



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

NOVÉ METODY STUDIA REAKTIVITY A TRANSPORTNÍCH VLASTNOSTÍ BIOKOLOIDŮ

NEW METHODS OF STUDY OF REACTIVITY AND TRANSPORT PROPERTIES OF
BIOCOLLOIDS

AUTOREFERÁT DIZERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR PRÁCE

Ing. Jiří Smilek

VEDOUCÍ PRÁCE

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2015

OBSAH

1 ÚVOD	3
2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	4
2.1 Fyzikální modely difúze pro polymerní roztoky a gely	4
2.2 Difúzní procesy s ohledem na gelový charakter vzorku	9
2.3 Interakce biokoloidů s opačně nabitými látkami	10
2.4 Zhodnocení současného stavu řešené problematiky	12
3 CÍLE PRÁCE	13
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	14
4.1 Příprava biokoloidů biokoloidních látek.....	14
4.2 Charakterizace zkoumaných látek	15
4.3 Příprava hydrogelových matric	16
4.4 Charakterizace hydrogelů	17
4.5 Difúzní experimenty	17
5 DISKUZE NEJVÝZNAMĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ	19
5.1 Agaróza	19
5.2 Lignitické huminové kyseliny.....	22
5.3 Kyselina hyaluronová	23
5.4 Alginát.....	25
5.5 Chitosan	27
5.6 Polystyrensulfonát.....	28
6 ZÁVĚR	30
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	31
8 ŽIVOTOPIS.....	36
9 SEZNAM PUBLIKACÍ	38

MÍSTO ULOŽENÍ

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká republika

1 ÚVOD

Materiály přírodního charakteru jako jsou huminové látky, chitosan, alginát či kyselina hyaluronová jsou známy a hojně využívány ve všech oblastech lidského života. Stejně tak jako syntetické polymery jsou běžně používány v celé řadě průmyslových aplikací. Není tedy překvapením, že chemické vlastnosti a jejich složení jsou (ve většině případů) poměrně dobře prozkoumány. Hlavní nedostatky v charakterizaci výše uvedených substancí lze nalézt především v oblasti studia reaktivity, bariérových a transportních vlastností, vzhledem k tomu, že stále ještě neexistuje jednoduchý univerzální model či technika, pomocí něhož by se dala studovat reaktivita případně schopnost interakcí vybraných látek s modelovými činidly. Reaktivita, transportní a bariérové vlastnosti stejně tak jako schopnost interakce s jinými látkami je běžně zkoumána v práškové formě (především v případě huminových látek), formou sorpčních experimentů, které ovšem ne zcela ideálně simulují podmínky, ve kterých se tyto látky přirozeně vyskytují. Přirozeným prostředním huminových látek je půda, kde se většinou vyskytují ve formě nabotnaného hydrogelu nebo jsou rozpuštěny v půdním roztoku. Vzhledem k tomu, že je nezbytné v laboratorním prostředí, co nejdůvěryhodněji simulovat přirozené podmínky biokoloidních látek, byly navrženy jednoduché laboratorní metody založené na difúzních procesech, které by měly být aplikovatelné pro široké spektrum látek nehledě na typ nebo původ. Základem těchto difúzních metod je realizovatelnost studia reaktivity, transportních a bariérových vlastností vybraných látek v (nereaktivních) hydrogelových maticích, které mají při srovnání s klasickými metodami studia interakcí hned několik předností. Jednou z nich je majoritní podíl vody, vzhledem k tomu, že právě přirozené prostředí huminových látek – půda – obsahuje ve většině případů taktéž velké množství vody. Dalším příkladem může být kyselina hyaluronová, jelikož jejím přirozeným prostředím je lidské tělo, proto i tato látka bude v častém kontaktu s vodou. Stejně tak tomu je i u ostatních biokoloidních látek jako jsou chitosan či alginát.

Další neoddiskutovatelnou výhodou hydrogelů je jejich jednoduchá příprava, vzhledem k tomu, že gelační proces lze poměrně jednoduše ovlivnit změnou základních fyzikálně-chemických podmínek a tím pádem připravit hydrogel s přesně definovanými rozměry a vlastnostmi, které požadujeme, což je v podstatě nezbytné pro exaktní popis difúzních procesů z matematického hlediska. Především pak lze připravit hydrogel s přídavkem vybrané aktivní látky, která je do hydrogelu zabudována (interpenetrována).

