

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Anna Makrlíková

Stanovení lithia v minerálních vodách elektroforézou v krátké kapiláře

Determination of Lithium in Mineral Waters Using Electrophoresis in Short Capillary

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: Prof. RNDr. František Opekar, CSc.

Praha 2013

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 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 2. května 2013.

Anna Makrlíková

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce prof. RNDr. Františku Opekarovi, CSc. za cenné rady a připomínky při vedení práce, čas a trpělivost. Dále děkuji RNDr. Václavu Červenému, Ph.D. za pomoc při spektroskopických měřeních. Také děkuji mé rodině a příteli za velkou podporu.

Tato bakalářská práce byla finančně podporována Výzkumným záměrem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, projekt MSM0021620857.

Abstrakt

Tato práce se zabývá stanovením obsahu lithia v minerálních vodách Vincentka a Bílinská kyselka kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí. Laboratorně sestavená aparatura pro provádění separací v krátkých kapilárách byla nejprve testována modelovým roztokem běžných anorganických kationtů a následně použita pro analýzu vzorků minerálních vod. Obsah lithia byl stanoven na základě metody standardního přídatku. Získané výsledky byly porovnány s výsledky získanými atomovou absorpční a atomovou emisní spektroskopií, kde byl obsah lithia stanoven metodou standardního přídatku a také metodou kalibračního grafu. Experimentálně získané výsledky byly v dobré shodě s obsahy lithia deklarovanými na etiketách minerálních vod.

Klíčová slova

Kapilární elektroforéza, bezkontaktní vodivostní detekce, minerální vody, lithium, atomová absorpční spektroskopie, atomová emisní spektroskopie

Abstract

The aim of this study was determination of lithium ion concentration in mineral waters “Vincentka” and “Bílinská kyselka” using capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. A specialized laboratory-made apparatus designed for separations in short capillaries was first tested for separation of model solution of common inorganic cations and then for analysis of mineral water samples. Lithium ion concentration was determined using method of standard addition. The results obtained were compared with those obtained from atomic absorption and emission spectroscopy; standard addition method as well as the method of calibration graph were used in spectroscopic methods. A good agreement was obtained between experimentally determined concentrations of lithium and those declared in the labels on the mineral water bottles.

Keywords

Capillary electrophoresis, contactless conductivity detection, mineral waters, lithium, atomic absorption spectroscopy, atomic emission spectroscopy

Obsah

1	Úvod	11
1.1	Charakteristické rysy lithia	11
1.2	Výskyt lithia v potravinách	11
1.3	Výskyt lithia v přírodě	11
1.4	Využití lithia.....	13
1.5	Cíl práce	14
2	Teoretická část.....	15
2.1	Analytické stanovení lithia.....	15
2.1.1	Přehled metod stanovení lithia	15
2.1.2	Kapilární elektroforéza.....	17
2.1.3	Spektroskopické metody	20
3	Experimentální část	22
3.1	Kapilární elektroforéza s bezkontaktní vodivostní detekcí.....	22
3.1.1	Měřicí aparatura – elektroforetická separace v krátké kapiláře	22
3.1.2	Chemikálie.....	24
3.1.3	Pracovní postup	25
3.2	Atomová absorpční a emisní spektroskopie.....	25
3.2.1	Měřicí aparatura – spektrofotometr	25
3.2.2	Chemikálie.....	26
3.2.3	Pracovní postup	26
3.3	Statistické vyhodnocení výsledků a použité vztahy	26
4	Výsledky a diskuze.....	28
4.1	Kapilární elektroforéza modelové směsi kationtů.....	28
4.2	Elektroforetické stanovení lithia	32
4.2.1	Metoda standardního přídávku.....	34
4.3	Stanovení lithia atomovou absorpční a emisní spektrometrií	35

4.4	Srovnání obou metod	38
5	Závěr	39
6	Seznam použité literatury	40

Seznam zkratek

AFS	atomová fluorescenční spektrometrie
C ⁴ D	Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection (bezkontaktní vodivostní detekce)
CE	Capillary Electrophoresis (kapilární elektroforéza)
CEC	Capillary Electrochromatography (elektrochromatografie v naplněné kapiláře)
CE-MS	kapilární elektroforéza s hmotnostním spektrometrem
CGE	Capillary Gel Electrophoresis (kapilární gelová elektroforéza)
CIEF	Capillary Isoelectric Focusing (kapilární izoelektrická fokusace)
CITP	Capillary Isotachopheresis (kapilární izotachoforéza)
CZE	Capillary Zone Electrophoresis (kapilární zónová elektroforéza)
ČSN	Česká technická norma
ECL	Electrochemiluminescence (elektrochemiluminiscence)
EOF	Electroosmotic Flow (elektroosmotický tok)
ETA-AAS	Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry (atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací)
F-AAS	Flame Atomization Atomic Absorption Spectrometry (atomová absorpční spektrometrie s plamennou atomizací)
HLC	Hollow Cathode Lamp (výbojka s dutou katodou)
ICP	Inductively Coupled Plasma (indukčně vázaná plazma)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)
ISE	Ion Selective Electrode (Iontově selektivní elektroda)
LIF	Laser-induced Fluorescence (laserem indukovaná fluorescenční detekce)
MECC	Micellar Electrokinetic Chromatography (micelární elektrokinetická chromatografie)
PTFE	polytetrafluorethylen
UV-VIS	Ultraviolet/Visible detector (detektor pro ultrafialovou a viditelnou oblast)

Seznam symbolů

c	analytická koncentrace
E	intenzita elektrického pole
K_n	tabelovaný koeficient pro určení intervalu spolehlivosti
L	celková délka kapiláry
$L_{1/2}$	interval spolehlivosti
l	délka kapiláry k detektoru
m	hmotnost
N	separační napětí
Q	celkový náboj
R	rozpětí
R_S	rozlišení píků
r	poloměr iontu
$t_{\text{migr.}}$	migrační čas
U	separační napětí
V	celkový objem připraveného roztoku
V_x	objem vzorku minerálky vzatý k analýze
x_{max}	největší hodnota souboru analytických výsledků
x_{min}	nejmenší hodnota souboru analytických výsledků
Y	šířka píku při základně
$Y_{1/2}$	šířka píku v polovině výšky
z	nábojové číslo
η	viskozita
λ^∞	limitní molární vodivost
μ	aktuální elektroforetická pohyblivost iontu
ν	elektroforetická pohyblivost

1 Úvod

1.1 Charakteristické rysy lithia

Lithium (Li) je nejlehčím kovem periodické soustavy prvků a má atomové číslo 3. Za normální teploty má nejmenší hustotu ze všech pevných látek. Relativní atomová hmotnost lithia je 6,941. Je prvním a nejmenším prvkem z alkalických kovů (Li, Na, K, Rb, Cs, Fr). Má nejvyšší ionizační energii ($520,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) a teplotu tání ($180,5 \text{ }^\circ\text{C}$). Je jen obtížně ionizovatelným alkalickým kovem [1].

Díky malému poloměru a velké nábojové hustotě tvoří lithium kovalentní vazby, největší zastoupení mají organokovové sloučeniny, např. methyllithium. Lithium je podobné hořčíku a v některých vlastnostech se odlišuje od alkalických kovů. Některé jeho soli (fosforečnan, uhličitan, fluorid) se ve vodě málo rozpouštějí, halogenidy se rozpouštějí v organických rozpouštědlech a uhličitan je tepelně málo stálý. Lithné soli krystalizují z vodných roztoků jako hydráty. Lithium se jako jediný prvek ve skupině alkalických kovů spaluje na oxid lithný [2].

1.2 Výskyt lithia v potravinách

Velký obsah lithia je v zelenině (rajčatech, houbách, okurkách, zelí), málo lithia je obsaženo v jablkách, banánech a dále v cereáliích, těstovinách a pečivu. Nejvíce lithia je ve vejcích a mléku (nad $7000 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) a v živočišných produktech. Hovězí, vepřové a skopové maso obsahují nad $3000 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ živé váhy, menší obsah lithia je v syrovátce, drůbežím a rybím masu. Příjem lithia stravou je pro člověka důležitý, při jeho nedostatku dochází ke snížení aktivity některých enzymů zapojených do cyklu kyseliny citronové, glykolýzy a metabolismu dusíku. Podle výsledků pokusů na zvířatech má nízký obsah lithia v potravě negativní dopad na reprodukci [3].

1.3 Výskyt lithia v přírodě

V přírodě se lithium vyskytuje v některých druzích tabáku a v rostlinách (růžovité), v léčivých pramenech a v horninách, kde převážně doprovází sodík a draslík. Mezi nejběžnější horniny s lithiem patří: amblygonit $\text{LiAl}[\text{PO}_4]\text{F}$, trifylin $(\text{Li,Na})(\text{Fe,Mn})[\text{PO}_4]$, spodumen (trifan) $\text{LiAl}[\text{Si}_2\text{O}_6]$, petalit $(\text{Li,Na})\text{AlSi}_4\text{O}_{10}$ a lepidolit $\text{K}(\text{Li,Al})_3[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}](\text{OH,F})_2$ [4].

V České republice jsou nejvýznamnější ložiska obsahující lithium Cínovec a Krásno. Obsahují minerál cinvaldit s obsahem lithia 3,5 – 4,3 %. Nemá přesně

definovaný vzorec, ale jeho složení je blízké petalitu a spodumenu. Nově objevené jsou zdroje lepidolitu na vrchu u obce Hradisko, lepidolitový pegmatit (druh magmatické horniny) v Dobré Vodě u Velkého Meziříčí. Dále byla nalezena žíla Li-pegmatit u obce Nová Ves u Kremže a amblygonit-montebrazit (fosfátový minerál) u Verněřova u Aše [5].

Lithium se vyskytuje v léčivých minerálních pramenech ve východních Čechách a dále v Luhačovicích, kde se voda z těchto pramenů používá ke koupelím a pitné léčbě.

Konkrétní prameny s obsahy lithia dle referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1: Koncentrace lithia ve vybraných léčivých pramenech v Luhačovicích

Léčivé prameny	Obsah lithia [mg·l ⁻¹]
Jaroslava	14,4 [6]
MUDr. Šťastného	12,7 [7]
Nová Vincentka	11,1 [8]
Viola	10,5 [9]
Aloiska	7,77 [10]
Ottovka	6,12 [11]
Svatý Josef	4,25 [12]

V roce 1996 byla provedena Studie výskytu stopových prvků v pitné vodě České republiky [13]. Bylo odebráno 345 vzorků. 6,1 % vzorků obsahovalo nad 50 µg lithia na litr, v 73,6 % případů pod 10 µg·l⁻¹. V roce 1995 bylo 2,9 % vzorků s obsahem lithia větším než 50 µg·l⁻¹ a 78,9 % pod 10 µg·l⁻¹. Poznámka: kromě lithia byly sledovány i obsahy jiných kovů. Nejvyšší mezní hodnota pro obsah beryllia v pitné vodě byla překročena v 7,2 % analýz, u boru to bylo v 4,1 % analýz. U niklu a vanadu nebyla nejvyšší mezní hodnota překročena. Limitní hodnoty byly stanoveny roku 1984 v souladu se Světovou zdravotnickou organizací.

