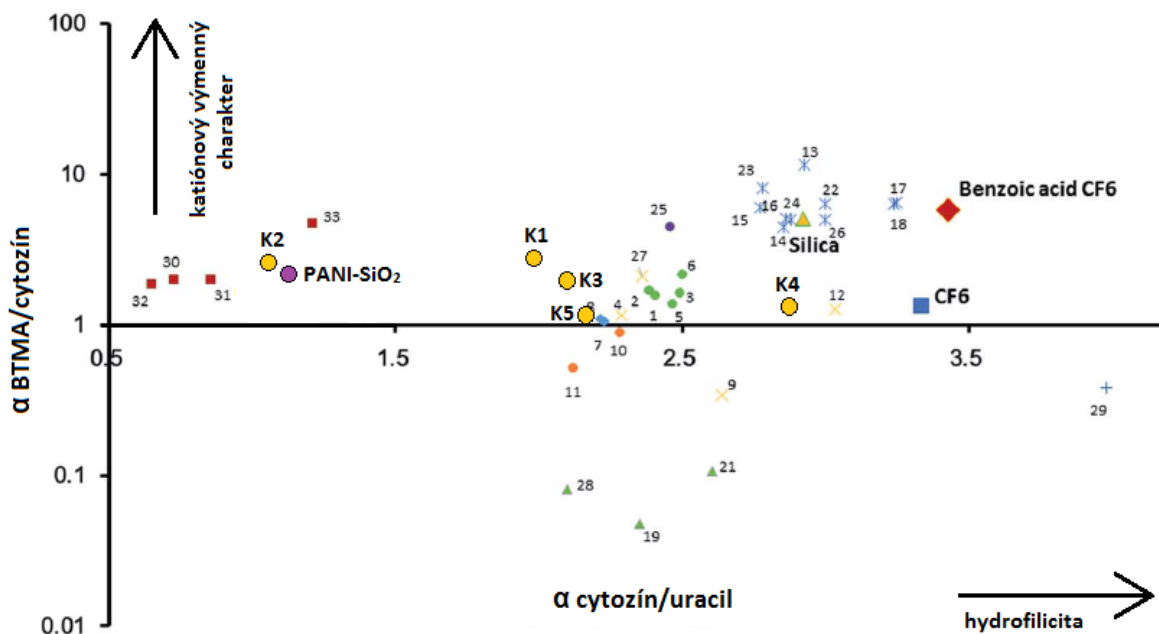
## 4.2.2 Jednoduchý chromatografický test

S kolónami K1 až K5 bol vykonaný jednoduchý chromatografický test - Ibrahimov test, kde boli na každej z kolón zmerané látky BTMA, cytozín a uracil pomocou mobilnej fázy 80/20 (v/v) ACN/25 mM octan amónny. Následne boli vypočítané separačné faktory látok cytozín/uracil a látok BTMA/uracil, ktoré sú uvedené v tabuľke 6. Jednotlivé body pre kolóny v podobe separačných faktorov látok cytozín/uracil a BTMA/cytozín boli vynesené do grafu znázorneného na obrázku 15.

Tabuľka 6: Separačné faktory látok cytozín/uracil a látok BTMA/uracil pre kolóny K1, K2, K3, K4, K5 a kolónu PANI-SiO<sub>2</sub>.

	<b>K1</b>	<b>K2</b>	<b>K3</b>	<b>K4</b>	<b>K5</b>	<b>PANI-SiO<sub>2</sub></b>
$\alpha_{\text{cytozín/uracil}}$	1,97	1,10	2,11	2,87	2,17	1,12
$\alpha_{\text{BTMA/uracil}}$	2,88	2,43	1,84	1,22	1,07	2,09