Navržené metody (metoda difúzních cel a neustálená difúze v kyvetách) tedy mají sloužit jako jednoduché a levné univerzální metody pro studium transportních a bariérových vlastností celé řady látek. Výhodou také je, že lze pomocí těchto metod poměrně jednoduše zkoumat vliv základních fyzikálně-chemických parametrů jako je například koncentrace, teplota, modifikace materiálu, pH případně iontová síla.

2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

2.1 Fyzikální modely dfúze pro polymerní roztoky a gely

Modely difúzních procesů realizovaných v polymerních roztocích a gelech jsou založeny na různých fyzikálně-chemických konceptech, jako jsou obstrukční efekty, teorie volného objemu či hydrodynamické interakce. Následující kapitoly shrnují základní poznatky týkající se difúzních modelů založených na zmíněných principech.

2.1.1 Překážkové modely (obstrukční efekty)

Překážkový model uvažuje polymerní řetězce jako nehybné vůči difundujícímu médiu. Tento model je založen na předpokladu, že difúzní koeficient polymeru je mnohem menší ve srovnání s difúzním koeficientem zvoleného difúzního média. Polymery jsou v tomto případě prezentovány jako pevně ukotvené a neprostupné segmenty rozptýlené v roztoku. Přítomnost nehybných polymerních řetězců vede k nárůstu trajektorie difundujícího média mezi dvěma body systému.

Maxwell-Frickův model

Tento model byl poprvé prezentován Frickem v roce 1924, který měřil elektrickou vodivost dispergovaných částic kulovitého tvaru v krevním séru. Výpočet difúzního koeficientu pomocí Maxwell-Frickova modelu vystihuje rovnice 1 [1]

$$\frac{D(1-\varphi)}{D_0} = \frac{1-\varphi'}{1+\varphi'/\chi}, \quad (1)$$

kde D představuje samotný difúzní koeficient, D_0 reprezentuje difúzní koeficient v čistém rozpouštědle bez přídavku polymeru, φ je objemová frakce polymeru, φ' je objemová frakce polymeru + nedifundující rozpouštědlo, které je navázáno na řetězec polymeru (solvatace). χ symbolizuje faktor závisející na tvaru molekul rozpouštědla. Hodnota tohoto faktoru je v rozmezí 1,5 (tyčovité částice) – 2,0 (kulovité částice).

Thomas a kol. [2] studovali difúzi vybraných difúzních médií (malé molekuly jako například chloridový či jodidový anion, sodný kation v agarózových gelech v rozmezí 0,67 – 4 hm. % radioaktivním značením. V případě, že byla koncentrace elektrolytu do 0,1 mol/dm⁻³ platila lineární závislost difúzního koeficientu na koncentraci agarózy v hydrogelu. Svou prací také potvrdily platnost Maxwell-Frickova modelu včetně solvatace molekul agarózy rozpouštědlem.

Obecně lze říci, že Maxwell-Frickův model je vhodný pro malé difundující molekuly ve zředěných roztocích polymerů. Výhodou také je, že zahrnuje orientaci a tvar molekul rozpouštědla. Naopak nevhodný tento model je pro koncentrovanější roztoky polymerů a velké difundující molekuly.

Mackie-Mearseův model

Dalším modelem, který bere v potaz obstrukční efekty je model Mackie-Mearseův [3] Tento model vychází ze stejných předpokladů jako model předešlý čili bere v úvahu, že mobilita polymeru je mnohem méně důležitá ve srovnání s mobilitou iontů či rozpouštědla, z čehož vyplývá, že místa okupovaná polymerem jsou permanentně nedostupná iontům či rozpouštědla. V tomto modelu je poprvé zmiňován pojem *tortuozita* čili jakési prodloužení dráhy difundujících molekul ve srovnání s nerušenou difúzí bez přítomnosti překážky ve formě polymeru. Difúzní

koeficient malých molekul (např. iontů) je poté závislý na objemovém zlomku monomerního segmentu a je dán rovnicí 2