Dále zpráva [13] obsahuje studii o vylučování lithia močí u 54 dětí ve věku 8 – 9 let a ve 108 vzorcích dospělých osob. U chlapců ve více než 45 % analyzovaných močí byl obsah lithia nižší než 10 µg·l⁻¹ a dalších 25 % bylo v rozmezí 10 – 20 µg·l⁻¹. U dívek v 17 % případů moče obsahovaly lithium méně než 10 µg·l⁻¹ a 48 % vzorků bylo v rozmezí 10 – 20 µg·l⁻¹. U vzorků močí mužů ve 38 % případů byly obsahy lithia v rozmezí

10 – 20 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a v 25 % případů v oblasti 20 – 30 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. U žen byl obsah lithia ve 42 % případů 10 – 20 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a ve 21 % bylo 20 – 30 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Výše uvedené analýzy byly zpracovány analytickou laboratoří oddělení hygieny vody Státního zdravotního ústavu a byly provedeny pomocí atomové absorpční spektroskopie [13].

1.4 Využití lithia

Využití lithia a jeho sloučenin je značné [5]. Nejvýznamnějším použitím lithia (uhličitanu lithného) je ve sklářském a keramickém průmyslu. Přídavek uhličitanu lithného snižuje bod tání a viskozitu skla a keramických hmot. Eliminuje tak teplotní roztažnost výrobků. Při výrobě hliníku lze za pomoci uhličitanu lithného přidaného ke kryolitu snížit teplotu taveniny.

Z lithia se připravují různé lithné chemikálie, 54% roztokem bromidu lithného se nahrazují v chladicích systémech chlorofluorované uhlovodíky. Při výrobě kaučuku a plastů se využívají katalyzátory na bázi lithia.

Z hydroxidu lithného se vyrábí stearan lithný, který se přidává do mazacích tuků a motorových olejů pro zlepšení viskozity a odolnosti proti vodě. Lithné sloučeniny dodávají barvivům a pigmentům větší lesk.

Kovové lithium se používá v anodách baterií a článků, v elektronických přístrojích a mobilních telefonech se lithium využívá ve formě Li-polymeru v plochých bateriích. Lithium tvoří slitiny s hořčíkem a tyto slitiny lze uplatnit v automobilovém a leteckém průmyslu. Předpokládán je upotřebení lithia v jaderné fúzi (kolem roku 2050).

Kromě technického využití lithia se uhličitan lithný využívá jako lék v psychiatrii. Patří do skupiny stabilizátorů nálad. Příznivě působí na nervovou soustavu a ovlivňuje chování člověka. Používá se na snížení výkyvů nálad u pacientů s manicko-depresivními (bipolárními) poruchami. Mechanismus působení lithia v organismu není přesně objasněn, možností je působení na neurony (inhibice inositol-1-fosfatázy), účinky na neurotransmitery (zvyšuje účinky serotoninu, snižuje účinky dopaminu a noradrenalinu) a vliv na intracelulární koncentrace iontů (K, Na, Ca, Mg).

U maniodepresivní psychózy stačí samotné lithium k úspěšné léčbě pouze mírné mánie, jinak je nutno použít antipsychotické látky. U depresivní fáze je s lithiem používáno antidepresivum. Lithium je malý anorganický kation, v organismu není metabolizován, ale je distribuován v tělesné vodě a lze jej stanovit v tělních tekutinách. Lithium je z velké části vylučováno ledvinami.

Při léčbě lithiem se mohou objevit různé nežádoucí účinky. Mezi nejčastější patří třes a otoky, můžou se objevit průjmy, nauzea a zvracení. Při dlouhodobém užívání lithia se ničí ledviny a dočasně se snižuje funkce štítné žlázy. Vznikají kardiovaskulární poruchy, parkinsonismus, akné a další.

Lithium nesmí užívat těhotné a kojící ženy, proniká přes placentu a do mateřského mléka. U kojenců se toxicita lithia projevuje letargií, cyanózou, potlačením sacího a Moroova reflexu. Riziko teratogenity není zanedbatelné.

V léčbě lithiem může dojít k terapeutickému předávkování kumulací lithia při změně stavu pacienta (změny funkce ledvin, v těhotenství, při podání diuretik). Plazmatické koncentrace lithia nad $2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ se považují za toxické [14, 15].

I přes nežádoucí účinky lze lithium podávat dlouhodobě. Po jeho postupném vysazení se neobjevují žádné abstinenční příznaky [16].

Ve studii [17] byla zkoumána sebevražedná mortalita na 100 000 obyvatel v závislosti na výskytu lithia v pitné vodě. V letech 2005 – 2010 bylo odebráno 6460 vzorků ze všech 99 okresů Rakouska. Analýza byla provedena emisní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou, nejnižší obsah lithia byl $0,0033 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejvyšší $0,0823 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Tato práce poskytuje silný důkaz, že geografické regiony s vyššími přírodními koncentracemi lithia v pitné vodě jsou spojeny s nižší mírou sebevražedné mortality [17].

Oproti tomu existují studie, které nepotvrzují prospěšný účinek lithia a naopak lithium zkoumají jako potenciálně toxický prvek z důvodu dlouhodobé (celoživotní) expozice [18]. Pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) byla v Andách v severní Argentině studována vysoká koncentrace arsenu v pitné vodě (až do $210 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) a v moči zkoumaných žen ($26 - 266 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Současně zde byly nalezeny vysoké koncentrace lithia (v pitné vodě nejvyšší $1000 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a v moči $340 - 4550 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), cesia, rubidia (jen v pitné vodě) a boru. Vzhledem k velkému rozsahu koncentrací prvků by všechny vodní zdroje určené k zásobení pitnou vodou měly být analyzovány [18].

1.5 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je vypracovat metodu stanovení lithného kationtu v minerální vodě Vincentka a Bílinská kyselka elektroforézou v krátké kapiláře s bezkontaktní vodivostní detekcí a porovnat výsledky se stanovením lithia atomovou absorpční a emisní spektrometrií.

2 Teoretická část

2.1 Analytické stanovení lithia

2.1.1 Přehled metod stanovení lithia

Alkalické kovy lze jednoduše dokázat zbarvením plamene. Platinový drátek se namočí do roztoku alkalické soli a poté se vloží do plamene. Každý alkalický kov plamen charakteristicky zbarví, což je způsobeno přímou excitací vnějšího elektronu. Lithium zbarví plamen karmínově červeně (sodík žlutě, draslík fialově, rubidium červenofialově a cesium modře) [1].

Lithium je možno stanovit gravimetricky, tedy vyloučením stanovovaného prvku ve formě málo rozpustné sloučeniny, převedením na sloučeninu o známém složení a následném zvážení. Lithné soli tvoří s hlinitanem sodným nebo draselným sraženinu $\text{Li}[\text{Al}_2(\text{OH})_7]$, chlorid hlinitý se převede na hlinitan sodný nebo draselný hydroxidem. Ani velký nadbytek sodných nebo draselných iontů reakci neruší. Další sraženinu, fosforečnan lithný, lze připravit reakcí hydrogenfosforečnanu sodného s lithnými ionty. Při srážecí reakci vznikají vodíkové ionty, které se odstraní přidáním amoniaku. Ionty, které tvoří nerozpustné fosforečnany a hořečnaté ionty reakci ruší. Třetí sloučeninou je uhličitan lithný vzniklý vysrážením z koncentrovaných roztoků uhličitanem amonným. Tato reakce je rušena ionty alkalických zemin, ale nikoli ionty alkalických kovů [19].

Dalším způsobem stanovení lithia je kolorimetrie. Tato metoda je založena na vyloučení jodistanu železitodraselnolithného a následném stanovení obsahu železa v komplexu. Lithné soli reagují s jodistanem železitodraselným za vzniku žluté sraženiny LiKFeIO_6 . Sedlina je rozpuštěna v kyselině chlorovodíkové. V tomto roztoku se stanoví obsah železa, a to metodou za použití hexakynoželeznanu draselného nebo thiokyanidu draselného nebo o-fenanthrolinu. Použité chemikálie nesmí obsahovat stopy železa. Všechny prvky, které se srážejí s činidlem, stanovení ruší, je třeba oddělit všechny těžké kovy a poté oddělit lithium od kovů alkalických zemin. Chlorid lithný je snadno rozpustný v některých organických rozpouštědlech na rozdíl od ostatních kovů alkalických zemin, proto se používá extrakce chloridu lithného do směsi ethanolu a etheru a do pyridinu [20].

Potenciometrické měření aktivity iontů ve vodných roztocích umožňují iontově selektivní elektrody (ISE). Poločlánek ponořený do roztoku se skládá z iontově selektivní membrány, vnitřního elektrolytu a vnitřní referentní elektrody. Druhý poločlánek je vnější srovnávací elektroda. Pro stanovení koncentrací stopových prvků se využívají ISE

s pevnou membránou. Membrána je z málo rozpustných solí, které mohou být z monokrystalu, ztuhlých tavenin nebo polykrystalických tablet lisovaných z práškových solí. U těchto elektrod jsou vnitřní elektrolyt a vnitřní referenční elektroda nahrazeny kovovým kontaktem, na němž vzniká konstantní potenciál. Membrány mohou být i z polymerních matric, do kterých jsou zabudovány heterogenní směsi sraženin. Toho se využívá pro stanovení lithných iontů [21].

Pro zjištění přítomnosti většího množství kationtů ve vodách lze podle České technické normy ČSN EN ISO 17294-1 [22] použít ICP-MS. (Indukčně vázaná plazma je použita jako zdroj iontů a hmotnostní spektrometr separuje ionty podle hmotnosti.) V tomto případě je plazma tvořena mrakem horkého a částečně ionizovaného (asi 1 %) plynného argonu. Používá se argon o čistotě 99,99 %. Plazma je udržována radiofrekvenčním polem. Vzorek je čerpadlem dopravován do zmlžovače, kde v rozprašovací komoře přechází na aerosol, který je proudem argonu nesen do hořáku. V hořáku se argonovou plazmou rozpouštědlo ze vzorku odpaří a přítomné sloučeniny jsou disociovány a atomizovány. V hmotnostním spektrometru jsou ionty separovány a prvky jsou identifikovány podle svých poměrů hmotnosti k nábojovému číslu (m/z). Koncentrace prvků je úměrná počtu iontů. Z detektoru spektrometru jsou údaje signálů předávány ke zpracování a řízení přístroje. Jen zlomek nasátých atomů analytu dojde k detektoru ve formě iontu. S tím je spojena i závislost koeficientu úměrnosti mezi odezvou a koncentrací analytu. Koeficient úměrnosti se stanoví měřením kalibračních roztoků (kalibrací). Další ČSN EN ISO 17294-2 [23] uvádí použití této metody ke stanovení 62 prvků včetně lithia.

Pro analýzu několika kationtů včetně lithia byla v práci [24] použita iontová chromatografie s vodivostní a spektrofotometrickou detekcí. Mimo jiné bylo podle výsledků dokázáno, že lithium lze ve vzorcích minerálních vod stanovit použitím polymerního sloupce (polybutadien maleinový silikagel) a výsledky analýzy jsou v souladu s výsledky z atomové absorpční spektrometrie.

V neposlední řadě lze lithium stanovit kapilární elektroforézou a různými spektroskopickými metodami.