Z grafu možno pozorovať, že stacionárne fázy K1, K2, K3, K4, K5 ako aj kolóna PANI-SiO<sub>2</sub> sú rozptýlené po celom grafe. Líšia sa najmä v rozdielnej hydrofilicite/hydrofobicite. Kolóna K4 vykazuje najviac hydrofilný charakter so značnou výchyľkou od všetkých pripravených kolón, čo môže byť v dôsledku toho, že obsahuje striebro pridané až po polymerizácii. Z hľadiska hydrofobicity/hydrofilicity zapadá medzi silikagélové stacionárne fázy. Väčší hydrofilný charakter majú už len stacionárne fázy CF6 a kyselina benzóová CF6. Kolóna K2 má najviac hydrofóbny charakter a zároveň je najviac podobná kolóne bez pridaného striebra PANI-SiO<sub>2</sub>. Sú podobné RPLC stacionárnym fázam. Kolóny K1, K3 a K5 majú podobný hydrofóbny charakter. Hydrofilnejší charakter než kolóny K1, K3 a K5 a zároveň hydrofóbnejší než kolón K4 majú zwitteriónové stacionárne fázy. Z pripravených stacionárnych fáz má najmenší kationový výmenný charakter kolóna K5 a o niečo väčší kolóna K4. Kolóny K1, K2, K3 a PANI-SiO<sub>2</sub> majú veľmi podobný kationový výmenný charakter. Všetky pripravené kolóny majú väčší kationový výmenný charakter než amínové a/alebo triazolové a diolové stacionárne fázy a menší než kyselina benzóová CF6, silikagél potiahnutý latexom a silikagélové stacionárne fázy.



Obr. 15: Graf elektrostatického charakteru vs. hydrofilného charakteru pre rôzne stacionárne fázy: PANI (fialový kruh), PANI-Ag (žltý kruh), amid (modrý kosoštvorec), diol (oranžový kosoštvorec), amín a/alebo triazol (zelený trojuholník), poly (žlté x), silikagél (modrá hviezda), zwitter ióny (zelený kruh), vlastné polárne fázy (modré plus), RPLC (červený štvorec), latexom pokrytý silikagél (fialový kruh), kyselina benzoová CF6 (červený kosoštvorec), CF6 (modrý štvorec), oxid kremičitý (žltý trojuholník) [29]. Upravené.

### 4.3 AAS

Pomocou AAS boli zistené koncentrácie striebra v príslušných stacionárnych fázach, ktoré zaznamenáva tabuľka 7. Meranie pre každú stacionárnu fázu bolo uskutočnené dva krát.

Tabuľka 7: Hodnoty obsahov striebra v meraných roztokoch v jednotkách mol/L a prepočítané na suchú stacionárnu fázu v hmotnostných %.

Meranie	Vzorka	0,1 M AgNO <sub>3</sub>	0,05 M AgNO <sub>3</sub>	0,1 M AgNO <sub>3</sub>	0,1 M AgNO <sub>3</sub>
		sedimentácia Ag	sedimentácia Ag	Ag pridané po polymerizácii	0,1 M AgNO <sub>3</sub>
		K2	K3	K4	K5
1	$c_{Ag^+}$ [mol/L]	$1,35 \times 10^{-6}$	$4,89 \times 10^{-6}$	$2,79 \times 10^{-4}$	$2,80 \times 10^{-4}$
	$w_{Ag^+}$ [%]	0,04	0,13	7,53	7,55
2	$c_{Ag^+}$ [mol/L]	$2,23 \times 10^{-6}$	$1,50 \times 10^{-7}$	$3,29 \times 10^{-4}$	$4,81 \times 10^{-4}$
	$w_{Ag^+}$ [%]	0,06	0,01	8,87	12,98