$$\frac{D}{D_0} = \left[\frac{1-\varphi}{1+\varphi} \right]^2. \quad (2)$$

Tento model poskytuje uspokojivé výsledky přes širokou řadu koncentrací celulózy, což bylo hlavní náplní práce Browna a kol. [4], kteří studovali difuzivitu vybraných difúzních médií s rostoucí molekulovou hmotností (voda, alkoholy, etylen glykol, PEG, oligosacharidy či dokonce polysacharidy) v dextranových hydrogelech. Ve většině z těchto případů (především pro difúzní média s menší velikostí částic) naměřená data poměrně dobře korelovaly s modelem Mackie a Meares, zatímco pro oligomery a polysacharidy nebyla shoda experimentálních dat s teoretickými dostatečně průkazná. Autoři předpokládali interakci těchto látek s polymerními řetězci.

Hlavní přednost předloženého modelu tkví především v tom, že ho lze aplikovat pro široký rozsah koncentrací difundujícího média. Tento model je ovšem nepoužitelný pro roztoky polymerů, vzhledem k tomu, že nezahrnuje tvar a orientaci molekul na rozdíl od dalšího modelu podle Wanga, podle kterého lze difúzní koeficient spočítat podle rovnice 3

$$\frac{D}{D_0} = 1 - \varphi\alpha. \quad (3)$$

Ogstonův model

Ogston a kol. [5] vyvinuli nový difúzní model pro difúzi větších molekul. Autoři tohoto modelu považují polymery jako „zformovanou bariéru“ tvořenou náhodným seskupením dlouhých molekulárních vláken. Difundující molekuly tak nenarušují polymerní síť. Nevýhoda tohoto modelu ovšem spočívá v tom, že uvedený model není zcela univerzální pro různé typy polymerů (dextran, agaróza, hyaluronan). Autoři tohoto modelu vysvětlují tuto neuniverzálnost odlišnou morfologií polymerů (rigidita, tloušťka polymerního řetězce apod.). Výhody tedy spočívají především v tom, že lze použít pro některé roztoky polymerů (zředěné), v nichž difundují velké molekuly a taktéž je vhodný pro gely. Difúzní koeficient lze spočítat podle rovnice 4

$$\frac{D}{D_0} = \exp \left[- \frac{R_H + r_V}{r_V} \varphi^{0,5} \right], \quad (4)$$

výraz R_H udává hydrodynamický poloměr difundující látky, r_V značí efektivní poloměr řetězce polymeru a φ je opět objemový zlomek polymeru. Difúzní koeficient je tedy dle rovnice 4 závislý především na velikosti překážky (polymer) a velikosti difundující látky.

2.1.2 Teorie nedeformovatelných kulovitých částic

Difúzní modely vycházející z teorie nedeformovatelných kulovitých částic jsou založeny na třech základních předpokladech: a) přepážka ve formě polymeru způsobuje zpomalení difuzivity rozpuštěné látky, b) hydrodynamické interakce polymeru s rozpouštěnou látkou nejsou brány v potaz, c) struktura polymerní sítě (přepážky) je rozložena na soubor válcovitých článků a příspěvek každého tohoto článku k finální hodnotě difúzního koeficientu je dán jako distribuce mezer v polymerní síti.

Výpočet hodnoty difúzního koeficientu je založen na sumě všech lokálních toků v mikroskopických subsystémech. Difúzní tok je v tomto případě závislý pouze na velikosti

difundující látky, množství polymeru (koncentrace) a vlastnostech daného polymeru (délka řetězce, rigidita apod.). Difúzní koeficient lze poté spočítat kombinací rovnic 5 a 6

$$\frac{D}{D_0} = e^{-\gamma} + \gamma^2 e^{\gamma} E_1(2\gamma), \quad (5)$$

$$\gamma = \varphi \frac{(R_H + \rho)^2}{\rho^2}, \quad (6)$$

kde koeficient γ představuje parametr související s fyzikálními vlastnostmi polymeru a difundující látky, ρ značí koeficient související s délkou polymeru, R_H je hydrodynamický poloměr difundující látky a konečně E_1 symbolizuje exponenciální integrál, který lze spočítat pomocí rovnice 7

$$E_1(x) = \int_x^{\infty} \frac{e^{-u}}{u} du. \quad (7)$$

Aplikace tohoto modelu poskytuje poměrně dobré výsledky pro difúzi albuminu ($M = 69\,000$ Da) [6] v solech a gelech kyseliny hyaluronové a dextranu. Přehled výhod a nevýhod difúzních modelů založených na teorii nedeformovatelných kulovitých částic nabízejí reference [7] a [8]. Tento model je ovšem nevhodný pro difúzní procesy látek s narůstajícím poloměrem řetězců látek. Závěrem bylo, že rovnici 49 nelze použít pro popis Brownova pohybu kulovitých částic tehdy, když mají poloměr větší než 20 Å.