2.1.2 Kapilární elektroforéza

2.1.2.1 Kapilární elektromigrační metody

Elektroforéza odděluje látky elektrickou migrací tak, že se ionizované nebo alespoň vysoce polární látky pohybují pod vlivem elektrického pole. Rychlost pohybu látek závisí jednak na jejich molekulové hmotnosti a náboji a dále na viskózním odporu media, v němž se látky pohybují [25].

Separace se nejčastěji provádí v křemenných kapilárách o vnitřním průměru od 10 do 100 μm . Kapilární elektromigrační metody mají několik výhod, jako je malá spotřeba vzorků a činidel nutných pro separaci, velká separační účinnost a současně i rychlost analýzy. Mezi nevýhody patří menší opakovatelnost měření a nižší citlivost. Podle media přítomného v separační kapiláře lze kapilární elektromigrační metody rozdělit do šesti variant [26]:

- Kapilární zónová elektroforéza (CZE)
- Kapilární gelová elektroforéza (CGE)
- Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC)
- Elektrochromatografie v naplněných kapilárách (CEC)
- Kapilární izoelektrické fokusování (CIEF)
- Kapilární izotachoforéza (CITP)

2.1.2.2 Kapilární zónová elektroforéza

Nejčastěji používanou a nejjednodušší metodou je kapilární zónová elektroforéza. Lze jí stanovit anorganické i organické látky, jejichž molekuly mohou v důsledku ionizace nebo disociace nést kladný nebo záporný náboj. Molekuly, které se liší hmotností, tvarem a nábojem lze separovat. Molekuly se dělí na základě svých rozdílných elektroforetických pohyblivostí (mobilit). Na separaci se podílí elektroosmotický tok (EOF) roztoku uvnitř kapiláry, který unáší kladně nabitě ionty ke katodě. Pokud anionty migrují k anodě rychlostí menší než je rychlost EOF, kapilární zónovou elektroforézou lze najednou dělit anionty i kationty, ale nelze jí dělit neutrální molekuly. Velikost i směr EOF lze modifikovat vhodnými modifikátory. Používaná kapilára z tavného křemene je potažena vrstvou polyimidu, která zvyšuje pružnost kapiláry a lze jí bezpečně manipulovat, aniž by hrozilo zlomení kapiláry [26].

2.1.2.3 Elektroforetická pohyblivost

Elektroforetická pohyblivost je pohyb iontů v elektrickém poli. Elektrický náboj je elektrostaticky přitahován k opačně nabitě elektrodě. Kation obklopený iontovou sférou aniontů a molekulami vody je přitahován ke katodě, anion je přitahován k anodě. Částice je zároveň brzděna třecí silou. Hnací a třecí síla jsou si v ustáleném stavu rovny a platí rovnice:

$$QE = 6\pi\eta rv, \quad (2-1)$$

kde Q je celkový náboj iontu, E [$\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$] je intenzita elektrického pole, η viskozita okolního prostředí [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$], r poloměr iontu a v [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] je elektroforetická pohyblivost.

Intenzita elektrického pole E v separační kapiláře je podíl napětí U vloženého na elektrody a délky kapiláry L :

$$E = U / L \quad (2-2)$$

Ionty se v homogenním elektrickém poli pohybují elektroforetickou rychlostí, která je konstantní a přímo úměrná intenzitě elektrického pole a pohyblivosti daného iontu μ [$\text{m}^2\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$]:

$$v = \mu E \quad (2-3)$$

Z výše uvedených vztahů vyplývá, že elektroforetické mobility iontů v homogenním elektrickém poli jsou různé pro ionty různých poloměrů a různých nábojů a dají se vypočítat pomocí vzorce:

$$\mu = Q / 6\pi\eta r. \quad (2-4)$$

Elektroforetické pohyblivosti a rychlosti kationtů jsou kladné, u aniontů jsou záporné. Závisejí na charakteru analyzované látky a jsou proto kvalitativní informací o analytu [26].

2.1.2.4 Elektroosmotický tok

Pokud je vloženo napětí mezi elektrody na konci kapiláry, vytvoří se elektrické pole a kapalina proudí kapilárou. Tento jev se nazývá elektroosmotický tok. Po naplnění kapiláry elektrolytem dochází na vnitřní stěně kapiláry k hydrolýze siloxanových skupin ($\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$) a vznikají silanolové skupiny ($\equiv\text{Si}-\text{OH}$). Dále dochází k disociaci silanolových skupin a vnitřní povrch se pokryje křemičitanovými skupinami ($\equiv\text{Si}-\text{O}^-$).

Vnitřní povrch kapiláry se nabije záporně a v roztoku přilehlém k vnitřní stěně kapiláry tvoří kationty přítomné v roztoku kladně nabitou vrstvu. V elektrickém poli se

hydratované kationty pohybují směrem ke katodě a s sebou strhávají roztok uvnitř kapiláry a vzniká elektroosmotický tok.

Elektroosmotický tok závisí na pH elektrolytu (pufru) uvnitř kapiláry. Čím je pH vyšší, tím větší je negativní náboj na vnitřní stěně kapiláry a tím je rychlejší elektroosmotický tok. Elektroosmotický tok je také rychlejší, pokud se použije pufr o nižší koncentraci.

Při průchodu elektrického proudu kapilárou se vytváří Jouleovo teplo (přeměněný elektrický výkon), které je nutno odvádět, jinak se ohřívá separační elektrolyt a deformuje se rychlostní profil a klesá separační účinnost. V komerčních přístrojích je kapilára chlazena vzduchem nebo kapalinou proudící kolem kapiláry [26].

2.1.2.5 Detektory v kapilární elektroforéze

V kapilární elektroforéze se používá UV-VIS detektor, který je jednoduchý, ale zároveň méně citlivý, než například elektrochemické a laserem indukované fluorescenční (LIF) detektory. Jimi lze ale stanovit pouze některé látky. Výhodné je spojení kapilární elektroforézy s hmotnostním spektrometrem (CE-MS), nevýhodou je nákladnost metody a delší čas analýzy. Citlivými metodami jsou elektrochemiluminiscence (ECL) a bezkontaktní vodivostní detekce [27].

2.1.2.6 Kapilární elektroforéza s bezkontaktní vodivostní detekcí

Kombinace kapilární elektroforézy s bezkontaktní vodivostní detekcí (Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection, C⁴D) významně rozšířila použitelné detekční metody a je v současnosti běžně používanou technikou v separačních metodách. Nejčastěji je využívána v kapilární elektroforéze a elektroforéze na čipu. Bezkontaktní detekční cely se skládají ze dvou elektrod na vnějším povrchu kapiláry. Na jednu elektrodu je přiváděn střídavý signál, který prochází kapilárou a je snímán druhou elektrodou [28]. Největší výhodou bezkontaktních vodivostních detektorů je, že elektrody nejsou v kontaktu s analyzovaným roztokem, tudíž na elektrodě nedochází k nežádoucím reakcím mezi roztokem a povrchem elektrody. Kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí lze stanovit nejrůznější látky, například proteinogenní aminokyseliny v biologických tekutinách [29], některé kationty a anionty [30], anorganické kationty v minerálních vodách a vybrané složky roztoku prokainu [31], kreatin, fosfokreatin a další biochemicky významné látky [32] a sacharidy v energetických nápojích [33]. Význam bezkontaktní vodivostní detekce je patrný i z mnoha přehledových článků věnovaných výsledkům elektroforetických stanovení s touto detekcí, viz např. [34, 35, 36, 37].

2.1.2.7 Využití kapilární elektroforézy

Uplatnění kapilární elektroforézy je značné, velmi často je využívána např. v medicíně. Lze ji použít pro stanovení léčiv v biologickém materiálu (plazmě, séru a moči) [27] a k identifikaci bakterie *Escherichia coli* ve farmaceutických přípravcích i ve fekálně znečištěných vodách [38]. Nově bylo prokázáno, že kapilární elektroforézou lze charakterizovat a rozdělit na frakce kmenové buňky tukové tkáně [39]. Zajímavostí je stanovení karboxylových kyselin v silážích [40]. Další aplikace lze nalézt např. v přehledovém článku [41].

2.1.3 Spektroskopické metody

2.1.3.1 Atomová absorpční spektroskopie

Atomová absorpční spektroskopie je optická srovnávací metoda založena na měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy prvků. Atomový absorpční spektrometr se skládá ze zdroje primárního záření, absorpčního prostředí s volnými atomy analyzovaného prvku v plynném prostředí a detekčního systému. V absorpčním prostředí absorbují atomy prvku vlnové délky dopadajícího záření, monochromátor vybranou čáru izoluje a v detektoru (fotonásobič) je monitorováno zeslabení toku původního záření.

Jako zdroje primárního záření se používají výbojky s dutou katodou, bezelektroodové výbojky a laditelné barvivové lasery. Výbojky s dutou katodou (HLC) jsou nejpoužívanějším zdrojem.

Další část spektrometru, atomizátor, převádí stanovované prvky z kapalně fáze do plynné. Musí poskytovat co největší koncentraci volných atomů v základním energetickém stavu. Atomizace je plamenná (F – AAS), elektrotermická (ETA – AAS) nebo v křemenných atomizátorech. Při plamenné atomizaci je do hořáku vedena směs paliva a okysličovadla (nejčastěji acetylen a vzduch nebo oxid dusný). Pneumatické zmlžovače zavedou kapalnou vzorek do plamene a tím dojde k vytvoření aerosolu. Účinnost zmlžovačů je malá (kolem 10 %) a závisí na rychlosti proudění oxidantu a vlastnostech použitého rozpouštědla. Oproti kapilární elektroforéze je spotřeba vzorků značná.

Při elektrotermické atomizaci (ETA) je malé množství vzorku vyhříváno průchodem elektrického proudu (v atmosféře argonu) a celé nadávkované množství vzorku absorbuje primární záření, proto je koncentrace volných iontů v plynné fázi vyšší než při plamenové atomizaci.

Pokud je elektromagnetické záření absorbováno volnými atomy prvků a poté je energie vyzářena emisí fotonu, jedná se o atomovou fluorescenční spektrometrii (AFS) [42].

2.1.3.2 Atomová emisní spektrometrie

Analyzovaná látka je dodáním energie převedena do excitovaného atomárního stavu a přechodem do energeticky chudších stavů vyzáří polychromatické nespojitě záření, které je optickým zařízením rozloženo. Tímto rozložením se dostane čárové spektrum, kde polohy určují kvalitu a intenzita čar kvantitu analyzovaného prvku.

Přístroje pro atomovou emisní spektrometrii se skládají z budícího zdroje, spektrálního přístroje (s disperzním prvkem) a detektoru. Budícími zdroji může být plamen, elektrický výboj (oblouk, jiskra), plazmový zdroj nebo laserový budící zdroj. Plamen excituje pouze prvky s nízkým excitačním potenciálem (alkalické kovy a kovy alkalických zemin). Je ze směsi paliva a oxidantu, podmínkou je, aby jejich emise nebyla v oblasti měřených vlnových délek. Nejčastěji se používá směs acetylenu a vzduchu.

V plameni je aerosol vzorku odpařen a disociován na volné atomy, které se excitují a vysílají čárové spektrum, záření je disperzním systémem rozloženo a intenzita zvolené čáry je úměrná koncentraci prvku ve vzorku [42].