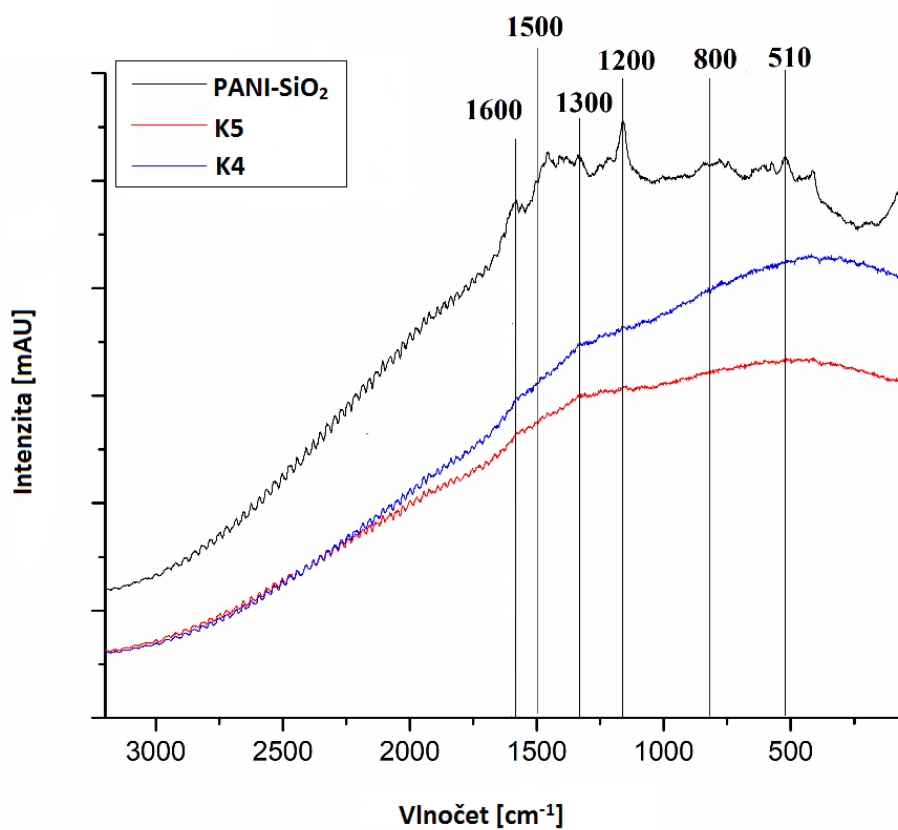
Metódou prídavkov štandardu boli zistené koncentrácie striebra pre danú stacionárnu fázu ako aj hmotnostné percentá zastúpenia striebra vo vzorkách. Zisťovanie koncentrácie Ag v stacionárnych fázach K2 až K5 bolo uskutočnené dva krát vrátane prípravy vzoriek. Stacionárna fáza K1 nebola podrobená AAS pre jej nedostatok. Zastúpenie striebra v jednotlivých stacionárnych fázach vykázalo rôzne hodnoty pre dve rovnako pripravené vzorky zmerané za rovnakých podmienok. Kým v prvom meraní vzorka, kde bolo AgNO<sub>3</sub> pridané o koncentrácii 0,05 M vykázala menší celkový obsah striebra než vzorka kde bolo AgNO<sub>3</sub> pridané o koncentrácii 0,1 M, v druhom meraní to bolo presne naopak. Odchýlky meraní môžu byť spôsobené pravdepodobne v dôsledku nehomogenity vzorky a preto pomocou AAS nie je možné určiť presnú koncentráciu obsiahnutú v kolónach. Napriek tomu je možné tvrdiť, že sedimentáciou Ag bolo odstránené množstvo Ag zo vzoriek a preto sedimentované vzorky K2 a K3 obsahujú menšie množstvo Ag než nesedimentované vzorky K4 a K5.