Všechny zmíněné difúzní modely založené na obstrukčních faktorech mohou být použity pro malé molekuly ve zředěných či polozředěných roztocích. Omezení nastává tehdy, když difundují molekuly větších rozměrů a v případě, že difúze probíhá v koncentrovaných roztocích polymerů.

2.1.3 Hydrodynamické teorie

Hydrodynamické teorie difúzních modelů berou, na rozdíl od překážkových modelů, v úvahu interakce probíhající v celém systému. Typy interakcí mohou být následující: a) difundující látka – polymer, b) difundující látka – rozpouštědlo, c) rozpouštědlo – polymer. Tyto úvahy dovolují popsat difúzní procesy v koncentrovanějších systémech, tehdy kdy se polymerní řetězce začínají překrývat.

Cukierův model

Tento model byl poprvé publikován Cukierem [9] v roce 1984. V této teorii jsou brány v úvahu polozředěné roztoky polymeru, které jsou považovány za statické jednotky, které se navzájem překrývají, ale tyto řetězce spolu vzájemně neinteragují.

Zředěný roztok polymeru (vlevo) je považován za nehomogenní systém, jelikož obsahuje jak domény čistého rozpouštědla, tak také řetězce polymeru. V případě polozředěného roztoku polymeru jsou řetězce polymeru ve vzájemném kontaktu (může docházet k interakcím), ovšem stále ještě nedochází k překryvu jednotlivých polymerních řetězců jako v případě koncentrovaného roztoku polymeru (vpravo).

Difúzní koeficient podle Cukierova modelu lze vypočítat podle rovnice 8

$$\frac{D}{D_0} = 1 - \vartheta R_H. \quad (8)$$

R_H značí hydrodynamický poloměr difundující látky, ϑ je koeficient vystihující hydrodynamické interakce mezi polymerem a difundující látkou v polozředěném roztoku polymeru.

Pro tyčinkovité polymery může být koeficient ϑ spočítán pomocí rovnice 9

$$\vartheta_L^2 = \frac{\xi_L z_L}{\eta}, \quad (9)$$

kde ξ_L je frikční koeficient pro jednu tyčinku, z_L je poměrné zastoupení tyčinkovitých molekul polymeru vůči kulovitým molekulám a η je viskozita systému. Frikční koeficient je závislý především na délce a poloměru tyčinkových polymerů.

Pro kulovité polymery (klubka) je koeficient hydrodynamických interakcí popsán rovnicí 10

$$\vartheta_D^2 = \frac{\xi_D z_a^*}{\eta} = 6\pi z_a^* r, \quad (10)$$

kde ξ_D je tentokrát frikční koeficient pro jednu kuličku, z_a^* je hustota zastoupení polymerních jednotek kulovitého charakteru vůči molekulám tvaru tyčinek a r je poloměr monomerní jednotky.

Altenbergův model

Altenberg ve své publikaci [10] popsal polymery jako imobilizované body náhodně rozmístěné v roztoku. Rozpouštědlo považoval za nestlačitelnou newtonovskou kapalinu, kterou jsou naplněny mezery mezi těmito izolovanými body. Malá difundující molekula je poté schopna interagovat s těmito náhodnými body a vytvářet tak prostorovou síť. Hydrodynamické interakce jsou poté výsledkem tření mezi difundující látkou a stacionárními body polymeru. Mobilita difundující látky bude poté značně závislá na koncentraci polymeru, při nízkých koncentracích (zředěné a středně koncentrované roztoky polymerů) budou mít interakce menší vliv a difúzní koeficient poté lze spočítat podle rovnice 11

$$\frac{D}{D_0} = \exp(-\zeta c^{0.5}), \quad (11)$$

kde ζ představuje parametr závislé na poloměru difundující látky, c reprezentuje koncentraci polymeru. Tento model je omezen pouze na malé molekuly, difuzivitu velkých molekul typu PEG v roztoku PVA tímto modelem dle článku [11] nelze stanovit.