V emisní spektrometrii vedlo použití plamene k rozvoji plamenové fotometrie. Tato metoda našla pro svoji jednoduchost uplatnění při stanovení lithia a alkalických kovů a zemin již před 51 lety – popsáno v práci [43]. Na stanovení lithia má vliv velký přebytek sodíku, který snižuje výsledky, ale ani dvacetinásobný přebytek draslíku a vápníku neovlivňuje stanovení lithia. Přítomnost velkého množství amonných iontů snižuje výsledky stanovení lithia, sodíku, draslíku i vápníku [43].

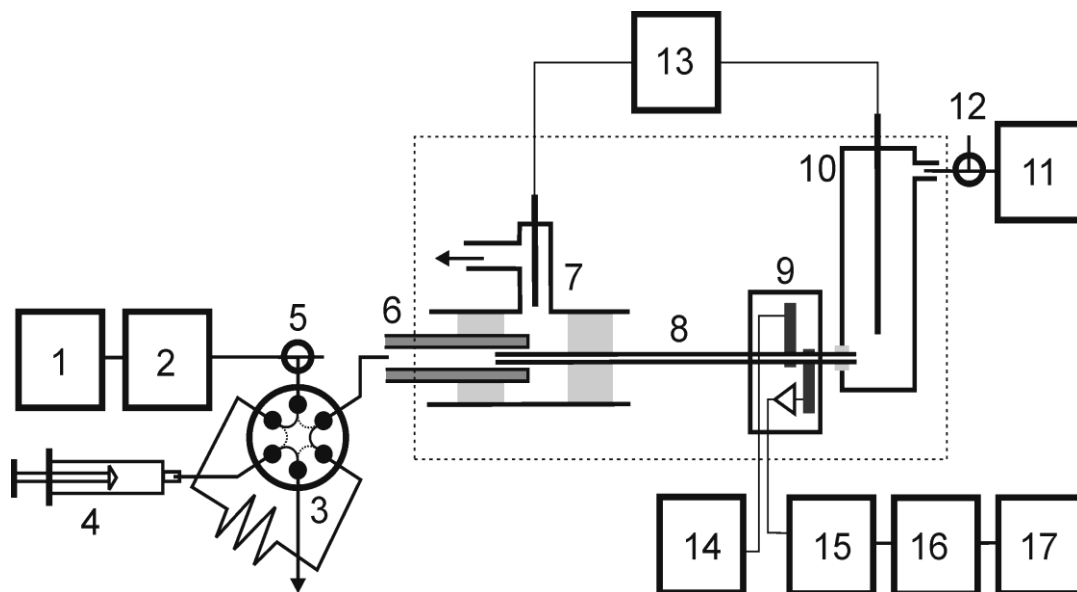
Budícím plazmovým zdrojem může být stejnosměrná plazma, mikrovlnně indukovaná plazma nebo indukčně vázaná plazma (ICP). Indukčně vázaná plazma vzniká generováním vysokofrekvenční energie z generátoru a přenosem této energie cívkou. Nejdůležitější částí přístroje atomové emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou je plazmová hlavice. V ní se vytváří plazma ve tvaru prstence a jejím středem prochází proud vzorku. Kapalné vzorky se zmlžují Babingtonovým nebo ultrazvukovým zmlžovačem, který je mnohem účinnější než pneumatické zmlžovače. Disperzním prvkem je hranol nebo mřížka a detekce signálu může být fotografická nebo fotoelektrická [42]. Indukčně vázaná plazma je v kombinaci s hmotnostním spektrometrem vhodnou metodou pro stanovení lithia [23].

3 Experimentální část

3.1 Kapilární elektroforéza s bezkontaktní vodivostní detekcí

3.1.1 Měřicí aparatura – elektroforetická separace v krátké kapiláře

Experimentální část bakalářské práce byla provedena ve specializované, v laboratoři zhotovené aparatuře pro provádění separací v krátkých kapilárách, viz. obr. 1.



Obr. 1: Schéma aparatury používané pro elektroforézu v krátkých kapilárách.

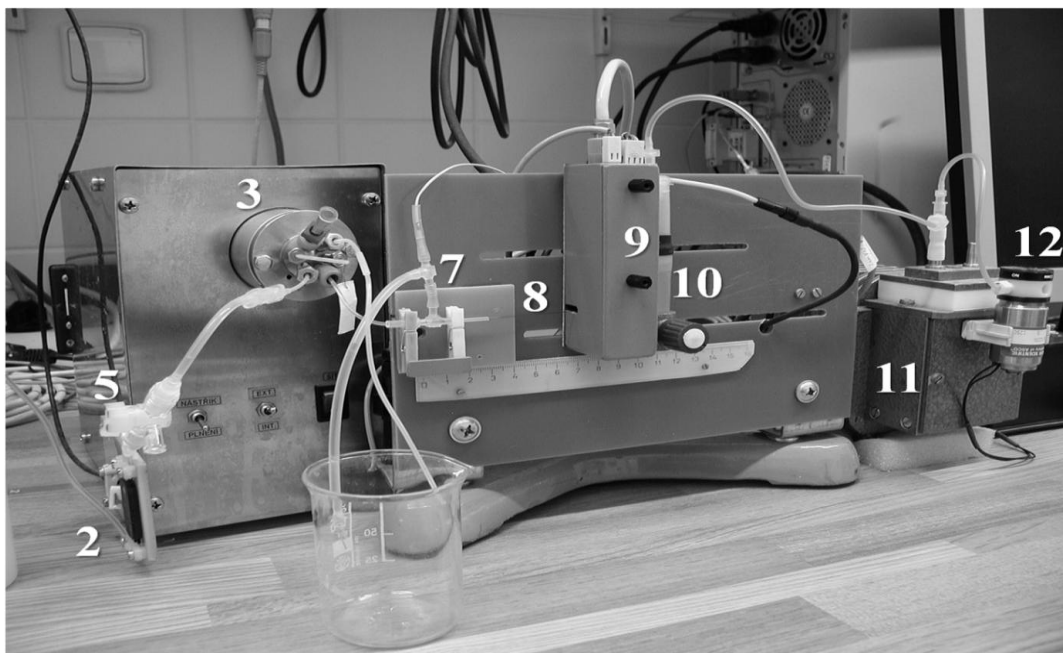
1 – zásobník separačního pufru, 2 – dávkovací pumpa, 3 – šesticečný dávkovací ventil, 4 – plnění dávkovací smyčky, 5 – třicečný ventilek, 6 – PTFE trubička, 7 – dávkovací nádobka se zemnicí elektrodou, 8 – separační kapilára, 9 – detektor, 10 – koncová nádobka s vysokonapěťovou elektrodou, 11 – promývací membránová pumpa, 12 – třicečný ventilek, 13 – zdroj vysokého napětí, 14 – zdroj střídavého napětí, 15 – zesilovač, 16 – A/D převodník, 17 – řídicí počítač. Podle [44].

Plexisklová dávkovací nádobka (7), detektor (9) a koncová nádobka (10) jsou umístěny na novodurové destičce. Trubička z PTFE (polytetrafluorethylen) (6) o vnějším průměru 1,58 mm a vnitřním průměru 0,8 mm (Supelco, USA) přivádí vzorek od elektromagneticky ovládaného dávkovacího ventilu (3) (typ C102M, Labio, ČR) s dávkovací smyčkou o objemu 15 μ l. Smyčka je plněna injekční stříkačkou (4). Do PTFE trubičky je zasunut dávkovací konec kapiláry (8). Dávkovací piezoelektrická mikropumpa

(typ mp6 ovládaná mp-x kontrolerem, Bartels mikrotechnik, Německo) (2) pumpuje separační pufr ze zásobní nádoby (1). Dávkovací mikropumpa je zapnuta současně s přepnutím dávkovacího ventilu do polohy „inject“. Přesně definovaný objem vzorku z dávkovací smyčky je unášen proudem separačního pufru kolem dávkovacího konce kapiláry a přebytek separačního pufru odtéká do odpadu. Vysoké napětí je na elektroforetické elektrody přiváděno i při dávkování vzorku, tudíž je vzorek nadávkován hydrodynamicky i elektrokineticky. Aby separační pufr nevtékal zpět do zásobníku i v době, kdy je pumpa neaktivní, je mezi dávkovací pumpou a dávkovací nádobkou zpětný ventilek (typ 14039-10, WPI, USA) a plastový třicestný ventilek (5) (typ 14035-10, WPI, USA), kterým lze přímo nadávkovat roztok do dávkovací nádoby. Konec kapiláry prochází stěnou koncové nádoby (objem 5 ml, K000737, P-Lab, ČR). Kapilára může být promývána separačním pufrům mezi jednotlivými analýzami po vytvoření tlaku v koncové nádobce membránovou pumpou (11) (typ M 401, JZD Výčapy, ČR). Mezi membránovou pumpou a koncovou nádobkou je elektromagneticky ovládaný třicestný ventil (12). Jestliže je membránová pumpa aktivní, koncová nádoba je hermeticky uzavřena, po vypnutí pumpy ventil podtlak okamžitě zruší. Elektroforetické elektrody jsou platinové drátky. Jako vysokonapěťový zdroj (13) (napětí až 5 kV) byl použit typ PS 350/5000 (Stanford Research Systems, USA).

Experiment byl prováděn kapilární elektroforézou s bezkontaktní detekcí, kde v detekční cele jsou dvě semitubulární elektrody vzdálené od sebe 1 mm z hliníkové fólie šířky také 1 mm. Elektrody jsou umístěny v drážce v plexisklové destičce o stejném průměru jako vnější průměr kapiláry, druhá plexisklová destička tiskne kapiláru k elektrodám. V blízkosti detekční cely v kovové skříňce chránící celu je snímač střídavého proudu a usměrňovač. Vstupní střídavý signál má frekvenci 320 Hz, amplitudu 18 V a je odebrán ze zdroje s integrovaným obvodem MAX 038 (14) (Maxim, USA). Signál z detektoru je usměrněn a zesílen zesilovačem (15) a registrován A/D převodníkem (16) (24 bitů, Panther 1000). Převodník je řízen programem Ecomac 0,97 a pro spouštění registrace je použita jednotka Panda 30 (Ecom, s.r.o., ČR). Počítač (17) s měřicí kartou PCI-6034E a programem (National Instruments, USA) řídí přepínání dávkovacího ventilu, spouštění piezoelektrické pumpy, registrace dat a ovládání promývací pumpy [44].

Celkový pohled na aparaturu pro elektroforetickou separaci v krátké kapiláře je na obr. 2, označení jednotlivých částí aparatury koresponduje s označením v obr. 1 a v textu.



Obr. 2: Aparatura pro elektroforetickou separaci v krátké kapiláře

3.1.2 Chemikálie

Všechny roztoky byly připraveny z deionizované vody (Milli-Q Plus, Millipore, USA). Kyselina octová ledová (Fluka), TRIS (tris(hydroxymethyl)aminomethan) (Sigma), roztoky testovaných kationtů byly připravovány z jejich chloridů (Penta, ČR).

Pro přípravu pufru o koncentraci 50 mM kyseliny octové a 20 mM TRIS a výsledného pH 4,43 bylo naváženo 1,21 g TRIS, kvantitativně převedeno do 500 ml odměrné baňky, dále bylo do baňky odměřeno 1,5 ml kyseliny octové a baňka byla doplněna po rysku.