## 4.4 FT-IR a Ramanova spektroskopia

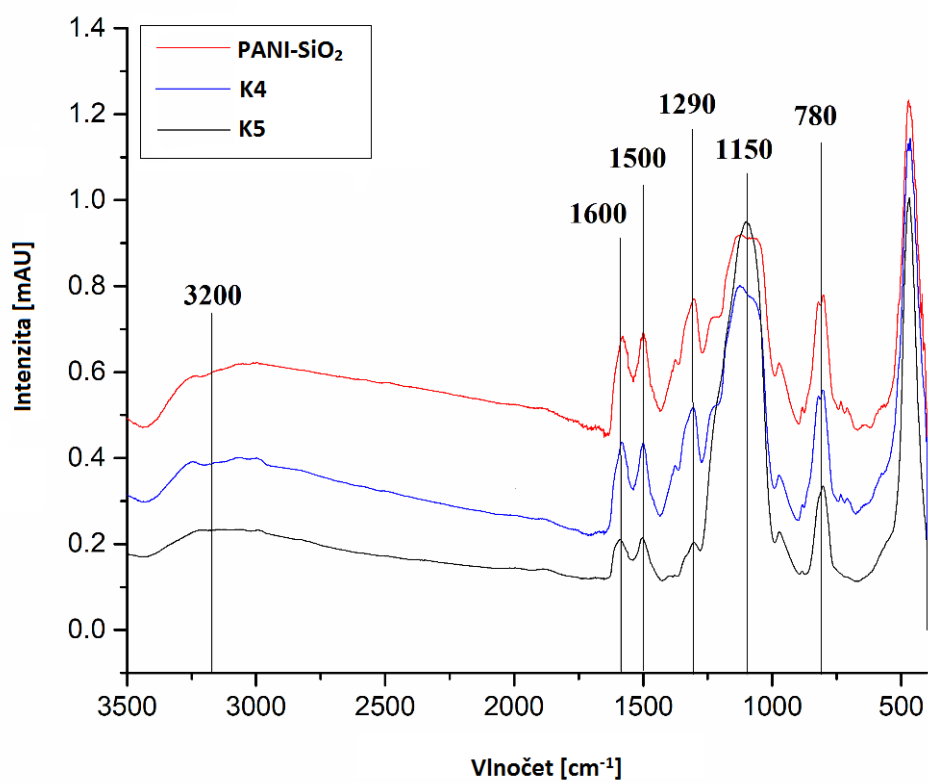
Vzorky stacionárnych fáz K4 (Ag pridané po polymerizácii), K5 (Ag pridané po polymerizácii) a PANI-SiO<sub>2</sub> (silikagél potiahnutý PANI bez pridaného striebra) boli podrobené analýze pomocou Ramanovej spektroskopie na obrázku 16 a infračervenej spektroskopie s Fourierovskými transformáciami na obrázku 17.

V Ramanovej spektre na obrázku 16 možno pre vzorku PANI-SiO<sub>2</sub> pozorovať pík pri približne 1200 cm<sup>-1</sup>, ktorý pravdepodobne zodpovedá C–N valenčným vibráciám sekundárnych aromatických amínov, čo indikuje emeraldínovú soľ a taktiež môže zodpovedať C–H rovinným deformačným vibráciám benzenoidných kruhov v PANI. Pík pri 1600 cm<sup>-1</sup> C–C zodpovedá valenčným vibráciám benzenoidných kruhov a C=C valenčným vibráciám chinoidných kruhov. Píky v rozmedzí od 1300 až 1500 cm<sup>-1</sup> C=N zodpovedajú valenčným vibráciám chinoidných diamínov a valenčným vibráciám C–N<sup>+</sup> fragmentov pripojených na aromatický kruh. Pík pri 575 cm<sup>-1</sup> zodpovedá vibráciám jednotiek fenoxazínového typu. V okolí píku 800 cm<sup>-1</sup> možno pozorovať C–N–C kývavé a deformačné vibrácie benzénového kruhu. Hodnoty väčšie ako 1600 cm<sup>-1</sup> predstavujú doznievanie. Pri vzorkách obsahujúcich striebro nemožno pozorovať výrazné píky [23, 25].