Philliesův model

Tento difúzní model bere v potaz difúzi makromolekulárních látek (polymery a proteiny) v širokém rozsahu koncentrací. Podle Philliesových výpočtu v publikaci [12] lze difúzní koeficient pro makromolekulární látky spočítat podle rovnice 12

$$\frac{D}{D_0} = \exp(-\zeta c^\nu), \quad (12)$$

ζ a ν jsou parametry závislé na molekulové hmotnosti difundující látky a poloměru difundující látky. Obecně platí, že pro difundující látky s menším hydrodynamickým poloměrem je ζ rovna právě hydrodynamickému poloměru, zatímco pro makromolekulární látky je $\zeta \sim M^{0.9 \pm 0.1}$. Koeficient ν je pro nízkomolekulární látky roven 1 a pro vysokomolekulární látky roven 0,5.

Na rozdíl od modelu dle Altenberga či Cukiera jsou zde polymerní řetězce brány jako mobilní útvary, které jsou schopny rotovat. Rovnice 53 dle Philliese je založena na třech základních presumpcích: nárůst koncentrace polymeru z c na $c + dc$ zvyšuje frikční koeficient z hodnoty f na hodnotu $f + df$, což výrazným způsobem ovlivní hodnotu difúzního koeficientu, jelikož ten je závislý nepřímo úměrně na frikčním koeficientu dle Einsteinova vztahu (rovnice 13)

$$D = \frac{k_B T}{f}. \quad (13)$$

Druhým předpokladem jsou hydrodynamické interakce mezi polymerními řetězci (nevznikají propleteniny, ale dochází pouze k hydrodynamickým interakcím) a třetím vlivem ovlivňující difúzní procesy dle Philliese je závislost natažení řetězce na koncentraci polymeru. Dle publikace [13] se jedná o univerzální rovnici, pomocí které lze řešit složité difúzní případy zahrnující hydrodynamické interakce a vliv molekulové hmotnosti difundující látky přes širokou škálu koncentrací.

Genessův model

Tento difúzní model bere v úvahu tepelný pohyb velmi dlouhých lineárních řetězců (zapletených makromolekul) v koncentrovaných roztocích polymerů. Poprvé byl představen Gennesem [14] který ve své práci popisoval pohyb polymerního řetězce o molekulové hmotnosti M uvnitř třídimenzionální sítě polymeru (gel). Brownův pohyb pro vysokomolekulární polymery byl odhadnut podle rovnice 14 jako závislost difúzního koeficientu na molekulové hmotnosti

$$D \sim M^{-2}. \quad (14)$$

Naopak difúze vysokomolekulárního polymeru v nezapleteném systému nebo ve zředěných roztocích polymerů je popsán rovnicí 15

$$D \sim M^{-1}. \quad (15)$$

Na závěr lze říci, že modely podle Cukiera a Altenberga jsou schopny popsat difúzní procesy malých molekul v polozředěných roztocích polymerů. Polymerní řetězce jsou v tomto případě brány jako nehybné. Těmito modely naopak nelze popsat difúzi v koncentrovaných roztocích polymerů. Prvním modelem, který popisoval difúzi markosloučenin v materiálech gelového charakteru byl model dle Gennese.

2.1.4 Teorie volného objemu

Jako volný objem je definován objem, který není okupován hmotou. Může být také definován jako rozdíl objemů, který zaujímá hmota při určité teplotě a objemu, který zaujímá stejný systém při teplotě 0 K. Při 293,15 K, bude tedy volný objem definován podle rovnice 16. Vzhledem k tepelnému pohybu se molekuly rozpouštědla neustále pohybují (redistribuce) a z toho důvodu tedy bude vyloučený objem větší než nula, jelikož pohybující se molekuly zaujímají větší objem než molekuly při teplotě rovné absolutní nule

$$\Delta V = V_{293,15\text{ K}} - V_{0\text{ K}}. \quad (16)$$

Difúzní modely na základě teorie volného objemu se liší od ostatních modelů v tom, že nepovažují difúzi za termálně aktivovaný proces. Místo toho je dle této teorie difúze výsledkem náhodné redistribuce částic ve volném objemu polymerní matrice.