Modelový roztok kationtů K^+ , Ba^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} a Li^+ (dále jen modelový roztok) o koncentraci 50 μM každého kationtu byl připraven ředěním ze zásobních roztoků o koncentracích 0,1 $mol \cdot l^{-1}$.

Kalibrační roztoky pro stanovení lithia byly připravovány ze zásobního roztoku chloridu lithného o koncentraci 819 $mg \cdot l^{-1}$ Li^+ navážením, kvantitativním převedením 0,50 g chloridu lithného do 100 ml odměrné baňky a doplněním baňky po rysku.

Analyzované vzorky minerálních vod Vincentka a Bílinská kyselka byly zakoupeny v obchodní síti a uskladněny v lednici. Před každou sérií měření byly minerálky odlity do odměrných baněk a sonikovány 15 – 20 minut do vymizení veškerého oxidu uhličitého.

3.1.3 Pracovní postup

Nejprve byla kapilára aktivována po dobu 10 minut 0,1 M roztokem hydroxidu sodného a následně deionizovanou vodou po dobu několika minut. Do aparatury byl poté nasát pufr a kapilára byla opět několikrát promyta puftrem. Pro měření bylo nastaveno separační napětí 5000 V, proud byl 5 μA , u piezoelektrické dávkovací pumpy byla frekvence 100 Hz a napětí 250 Vpp. Po ověření funkčnosti aparatury s modelovým roztokem byla zjišťována opakovatelnost migračních časů, ploch a výšek píků při napětí 5000 V; tato měření byla prováděna sedmkrát.

Dále byla sledována závislost migračních časů na separačním napětí. Modelové roztoky byly proměřeny pětkrát při separačním napětí 5000 V, 4000 V, 3000 V, 2000 V, 1000 V a vyhodnoceny.

Získané elektroferogramy byly porovnány s teoretickým elektroferogramem vytvořeným v programu PeakMaster 5.1 [45]. Do programu byly zadány všechny kationty z modelového roztoku v nízké koncentraci, délky kapiláry, separační napětí a složení pufru. Byla zvolena korekce na iontovou sílu a nulový elektroosmotický tok.

Při stanovování obsahu lithia v minerálních vodách kapilární elektroforézou byla použita metoda standardního přídávku. Ze zásobního roztoku chloridu lithného o koncentraci 819 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ Li^+ bylo odebráno 0,5 ml do 50 ml odměrné baňky a deionizovanou vodou byla baňka doplněna po rysku. Takto vznikl roztok o koncentraci 8,19 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ Li^+ , který byl přidáván do odměrných baněk s napipetovanými minerálkami. Roztoky pro měření byly připravovány v šesti 10 ml odměrných baňkách. Do tří baněk bylo automatickou pipetou napipetováno 0,5 ml Vincentky, do druhé baňky z těchto tří byl přidán 1 ml a do třetí baňky byly přidány 2 ml připraveného roztoku. Do dalších tří baněk bylo napipetováno 0,5 ml Bílinské kyselky, do druhé 0,5 ml a do třetí 1 ml připraveného roztoku. Všechny baňky byly doplněny po rysku vodou. Měření bylo pro každý roztok provedeno pětkrát a výsledky byly vyhodnoceny. Výsledky byly vyhodnoceny programem CSW 1.7.

3.2 Atomová absorpční a emisní spektroskopie

3.2.1 Měřicí aparatura – spektrofotometr

Měření byla prováděna na přístroji AAS 3 (Carl Zeiss, Jena). Stanovení absorbcí byla prováděna při vlnové délce 670,8 nm a šířce štěrbin 0,1 nm s plamenem

acetylen – vzduch a následně s plamenem acetylen – oxid dusný. Stanovení emisí byla prováděna s plamenem acetylen – vzduch při stejné vlnové délce a šířce štěrbin.

3.2.2 Chemikálie

Při spektrofotometrických měřeních byly použity sonikované minerálky a roztok chloridu lithného o koncentraci lithia $819 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

3.2.3 Pracovní postup

Z kalibračního roztoku byl naředěn roztok o výsledné koncentraci lithia $8,19 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Tento roztok byl dále ředěn v 50 ml odměrných baňkách tak, že koncentrace Li^+ v kalibračních roztocích byly $0,0819 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,1638 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,4095 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,819 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,638 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Roztoky na měření metodou standardního přidavku byly připraveny v šesti 50 ml odměrných baňkách. Do tří baněk bylo napipetováno automatickou pipetou 2,5 ml Vincentky, do první nebyl přidán připravený roztok o koncentraci $8,19 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, do druhé bylo přidáno 5 ml a do třetí baňky 10 ml tohoto roztoku. Do dalších tří baněk bylo napipetováno 2,5 ml Bílinské kyselky, do druhé baňky bylo přidáno 2,5 ml a do třetí baňky 5 ml připraveného roztoku. Všechny baňky byly doplněny po rysku vodou.

Nejprve bylo měřeno absorpcí s plamenem acetylen – vzduch, emisí se stejným plamenem a nakonec absorpcí s plamenem acetylen – oxid dusný. Spektrofotometr udával hodnotu průměru ze tří měření s příslušnou směrodatnou odchylkou.

3.3 Statistické vyhodnocení výsledků a použité vztahy

Statistické vztahy byly použity podle [46, 47]. Z výsledků měření byl určen medián pro sedm a méně hodnot, aritmetický průměr pro více hodnot.

Pro statistické zpracování výsledků byly použity následující vztahy.

Rozpětí:

$$R = x_{\max} - x_{\min} \quad (3-1)$$

Interval spolehlivosti:

$$L_{1,2} = K_n \cdot R \quad (3-2)$$

$$K_5 = 0,51, K_7 = 0,33$$

Separční účinnost N byla poté vyjádřena jako počet teoretických pater za jednotku času ($N/t_{\text{migr.}}$) [s^{-1}],

$$N = 5,54 \cdot \left(\frac{t_{\text{migr.}}}{Y_{1/2}} \right), \quad (3-3)$$

kde $t_{\text{migr.}}$ [s] je migrační čas příslušného iontu a $Y_{1/2}$ [s] je šířka píku v polovině výšky.

Šířka píku Y [s] při základně byla vypočtena dle vztahu:

$$Y = \frac{Y_{1/2}}{2,354} \cdot 4 \quad (3-4)$$

Pro výpočet rozlišení píků R_S platí vztah

$$R_S = \frac{t_{\text{migr.,2}} - t_{\text{migr.,1}}}{0,5 \cdot (Y_2 + Y_1)}, \quad (3-5)$$

kde $t_{\text{migr.}}$ [s] jsou migrační časy sousedních píků a Y [s] jsou šířky píků sousedních píků.

Pro aktuální elektroforetické pohyblivosti iontů μ_i [$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$] platí vztah

$$t_{\text{migr.,i}} = \frac{l \cdot L}{\mu_i \cdot U}, \quad (3-6)$$

kde $t_{\text{migr.,i}}$ [s] je pozorovaný (z elektroferogramu odečtený) migrační čas, l [cm] je délka kapiláry k detektoru, L [cm] celková délka kapiláry a U [V] separační napětí. Z tohoto vztahu plyne, že závislost převrácené hodnoty migračního času na separačním napětí je lineární směrnici, z níž lze určit elektroforetickou pohyblivost:

$$\frac{1}{t_{\text{migr.,i}}} = \frac{\mu_i}{l \cdot L} \cdot U \quad (3-7)$$

Dále byly pro porovnání počítány mobility i z tabelovaných [49] limitních molárních vodivostí iontů λ^∞ [$\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$] při 25 °C dělených Faradayovou konstantou F ($96\,485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$):

$$\mu_i = \frac{\lambda^\infty}{F} \quad (3-8)$$

Pro výpočet obsahu lithia z kalibračních grafů při metodě standardního přídavku byl použit vztah

$$c \text{ (mg} \cdot \text{l}^{-1}\text{)} = \frac{\text{úsek}}{\text{směrnice}} \cdot \frac{V}{V_x}, \quad (3-9)$$

kde V je celkový objem připraveného roztoku a V_x objem vzorku minerálky vzatý k analýze.

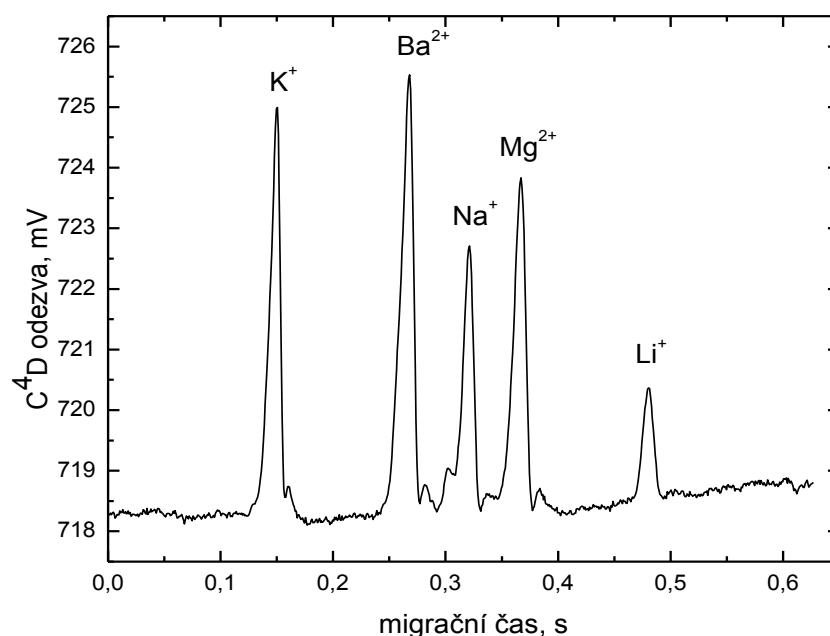
Výpočet obsahu lithia z lineárních kalibračních grafů byl proveden s použitím vztahu:

$$c \text{ (mg} \cdot \text{l}^{-1}\text{)} = \frac{\text{odezva} - \text{úsek}}{\text{směrnice}} \cdot \frac{V}{V_x} \quad (3-10)$$

4 Výsledky a diskuze

4.1 Kapilární elektroforéza modelové směsi kationtů

V první části práce byly separovány malé anorganické ionty v modelové směsi. Elektroferogram je na obr. 3. Opakovatelnost migračních časů, ploch píků, výšek píků a šířek píků v poloviční výšce, separační účinnost a rozlišení jsou uvedeny v tab. 2 a 3. Pro účely vysoce rychlých separací je vhodnější vyjadřovat separační účinnost jako počet teoretických pater za jednotku času, $N/t_{\text{migr.}}$, což lépe postihuje potřebu odseparovat velký počet látek během krátké doby [48]. Jak z elektroferogramu, tak i parametru rozlišení je vidět, že všechny ionty jsou zcela odděleny.