V FT-IR spektre zobrazenom na obrázku 17 možno pozorovať pík v okolí 1600 cm<sup>-1</sup>, ktorý patrí valenčným vibráciám C=N a C=C chinoidným kruhom, pík v 1500 cm<sup>-1</sup> zodpovedá C=C valenčným vibráciám benzenoidných kruhov polyméru. Píky 1290 cm<sup>-1</sup> a 780 cm<sup>-1</sup> sú C=N valenčné vibrácie sekundárnych aromatických amínov. Veľký pík pri 1150 cm<sup>-1</sup> patrí silikagélu a ten je najvýraznejší pri vzorke neobsahujúcej striebro. Píky v okolí 3200 cm<sup>-1</sup> patria N-H valenčným vibráciám. Spektrá stacionárnych fáz sa od seba výrazne nelíšia, striebro pomocou nich nemožno pozorovať [23, 25].



Obr. 16: Ramanove spektrum PANI-SiO<sub>2</sub> (silikagél potiahnutý PANI bez pridaného striebra) a pripravených stacionárnych fázy K4 (PANI-SiO<sub>2</sub>-Ag pridané po polymerizácii), K5 (PANI-SiO<sub>2</sub>-Ag pridané pred polymerizáciou).



Obr. 17: FT-IR spektrum PANI-SiO<sub>2</sub> (silikagél potiahnutý PANI bez pridaného striebra) a pripravených stacionárnych fázy K4 (PANI-SiO<sub>2</sub>-Ag pridané po polymerizácii), K5 (PANI-SiO<sub>2</sub>-Ag pridané pred polymerizáciou).

## 5 Záver

Boli napolymerizované polyanilínové stacionárne fázy, ktoré boli dopované striebrom. Následne boli naplnené do kolón, pripojené k CLC a pomocou nich boli uskutočnené separácie zmesi CA, TB, TPH a zmesi 2AAP, 3AAP a 4AAP v módoch NP, HILIC a RP. Výsledky boli porovnané s výsledkami získanými pomocou polyanilínovej nedopovanej kolóny. Každá naplnená kolóna javila o niečo inú selektivitu aj napriek tomu, že boli pripravované za rovnakých podmienok, čo bude spôsobné pravdepodobne v dôsledku toho, že podmienky laboratórneho plnenia nie sú kvalitatívne zrovnateľné s plnením komerčných kolón. Aj napriek tomu je možné konštatovať, že dopované kolóny javili najvýraznejší rozdiel oproti nedopovaným v rozdielnej selektivitě v RP móde pri separácii zmesi CA, TB, TPH, čo sa potvrdilo pri každej z pripravených dopovaných kolón.

S každou kolónou naplnenou danou stacionárnou fázou bol vykonaný jednoduchý chromatografický test, ktorým boli kolóny charakterizované z hľadiska hydrofobicity/hydrofilicity a iónovo-výmenného charakteru. Tento test ukázal, že kolóna K4 dopovaná striebrom po polymerizácii má najviac hydrofilný charakter, podobný silikagélovým stacionárnym fázam. Kolóny, kde bolo striebro pridané pred začiatkom polymerizácie majú podobný hydrofilný charakter, až na kolónu K2, ktorá mala zo všetkých najviac hydrofóbný charakter a bola najviac podobná kolóne naplnenej bez pridaného striebra PANI-SiO<sub>2</sub>. Kolóny majú prevažne podobný iónový výmenný charakter, až na kolóny K4 a K5, ktoré majú najväčší aniónový výmenný charakter.

Bola zisťovaná koncentrácia striebra vo vzorkách pomocou AAS, vypočítaná hodnota Ag pre jednotlivé merania se natoľko líšila, že ich skutočnú hodnotu nebolo možné jednoznačne určiť pravdepodobne v dôsledku nehomogenity vzoriek. Bol však pozorovaný vplyv sedimentácie Ag na nameranú hodnotu koncentrácie.