Model podle Vrentas a Duda

Největší pokrok ve vývoji teorie volného objemu nastal tehdy, když Vrentas a Duda publikovali svou práci [15], kde testovali teorii volného objemu v závislosti na měnících se podmínkách difúzních procesů, jako například teplota (aktivační energie difúze), široký rozsah koncentrace polymeru, velikost difundující látky, molekulová hmotnost polymeru apod.

V případě, že existuje ternární systém (difúze rozpuštěné látky v polymerní síti) lze definovat rovnici 17 pro výpočet difúzního koeficientu následovně:

$$\frac{D}{D_0} = \exp \left[-\frac{E_a}{RT} \right] \exp \left[-\frac{\omega_1 \widehat{V}_1^* + \omega_2 \xi \widehat{V}_2^*}{\frac{K_{11} \omega_1 (K_{21} - T_{g1} + T)}{\gamma_1} + \frac{K_{12} \omega_2 (K_{22} - T_{g2} + T)}{\gamma_2}} \right], \quad (17)$$

kde D_0 symbolizuje difúzní koeficient solventu při absenci polymeru, E je aktivační energie difúzního procesu, ω_i je hmotnostní frakce komponenty i , $\widehat{V}_1^*$ je specifický objem potřebný pro přesun 1 molekuly i -té komponenty, ξ značí poměr objemu difundujícího rozpouštědla ku objemu difundujícího polymeru, γ_i je překryvový faktor volného objemu pro čistou komponentu i , T_{gi} je teplota skelného přechodu komponenty i , K_{11} a K_{21} jsou parametry volného objemu difundující látky a konečně K_{12} a K_{22} jsou parametry volného objemu pro polymer. Tyto parametry jsou definovány v publikaci [16].

Rovnice 17 může být v některých případech zjednodušena, například tehdy, když jsou koncentrace polymeru velmi malé (viz. rovnice 18)

$$\log \left(\frac{D}{D_0} \right) = \frac{-\xi V_2 \omega_2}{2,303 K_{11} (K_{21} - T_{g1} + T) / \gamma}. \quad (18)$$

2.2 Difúzní procesy s ohledem na gelový charakter vzorku

Rychlost difúzních procesů je značně závislá na tom, v jakém prostředí je difúze realizována. Velké oblibě se těší realizace difúzních procesů v hydrogelových médiích. Difúze v hydrogelech má několik výhod: difúze je nerušená – transport látek skrz hydrogelová média není rušen konvekcí. Další obrovskou výhodou hydrogelových nosičů je fakt, že lze připravit materiály přesně definovaných rozměrů a tvarů, což významným způsobem napomáhá k jednoduššímu matematickému popisu samotných difúzí.

Skupina čínských autorů v čele s Liang se ve své publikaci [17] zabývali studiem transportu proteinů v agarózových gelech. Jejich hlavním cílem bylo navrhnout a následně optimalizovat systém pro cílené a kontrolované uvolňování léčiv na bázi proteinů (hovězí sérový albumin – BSA a lysozomy). Experimenty realizovaly při teplotě 37 °C, což odpovídá teplotě lidského těla. Analytickou metodou pro stanovení změny koncentrace proteinů difundujících skrz agarózový gel bylo měření indexu lomu. Hlavními výstupy byly efektivní difúzní koeficienty. Ve své další publikaci [18] tito autoři studovali difúzní model použitelný pro transport polysacharidů skrz stejné prostředí. Dospěli k názoru, že agarózový hydrogel má překážkový charakter a difúzní procesy lze tedy nejlépe popsat pomocí Philiesova či Ogstenova modelu.

Difúzní procesy realizované v agarózových gelech byly také hlavní náplní publikace [19] Golmohamadi a kolektiv studovali difúzi kademnatých iontů a také organických sloučenin iontového charakteru v agarózových gelech pomocí fluorescenční korelační spektrofotometrie a také pomocí difúzních cel. Hlavními parametry, které zkoumaly, byly iontová síla a vliv pH. Jakožto organické látky iontového charakteru použili barvivo typu rhodamin 6G (RH). Dospěli k závěru, že difuzivita nabitých látek je funkcí pH a klesá od zásaditého pH ke kyselému.