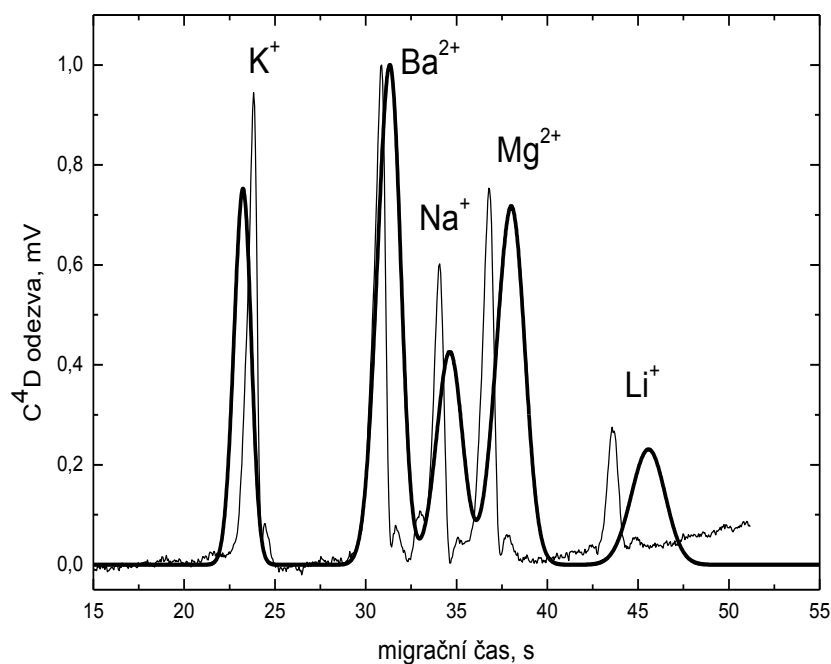
Obr. 3: Elektroferogram anorganických iontů v modelové směsi o ekvimolární koncentraci 50 μM . Separační pufr byl 50 mM kyselina octová a 20 mM TRIS, pH 4,43. Separační napětí bylo 5 kV a proud 5 μA .

Tab. 2: Medián naměřených hodnot a příslušné intervaly spolehlivosti při stanovování opakovatelnosti migračních časů, ploch a výšek píků iontů modelové směsi. Experimentální podmínky jsou uvedeny u obr. 3.

Kation	Migr. čas [s]	Plocha [mV·s]	Výška [mV]	$Y_{1/2}$ [s]
K^+	$24,87 \pm 0,10$	$4,77 \pm 0,17$	$6,80 \pm 0,16$	$0,66 \pm 0,00$
Ba^{2+}	$31,54 \pm 0,18$	$6,05 \pm 0,22$	$7,26 \pm 0,19$	$0,78 \pm 0,00$
Na^+	$34,89 \pm 0,20$	$3,46 \pm 0,21$	$4,42 \pm 0,18$	$0,66 \pm 0,00033$
Mg^{2+}	$36,98 \pm 0,24$	$4,87 \pm 0,31$	$5,51 \pm 0,19$	$0,78 \pm 0,00033$
Li^+	$44,42 \pm 0,36$	$1,28 \pm 0,04$	$1,85 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,00033$

Tab. 3: Separační účinnost vyjádřená jako počet teoretických pater za jednotku času (s), šířka píku při základně a parametr rozlišení.

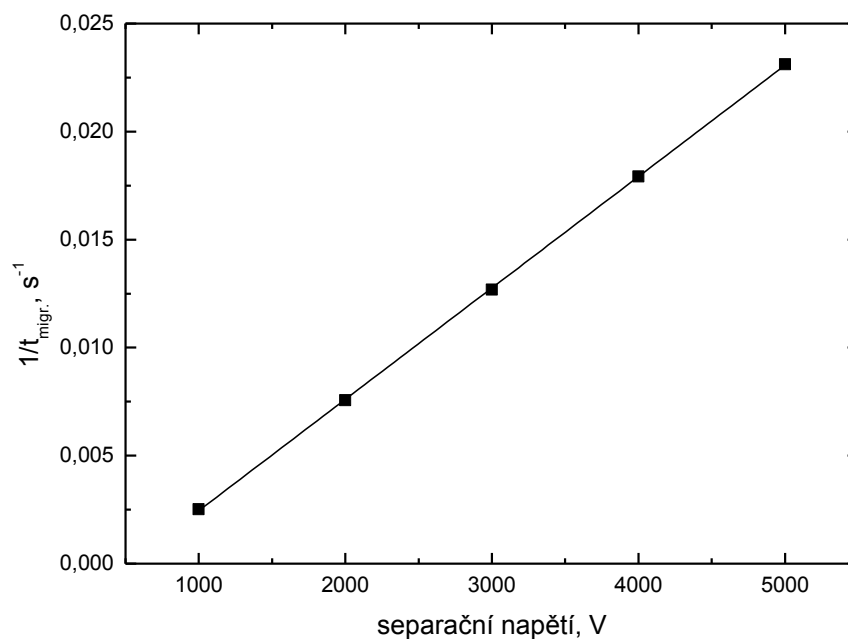
Kation	Sep. účinnost [$N/t_{migr.}$]	Šířka píku při základně [s]	Rozlišení	
K^+	302,95	1,12	$K^+ - Ba^{2+}$	5,68
Ba^{2+}	279,19	1,33	$Ba^{2+} - Na^+$	2,60
Na^+	430,38	1,12	$Na^+ - Mg^{2+}$	2,20
Mg^{2+}	333,82	1,33	$Mg^{2+} - Li^+$	5,18
Li^+	462,31	1,12	–	5,68



Obr. 4: Porovnání experimentálního elektroferogramu s teoretickým elektroferogramem vytvořeným v programu PeakMaster (tučně). Elektroferogramy jsou normovány, tj. poděleny hodnotou odezvy nejvyššího píku, aby bylo možno porovnat elektroferogram vypočítaný s elektroferogramem změřeným experimentálně.

Tab. 4: Mediány z naměřených hodnot migračních časů v sekundách při různých hodnotách separačního napětí modelové směsi kationtů o ekvimolární koncentraci 50 μM . Použit byl separační pufr 50 mM kyseliny octové a 20 mM TRIS, pH 4,43.

Kation	Separační napětí [kV]				
	1	2	3	4	5
	Migrační čas [s]				
K^+	152,46	64,20	40,86	30,00	23,82
Ba^{2+}	222,12	86,64	54,00	39,12	30,78
Na^+	261,00	97,74	60,24	43,32	33,90
Mg^{2+}	297,36	107,16	65,52	46,86	36,66
Li^+	393,84	117,78	79,20	55,92	43,26



Obr. 5: Graf závislosti převrácené hodnoty migračního času Li^+ iontu na separačním napětím.

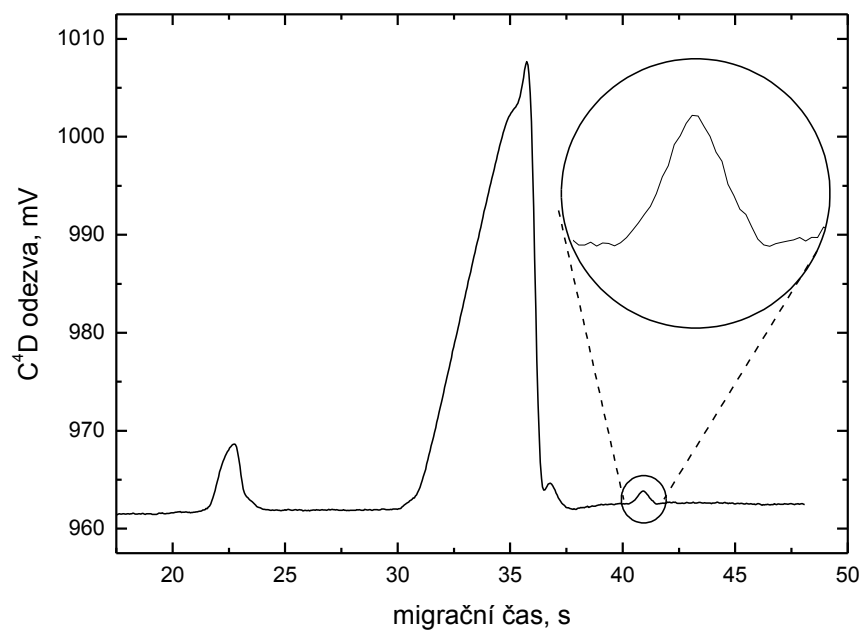
Z hodnot migračních časů při různých separačních napětích uvedených v tab. 4 byly sestrojeny závislosti $1/t_{\text{migr.}}$ na separačním napětí U , příklad je na obr. 5. Ze směrnic získaných regresních přímek byly vypočteny elektroforetické mobility na základě vztahu (3-7). Pro porovnání byly mobility iontů vypočteny též z tabelovaných limitních vodivostí iontů při 25 °C [49] ze vztahu (3-8). Elektroosmotický tok byl malý a nebyl naměřen po dobu 20 minut, takže elektroforetické mobility byly počítány jen z migračních časů, jako by byl elektroosmotický tok nekonečný. Z dat v tab. 5 je vidět dobrá shoda experimentálních a vypočítaných mobilit především pro jednomocné kationty.

Tab. 5: Porovnání elektroforetických mobilit určených ze směrnice regresní přímky dle rovnice (3-7) a vypočítaných z iontových vodivostí.

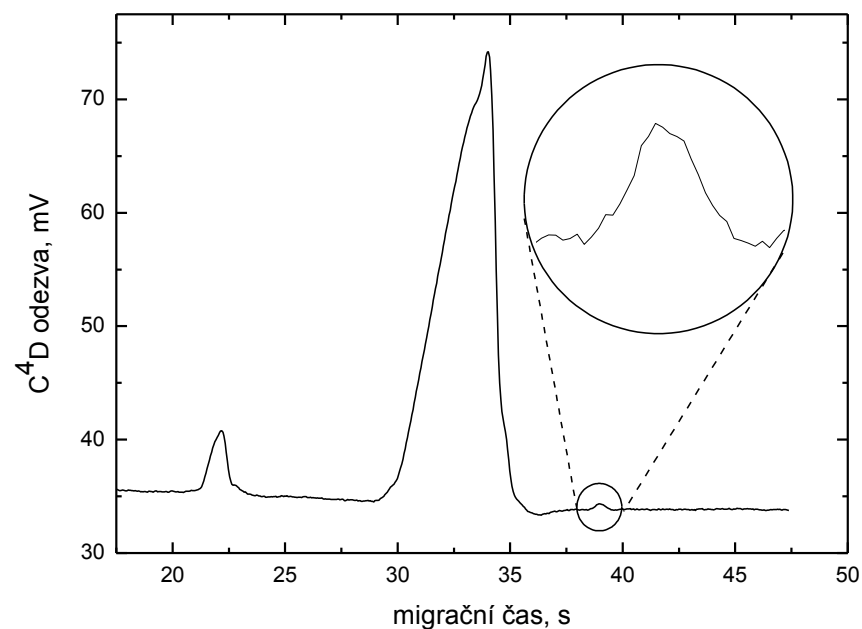
Kation	Zjištěné μ_i [$10^{-4} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$]	Teoretické μ_i [$10^{-4} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$]
K^+	7,09	7,62
Ba^{2+}	5,60	6,60
Na^+	5,13	5,19
Mg^{2+}	4,79	5,50
Li^+	4,04	4,01

4.2 Elektroforetické stanovení lithia

Elektroferogramy vodou zředěných minerálek Vincentka a Bílinská kyselka jsou na obr. 6 a 7. Vložený obrázek v elektroferogramech je zvětšený pík lithného iontu. Ostatní píky odpovídají majoritním kationtům, K^+ , NH_4^+ , Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} , které jsou v minerálních vodách ve značné koncentraci [8], takže nejsou zcela rozděleny. Při stanovení lithia metodou kalibračního grafu byly zjištěné obsahy podstatně nižší než údaje na etiketě lahve s minerálními vodami (u Vincentky na etiketě $11,10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a naměřeno $4,47 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, u Bílinské kyselky na etiketě $3,90 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a naměřeno $1,77 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Proto bylo stanovení prováděno metodou standardního přídatku.