Pripravené stacionárne fázy boli charakterizované pomocou elektrónového mikroskopu, Ramanovej spektroskopie a infračervenej spektroskopie s Fourierovskými transformáciami. Ani jednou z metód sa nepodarilo jednoznačne preukázať prítomnosť striebra. V prípade Ramanovej spektroskopie s prítomnosťou striebra vymizli píky.



# Literatúra

- [1] J. Labuda, *Analytická chémia*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1. vyd ed., 2014.
- [2] H. Qiu, X. Liang, M. Sun, and S. Jiang, “Development of silica-based stationary phases for high-performance liquid chromatography,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399, no. 10, pp. 3307–3322, 2011.
- [3] K. Štulík, *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 1. vyd ed., 2004.
- [4] M. Franc, J. Vojta, J. Sobotníková, P. Coufal, and Z. Bosáková, “Performance and lifetime of slurry packed capillary columns for high performance liquid chromatography,” *Chemical Papers*, vol. 68, no. 1, pp. 22–28, 2014.
- [5] I. Sowa, M. Wójciak-Kosior, P. Draczkowski, M. Strzemski, and R. Kocjan, “Synthesis and properties of a newly obtained sorbent based on silica gel coated with a polyaniline film as the stationary phase for non-suppressed ion chromatography,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 787, pp. 260–266, 2013.
- [6] L. Taraba, T. Křížek, O. Hodek, K. Kalíková, and P. Coufal, “Characterization of polyaniline-coated stationary phases by using the linear solvation energy relationship in the hydrophilic interaction liquid chromatography mode using capillary liquid chromatography,” *Journal of Separation Science*, vol. 40, no. 3, pp. 677–687, 2017.
- [7] Z. A. Boeva and V. G. Sergeyev, “Polyaniline: Synthesis, properties, and application,” *Polymer Science Series C*, vol. 56, no. 1, pp. 144–153, 2014.
- [8] A. G. Macdiarmid, S. K. Manohar, J. . Masters, Y. Sun, and H. Weiss, “Polyaniline: Synthesis and properties of pernigraniline base,” *Synthetic Metals*, vol. 41-43, pp. 621–626, 1991.
- [9] C. O. Baker, X. Huang, W. Nelson, and R. B. Kaner, “Polyaniline nanofibers,”

*Chemical Society Reviews*, vol. 46, no. 5, pp. 1510–1525, 2017.

- [10] D. A. Fungaro, “Sulfonated polyaniline coated mercury film electrodes for voltammetric analysis of metals in water,” *Sensors*, vol. 1, no. 6, pp. 206–214, 2001.
- [11] R. Ansari and F. Raofie, “Removal of mercuric ion from aqueous solutions using sawdust coated by polyaniline,” *E-Journal of Chemistry*, vol. 3, no. 1, pp. 35–43, 2006.
- [12] S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Kimura, “Enzymatic polymerization,” *Chemical Reviews*, vol. 101, no. 12, pp. 3793–3818, 2001.
- [13] C. Nastase, F. Nastase, A. Dumitru, M. Ionescu, and I. Stamatin, “Thin film composites of nanocarbons-polyaniline obtained by plasma polymerization technique,” *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 36, no. 4, pp. 481–485, 2005.
- [14] D. Li, J. Huang, and R. B. Kaner, “Polyaniline nanofibers,” *Accounts of Chemical Research*, vol. 42, no. 1, pp. 135–145, 2009-01-20.
- [15] H. D. Tran, J. M. D’Arcy, Y. Wang, P. J. Beltramo, V. A. Strong, and R. B. Kaner, “The oxidation of aniline to produce “polyaniline”,” *J. Mater. Chem*, vol. 21, no. 11, pp. 3534–3550, 2011.
- [16] S. K. Pillalamarri, F. D. Blum, A. T. Tokuhira, J. G. Story, and M. F. Bertino, “Radiolytic synthesis of polyaniline nanofibers,” *Chemistry of Materials*, vol. 17, no. 2, pp. 227–229, 2005.
- [17] J. Stejskal, O. Quadrat, I. Sapurina, J. Zemek, A. Drelinkiewicz, M. Hasik, I. Křivka, and J. Prokeš, “Polyaniline-coated silica gel,” *European Polymer Journal*, vol. 38, no. 4, pp. 631–637, 2002.
- [18] L. K. Werake, J. G. Story, M. F. Bertino, S. K. Pillalamarri, and F. D. Blum, “Photolithographic synthesis of polyaniline nanofibres,” *Nanotechnology*, vol. 16, no. 12, pp. 2833–2837, 2005.
- [19] J. Huang, “Syntheses and applications of conducting polymer polyaniline