Obecně lze říci, že metoda difúzní cely je hojně využívána pro studium difúzních procesů v agarózových hydrogelech. Hlavními parametry, které lze pomocí této metody stanovit, jsou především efektivní hodnoty difúzního koeficientu, adsorbovaná/absorbovaná koncentrace difundující látky uvnitř hydrogelu (pouze v případě, že dochází k sorpci) a také čas průchodu

prvotní molekuly difundující látky. Difúzní cely byly využity například pro studium huminových kyselin [20], proteinů [21] nebo etanolu [22].

Shackelford a Moore [23] popsali difúzi radionuklidů v porézních médiích. Hlavním přínosem této publikace je především objasnění pojmu porozita a tortuozita. Dle této publikace není cesta difundující látky zcela přímočará, ovšem v určitých fázích při difúzi dochází k zakřivení dráhy difundující látky vlivem překážky v podobě řetězců hydrogelové matrice.

Studiem reaktivity huminových kyselin metodou difúzní cel v závislosti na různých parametrech (teplota, iontová síla, pH, charakter difundující látky, modifikace huminových kyselin) se zabývají také publikace [24-26].

Reaktivitu huminových kyselin lze v hydrogelových maticích studovat také pomocí neustálených difúzních procesů. Pozitivní afinita huminových kyselin vůči iontům těžkých kovů je poměrně dobře prozkoumána. Následující publikace [27] a [28] se věnují právě této problematice interakce huminových kyselin povětšinou s měďnatými ionty. Studován je vliv iontové síly či modifikace huminových kyselin v koagulovaných huminových hydrogelech. Difúzí léčiv (valinomycin) v agarózových hydrogelech se zabývá publikace [29] britských vědců. Jako analytické metoda pro stanovení difúzních parametrů (efektivní difúzní koeficient, doba průchodu, difúzní konstanta) byla použita konduktometrie. Dle této publikace valinomycin vytváří poměrně velké agregáty, což výrazným způsobem ovlivňuje rychlost difúzních procesů.

2.3 Interakce biokoloidů s opačně nabitými látkami

2.3.1 Chitosanové hydrogely a tenké filmy

Vzhledem k tomu, že chitosan se v roztoku nabíjí kladně, očekává se, že bude docházet k interakcím s anionaktivními látkami. Interakce chitosanu s anionaktivními látkami je poměrně dobře prokázána v několika publikacích. Těchto interakcí se velmi často využívá při tvorbě scaffoldů na bázi chitosanu [30] a [31]. Publikace [32] se zabývá syntézou chitosanových hydrogelů s přidavkem siliky, které mají být následně využity pro odstraňování potravinářských barviv z vodných roztoků. Pro zhodnocení míry interakce mezi chitosanem a anionaktivními potravinářskými barvivami byly použity jednoduché sorpční experimenty a data byla analyzována pomocí Langmuirovy, Freundlichovy respektive Dubinin-Raduskhevichovy izotermy. Autoři v této publikaci také zkoumali vliv pH na sorpční kapacitu takto připravených hydrogelů.

Další práce [33] brazilských vědců se taktéž zabývá odstraňováním potravinářských barviv z vodných roztoků pomocí adsorpčních procesů na chitosanové filmy. V tomto případě byl studován především vliv teploty v rozmezí 20 – 60 °C. Míra interakce mezi chitosanem a barvivami byla studována pomocí infračervené spektrofotometrie s Fourierovou transformací a také pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie. Experimentálně bylo zjištěno, že adsorpční procesy potravinářských barviv se řídí podle Redlich-Petersonovy izotermy. Japonští vědci Harikishore a Seung-Mok se ve své publikaci [34] věnují optimalizaci přípravy magnetických kompozitů na bázi chitosanu a jejich následnému využití k odstraňování těžkých kovů respektive barviv z vodných roztoků. Podle této publikace jsou magnetické chitosanové kompozity inovativním materiálem, který vykazuje poměrně dobré sorpční schopnosti vůči toxickým polutantům ve vodných roztocích. Sorpční kapacita a rychlost těchto procesů byla studována pomocí infračervené spektrofotometrie či termogravimetrie. Jako největší výhodu těchto materiálů uvádí, že je lze použít opakovat na resorpci. Vzhledem k tomu, že desorpci toxických polutantů lze provést velmi

jednoduše pomocí magnetického pole. Přehledné review o aplikaci těchto materiálů nabízí reference [35]. Další publikace [36] a [37] se věnují stejné problematice se zaměřením především na kinetiku sorpčních procesů.