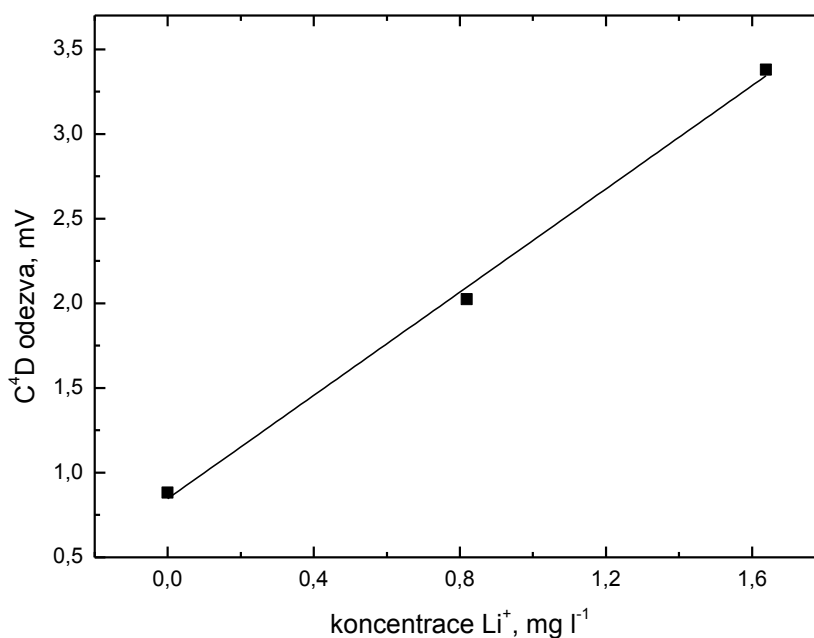
Obr. 6: Elektroferogram 20x zředěné minerální vody Vincentka se zvětšeným píkem Li^+ . První pík odpovídá přítomnosti K^+ a NH_4^+ iontům, druhý nerozlišeným iontům Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} .



Obr. 7: Elektroferogram 20x zředěné minerální vody Bílinská kyselka se zvětšeným píkem Li^+ . Identifikace píků viz obr. 6.

4.2.1 Metoda standardního přídatku

Metodou standardního přídatku byly při stanovení obsahu lithia ve Vincentce proměřeny vzorky ve třech baňkách, v první byla 20x zředěná Vincentka, druhá baňka byla s přídatkem 0,819 mg/l Li^+ a třetí s přídatkem 1,638 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\text{Li}^+$. Při stanovení obsahu lithia u Bílinské kyselky byla v první baňce 20x zředěná Bílinská kyselka, ve druhé byl přídatek 0,4095 mg/l Li^+ a ve třetí byl přídatek 0,819 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\text{Li}^+$. Jako odezva přístroje pro výpočet obsahu lithia v minerálních vodách byly brány plochy píků. Hodnoty obsahu lithia byly vypočteny z parametrů regresních přímek dle vztahu (3-9) a jsou uvedeny v tab. 8. Příklad kalibrační závislosti je na obr. 8 a parametry kalibrací v tab. 6 a 7.



Obr. 8: Příklad kalibrační závislosti při metodě standardního přídatku u minerální vody Vincentka.

Tab. 6: Parametry kalibrací se standardní chybou v závorce při stanovení lithia v minerálce Vincentka metodou standardního přídatku.

Analýza č.	Úsek [mV]	Směrnice [$\text{mV}\cdot\text{c}^{-1}$]	Korelační koeficient
1	0,9424 (0,1336)	1,4707 (0,1264)	0,9853
2	0,9362 (0,1188)	1,4212 (0,1124)	0,9876
3	0,8278 (0,0069)	1,4924 (0,0065)	1,0000
4	0,7697 (0,0904)	1,6428 (0,0855)	0,9946
5	0,8469 (0,0790)	1,5242 (0,0747)	0,9952

Tab. 7: Parametry kalibrací se standardní chybou v závorce při stanovení minerálky Bílinská kyselka metodou standardního přídatku.

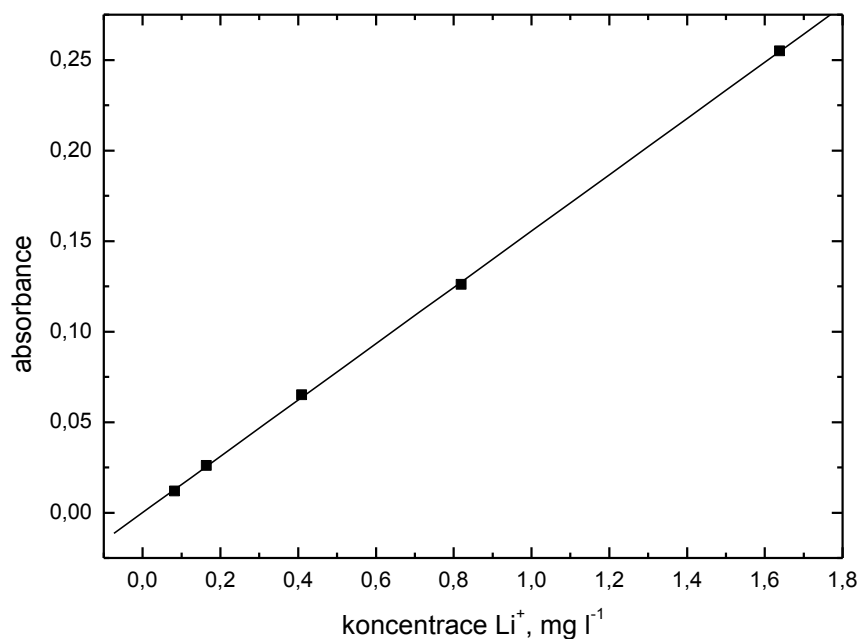
Analýza č.	Úsek [mV]	Směrnice [$\text{mV} \cdot \text{c}^{-1}$]	Korelační koeficient
1	0,3681 (0,0465)	1,5005 (0,0879)	0,9932
2	0,3445 (0,0463)	1,5000 (0,0876)	0,9932
3	0,3683 (0,0634)	1,5009 (0,0835)	0,9879
4	0,3593 (0,0441)	1,5009 (0,0835)	0,9938
5	0,2994 (0,0165)	1,7289 (0,0312)	0,9994

Tab. 8: Obsahy lithia v minerálních vodách stanoveny elektroforeticky metodou standardního přídatku.

Minerální voda	Obsah lithia [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]
Vincentka	$11,11 \pm 1,94$
Bílinská kyselka	$4,79 \pm 0,74$

4.3 Stanovení lithia atomovou absorpční a emisní spektrometrií

Kalibrační závislosti při měření absorpční a emisní spektrofotometrií byly zpracovány ve formě kalibračních grafů, z nichž koncentrace byla určena použitím vztahu (3-10). Byla provedena absorpční spektroskopie s plamenem acetylen – vzduch (Absorpce 1) a s plamenem acetylen – oxid dusný (Absorpce 2). Dále pak emise s plamenem acetylen – vzduch (Emise). Příklad kalibrační závislosti je na obr. 9. a parametry kalibračních grafů jsou uvedeny v tab. 9.



Obr. 9: Kalibrační přímka pro stanovení lithia metodou atomové absorpční spektroskopie s plamenem acetylen – vzduch.

Tab. 9: Parametry kalibračních přímek při stanovení lithného iontu metodami atomové absorpční a emisní spektrometrie s intervaly spolehlivosti. Každá kalibrační závislost byla sestrojena z pěti bodů, viz obr. 9.

Metoda	Úsek [mV]	Směrnice [$\text{mV} \cdot \text{c}^{-1}$]	Korelační koeficient
Absorpce 1	$4,8093 (\pm 1,2921) \cdot 10^{-5}$	$0,1554 (\pm 1,192) \cdot 10^{-3}$	0,9998
Absorpce 2	$-6,5008 (\pm 18,60) \cdot 10^{-4}$	0,0782 ($\pm 0,0022$)	0,9978
Emise	0,0274 ($\pm 0,0180$)	0,6265 ($\pm 0,0212$)	0,9970

Stanovení lithia bylo prováděno rovněž metodou standardního přídatku. Výsledky získané oběma kalibračními metodami jsou v tab. 10.

Tab. 10: Výsledky stanovení obsahu lithia v minerálních vodách atomovou absorpční a emisní spektrofotometrií a dvěma kalibračními metodami. Hodnoty odezev ze spektrofotometru byly průměrem ze tří měření. Tyto průměrné hodnoty byly vyneseny do grafu a dle rovnice (3-10) byly vypočítány obsahy lithia.

Metoda		Obsah lithia ve Vincentce [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Obsah lithia v Bílinské kyselce [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
Absorpce 1	Kalibrační graf	11,45	4,50
	Standardní přídavek	8,68	4,27
Absorpce 2	Kalibrační graf	12,96	5,28
	Standardní přídavek	12,62	4,53
Emise	Kalibrační graf	9,40	3,37
	Standardní přídavek	12,12	4,95

4.4 Srovnání obou metod

Kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí v krátké kapiláře byl úspěšně stanoven obsah lithia v minerálních vodách metodou standardního přídatku. Nepodařilo se určit obsah lithia pomocí kalibrační závislosti, lithium se zřejmě nenachází pouze v iontové formě a kapilární elektroforéza jej není schopná detegovat i v tak relativně jednoduché matici.

Metodou standardního přídatku byl obsah Li^+ $11,11 \pm 1,94 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, shoduje se tak s etiketou na lahvi minerální vody Vincentka, kde je uveden obsah lithia $11,10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. U Bílinské kyselky byl metodou standardního přídatku určen obsah lithia na $4,79 \pm 0,74 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, na etiketě je obsah lithia $3,90 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Využívanou metodou pro stanovení anorganických iontů je atomová absorpční a emisní spektrometrie. Výsledky jsou spolehlivé a přesné, proto byla tato optická metoda použita pro srovnání s výsledky z kapilární elektroforézy.

Při stanovení lithia atomovou absorpční a emisní spektrometrií došlo oproti obsahu lithia na etiketě k drobným odchylkám, a to zejména v atomové absorpční spektrometrii s plamenem acetylen – vzduch při metodě standardního přídatku ($8,68 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) v minerální vodě Vincentka. Obsahy lithia jinak byly v rozsahu $9,40 - 12,96 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (průměr $11,51 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). V minerální vodě Bílinská kyselka došlo k větší odchylce při atomové absorpční spektrometrii s plamenem acetylen – oxid dusný ($5,28 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Jinak byly výsledky v rozsahu $3,37 - 4,95 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (průměr $4,51 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Opět byla prokázána dobrá shoda s údaji na etiketě lahve s minerálními vodami.