- nanofibers,” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 78, no. 1, pp. 15–27, 2006-01-1.
- [20] H. Bagheri and S. Banihashemi, “Silver nanoparticles–polyaniline nanocomposite for microextraction in packed syringe,” *Chromatographia*, vol. 77, no. 5-6, pp. 397–403, 2014.
- [21] S. M. Reda and S. M. Al-Ghannam, “Synthesis and electrical properties of polyaniline composite with silver nanoparticles,” *Advances in Materials Physics and Chemistry*, vol. 02, no. 02, pp. 75–81, 2012.
- [22] G. M. Neelgund, E. Hrehorova, M. Joyce, and V. Bliznyuk, “Synthesis and characterization of polyaniline derivative and silver nanoparticle composites,” *Polymer International*, vol. 57, no. 10, pp. 1083–1089, 2008.
- [23] S. K. Pillalamarri, F. D. Blum, A. T. Tokuhira, and M. F. Bertino, “One-pot synthesis of polyaniline-metal nanocomposites,” *Chemistry of Materials*, vol. 17, no. 24, pp. 5941–5944, 2005.
- [24] P. Bober, M. Trchová, J. Kovářová, U. Acharya, J. Hromádková, and J. Stejskal, “Reduction of silver ions to silver with polyaniline/poly(vinyl alcohol) cryogels and aerogels,” *Chemical Papers*, 2018 (in press), <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0374-6>.
- [25] R. Ramalingam, H. Ai-Lohedan, and T. Radhika, “Synthesis, surface and textural characterization of ag doped polyaniline-sio2(pan-ag/rha) nanocomposites derived from biomass materials,” *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 11, no. 3, pp. 731–740, 2016.
- [26] I. Němcová, P. Rychlovský, and L. Čermáková, *Spektrometrické analytické metody*. Praha: Karolinum, 1. vyd ed., 1997-1998.
- [27] G. S. Bumbrah and R. M. Sharma, “Raman spectroscopy – basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse,” *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, vol. 6, no. 3, pp. 209–215, 2016.
- [28] M. E. A. Ibrahim, Y. Liu, and C. A. Lucy, “A simple graphical representation of selectivity in hydrophilic interaction liquid chromatography,” *Journal of*

*Chromatography A*, vol. 1260, pp. 126–131, 2012.

- [29] Y. Wang, M. F. Wahab, Z. S. Breitbach, and D. W. Armstrong, “Carboxylated cyclofructan 6 as a hydrolytically stable high efficiency stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography and mixed mode separations,” *Analytical Methods*, vol. 8, no. 31, pp. 6038–6045, 2016.
- [30] F. Gritti and M. F. Wahab, “Understanding the science behind packing high-efficiency columns and capillaries,” *LC GC NORTH AMERICA*, vol. 36, no. 2, pp. 82–98, 2018.
- [31] L. Taraba and T. Křížek, “Study of polyaniline-coated silica gel as a stationary phase in different modes of capillary liquid chromatography,” *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, vol. 148, no. 9, pp. 1605–1611, 2017.