Obě metody umožňují rychlou a přesnou analýzu, kapilární elektroforéza je méně vhodnou metodou z důvodu, že neumožňuje stanovení jiné podoby lithia než iontové. Atomová absorpční a emisní spektrometrie dokáže určit celkový obsah lithia, tedy i jeho forem, které elektroforetické stanovení nepříznivě ovlivňují.

5 Závěr

Kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí v krátké kapiláře byly určeny elektroforetické pohyblivosti malých anorganických iontů, K^+ , Ba^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} a Li^+ , které se shodují s hodnotami vypočítanými z iontových vodivostí.

Stanovení obsahu lithia v minerálních vodách bylo provedeno kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí v krátké kapiláře a spektroskopickými metodami, atomovou absorpční a emisní spektrometrií. Pro vyhodnocení výsledků byla použita metoda kalibračního grafu a metoda standardního přídatku. Při kapilární elektroforéze se nepodařilo určit obsah lithia metodou kalibračního grafu. Při metodě standardního přídatku byly obsahy lithia stanoveny v souladu s hodnotami na etiketě na lahvích minerálních vod. Tato metoda je vhodná ke stanovení lithia v minerálních vodách.

Atomovou absorpční a emisní spektrometrií se podařilo určit obsahy lithia v souladu s údaji na etiketách jak metodou kalibračního grafu, tak i metodou standardního přídatku. Tato metoda je běžně využívána a je schopná určit celkový obsah lithia.

Kapilární elektroforéza je vhodná pro laboratorní účely, vyhodnocení výsledků je složitější oproti atomové absorpční a emisní spektrometrii a daný set experimentů je nutné provádět bez delších časových prodlev, jinak jsou migrační časy, plochy a výšky v jednotlivých experimentech odlišné. Optické metody jsou vhodnější pro více vzorků a menší časovou náročnost.

Závěrem lze shrnout, že cíle bakalářské práce byly beze zbytku splněny.

6 Seznam použité literatury

- [1] Greenwood, N.N., Earnshaw, A.; Chemie prvků. Svazek 1. Praha, Informatorium 1993.
- [2] Jursík, F.; Anorganická chemie kovů. Praha, VŠCHT 2002.
- [3] Kvasničková, A.; Minerální látky a stopové prvky, Esenciální minerální prvky ve výživě. Praha, ÚZPI 1998.
- [4] Remy, H.; Anorganická chemie I. díl. 12. přepracované vydání. Praha, SNTL 1972.
- [5] Brožek, V., Dufek, V.; Perspektivy využití českých zdrojů lithia. 13. mezinárodní konference metalurgie a materiálů 2004. Dostupné z URL: < http://www.metal2012.com/files/proceedings/metal_04/papers/205.pdf >, staženo dne 5. 3. 2013.
- [6] Laboratorní protokol č.: RL 05 – 09, Komplexní analýza Jaroslava, BJ 331 Luhačovice, Referenční laboratoř přírodních léčivých zdrojů Karlovy Vary, 03. 04. 2009.
- [7] Laboratorní protokol č.: RL 27 – 10, Komplexní analýza – Dr. Šťastného, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů, Karlovy Vary 17. 05. 2010.
- [8] Laboratorní protokol č.: RL 36/07, Komplexní analýza BJ 305 „ Nová Vincentka“, Luhačovice, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů Ministerstva zdravotnictví České republiky, Mariánské Lázně – Františkovy Lázně – Karlovy Vary, 26. 06. 2007.
- [9] Laboratorní protokol č.: RL 229 – 10, Komplexní analýza Pramen VIOLA VRT 341, Luhačovice, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů Karlovy Vary, 29. 12. 2010.

- [10] Laboratorní protokol č.: RL 45 – 10, Komplexní analýza Aloiska Luhačovice, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů Karlovy Vary, 30. 06. 2010.
- [11] Laboratorní protokol č.: RL 26 – 10, Komplexní analýza Ottovka Luhačovice, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů Karlovy Vary, 17. 05. 2010.
- [12] Laboratorní protokol č.: RL 1A–3/05, Komplexní analýza zdroje Svatý Josef (BJ 321), Luhačovice, Referenční laboratoře přírodních léčivých zdrojů Ministerstva zdravotnictví České republiky, Mariánské Lázně – Františkovy Lázně – Karlovy Vary, 30. 11. 2005.
- [13] Kratzer, K., Kožíšek, F.; Zdravotní důsledky a rizika znečištění pitné vody. Odborná zpráva za rok 1996. SZÚ Praha, 1997. Dostupné z URL: < http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/monit/voda_96.pdf >, staženo dne 19. 3. 2013.
- [14] Raboch, J., Zvolský, P. et. al.; Psychiatrie. Praha, Galén 2001.
- [15] Katzung, B.G.; Základní a klinická farmakologie. 8. vydání, 2. české. Praha, H & H 2006.
- [16] Hynie, S.; Farmakologie v kostce. 2. vydání. Praha, TRITON 2001.
- [17] Kapusta, N.D., Mossaheb, N., Etzersdorfer, E., Hlavin, G., Thau, K., Willeit, M., Praschak-Rieder, N., Sonneck, G., Leithner-Dziubas, K.; Lithium in drinking water and suicide mortality. *Br. J. Psychiatry* 198, 346–350 (2011).
- [18] Concha, G., Broberg, K., Grandér, M., Cardozo, A., Palm, B., Vahter, M.; High-level exposure to lithium, boron, cesium, and arsenic via drinking water in the Andes of northern Argentina. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6875–6880 (2010).
- [19] Vulterin, J., Ševcová J.; Příručka analytické chemie. Praha, PedF UK 2002.
- [20] Malát, M.; Kolorimetrie. Praha, ČSAV 1956.

- [21] Vávrová, J., Pechová, A., Wilhelm, Z., Kazda, A., Friedecký, B., Jabor, A.; Vitaminy a stopové prvky 2007. Pardubice, ČSKB ČLS JEP a SEKK spol. s.r.o. 2007.
- [22] ČSN EN ISO 17294-1 Jakost vod – Použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) –Část 1: Všeobecné směrnice.
- [23] ČSN EN ISO 17294-2 Jakost vod – Použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) –Část 2: Stanovení 62 prvků.
- [24] Schwedt, G., Schaper, H.H.; Ion chromatographic analysis of cations and anions in mineral water. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 190, 205–211 (1990).
- [25] Higson, S.P.J.; Analytical Chemistry. 3. vydání. Oxford, Oxford University Press 2006.
- [26] Štulík, K., Bosáková, Z., Coufal, P., Jelínek, I., Pacáková, V., Ševčík, J.; Analytické separační metody. Praha, Karolinum 2004.
- [27] Pavlíková, L., Brozmanová, H., Kvasnička, F., Grundmann, M.; Terapeutické monitorování léků pomocí elektromigračních metod. *Klin. Farmakol. Farm.* 21, 79–83 (2007).
- [28] Opekar, F., Štulík, K.; Elektrochemická detekce s elektrodami mimo roztok – znovuzrození bezkontaktních impedačních metod. *Chem. Listy* 104, 1148–1154 (2010).
- [29] Tůma, P., Samcová, E.; Stanovení volných aminokyselin v biologických tekutinách kapilární elektroforézou. *Chem. Listy* 101, 200–207 (2007).

- [30] Mai, T.D., Hauser, P.C.; Simultaneous separations of cations and anions by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection employing a sequential injection analysis manifold for flexible manipulation of sample plugs. *J. Chromatogr. A*, 1267, 266–272 (2012).
- [31] Šolínová, V., Jelínek, I., Opekar, F., Kašička, V.; Stanovení vybraných kationtů v minerálních vodách a infúzním roztoku prokainu kapilární elektroforézou s bezkontaktní vodivostní detekcí. *Chem. Listy* 98, 191–196 (2004).
- [32] See, H.H., Schmidt-Marzinkowski, J., Pormsila, W., Morand, R., Krahenbuhl, S., Hauser, P.C.; Determination of creatine and phosphocreatine in muscle biopsy by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Anal. Chim. Acta* 727, 78–82 (2012).
- [33] Vochyánová, B., Opekar, F., Tůma, P., Stulík, K.; Rapid determination of saccharides in high-energy drinks by short capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 1549–1554 (2012).
- [34] Opekar, F., Tůma, P., Štulík K.; Contactless Impedance Sensors and Their Application to Flow Measurements. *Sensors* 13, 2786–2801 (2013).
- [35] Kubáň, P., Timerbaev, A.R.; CE of inorganic species - a review of methodological advancements over 2009-2010. *Electrophoresis* 33, 196–210 (2012).
- [36] Kubáň, P., Hauser, P.C.; Capacitively coupled contactless conductivity detection for microseparation techniques – recent developments. *Electrophoresis* 32, 30–42 (2011).
- [37] Šolínová, V., Kašička, V.; Recent applications of conductivity detection in capillary and chip electrophoresis. *J. Sep. Sc.* 29, 1743–1762 (2006).
- [38] Ryparová, O., Petr, J., Kowalská, M., Znaležiona, J., Knob, R., Maier, V., Frébort, I., Ševčík, J.; Analýza mikroorganismů metodou kapilární elektroforézy. *Chem. Listy* 102, 1121–1126 (2008).

- [39] Svobodová, P., Vítková, K., Procházka, V., Petr, J.; Analýza buněk kapilární elektroforézou. *Chem. Listy* 106, 681–684 (2012).
- [40] Dušek, M., Kvasnička, F., Moravcová, J.; Stanovení organických kyselin v silážích kapilární isotachoforézou a kapilární zónovou elektroforézou. *Chem. Listy* 98, 418–422 (2004).
- [41] Geiger, H., Hogerton, A.L., Bowser, M.T.; Capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 84, 577–596 (2012).
- [42] Němcová, I., Čermáková, L., Rychlovský, P.; Spektrometrické analytické metody I. Praha, Karolinum 1997.
- [43] Stužka, V.; Stanovení lithia, sodíku, draslíku a vápníku plamenovou fotometrií. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis. Facultas Rerum Naturalium. Mathematica-Physica-Chemica* 3, 223–230 (1962).
- [44] Opekar, F.; Aparatura pro elektroforetické separace v krátkých kapilárách. *Chem. Listy* 106, 289–292 (2012).
- [45] Peak Master, dostupný z URL: <<http://web.natur.cuni.cz/gas/>>, staženo dne 25. 3. 2013.
- [46] Opekar, F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák, Z.; Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem. Praha, Karolinum 2010.
- [47] Základní praktika z analytické chemie, Katedra analytické chemie, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, v. 26. 2. 2013, dostupné z URL: <<http://web.natur.cuni.cz/analchem/zprakt/navody.pdf>>, staženo dne 2. 4. 2013.
- [48] Monnig, C.A., Jorgenson, J.W.; On-column sample gating for high speed capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.* 63, 802-807 (1991).

[49] Tabulka limitních molárních vodivostí, dostupná z URL:
<http://www.vscht.cz/fch/cz/pomucky/TabIII_IV.pdf>, staženo dne 10. 4. 2013.