Skupina japonských vědců kolem Yoshida se ve své publikaci [38] věnují mechanismu uvolňování sorbanu draselného z chitosanových filmů s ohledem na cílenou a postupnou distribuci aktivních látek ve vodných roztocích. K posouzení uvolňování využily difúzní procesy, kde hlavním parametrem byl difúzní koeficient. Zkoumali také vliv přítomnosti lipidové dvojvrstvy na rychlost těchto difúzních procesů. Dle této publikace však lipidová dvojvrstva nemá významnější vliv na rychlost uvolňování sorbanu draselného z chitosanových filmů. Další publikace [39] zaměřující se na difúzní procesy v chitosanových hydrogelech pochází od vědecké skupiny kolem García-Aparicio. Zabývali se především difúzí malých molekul jako například kofeinu či kaprolaktamu v chitosanových gelech s rozdílnou koncentrací vody. Použitou metodou pro vyhodnocení byla protonem lokalizovaná nukleární magnetická rezonance. Dle autorů se jedná o nedestructivní metodu, která je schopna monitorovat koncentrace difundující látky v závislosti na měnícím se čase. Experimentálně získané koncentrační profily byly následně korelovány s teoretickými modely podle Fickových zákonů. Hodnoty difúzních koeficientů se pohybovaly v rozmezí $3,4 \cdot 10^{-6}$ až $6,1 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ v závislosti na koncentraci chitosanu v gelu a typu difundující látky.

2.3.2 Huminové látky

Hlavní náplní předložené dizertační práce bylo studium interakce biokoloidních látek s organickými barviv. Této problematice se věnuje velké množství odborných publikací. Guy a kolektiv [40] studovali interakci methylenové modři a huminových kyselin. Výsledky jejich studie jsou následující: interakce tohoto barviva s huminovými kyselinami jsou dvojího typu – iontová výměna a fyzikální adsorpce. Tato tvrzení potvrdila také publikace autorů Tan a Chaudhuri [41].

Janoš [42] se ve své publikaci věnoval sorpci organických barviv na humát železitý. Jako organická barviva byly použity běžně dostupné látky, konkrétně methylenová modř, malachitová zeleň nebo rhodamin 6B. Sorpce barviv na humáty byla popsána pomocí vícevrstvé Lagmuirovy izotermy, sorpční kapacita byla stanovena v rozmezí 0,01 – 0,09 mmol/g. Zkoumán byl také vliv pH a přítomnost nízkomolekulární anorganických solí. Bylo zjištěno, že tyto dva zkoumané parametry měly pouze malý efekt na výslednou sorpční kapacitu. Na rozdíl od přítomnosti anionaktivního surfaktantu (SDS), který zvyšoval sorpční kapacitu zcela významně.

V rámci studia reaktivity huminových kyselin v této dizertační práci byla studována také interakce s dalším anionaktivním barvivem – rhodamin 6G. Rhodamin jakožto difúzní médium, byl do práce přidán především z toho důvodu, jelikož difúze rhodaminu v hydrogelech je poměrně široce rozšířena [43-45].

V dalších pracích [46] a [47] autoři studovali sorpci kationaktivních a anionaktivních barviv na oxyhumolit (typ oxidačně modifikovaného hnědého uhlí), což je materiál tvořený až ze 70 hm. % huminovými látkami. Autoři těchto článků označili mezičásticové difúzní procesy jako hlavní mechanismus, který řídí rychlost sorpčního procesu. Fernandes a kolektiv [48] studovali odstraňování methylenové modři z vodných roztoků rašelinou a jinými materiály bohatými na huminové látky. Byl opět sledován i vliv teploty. Rovnováhy bylo dosaženo již po 4,5 hodinách.

2.3.3 Polystyrensulfonyl

Kolektiv autorů kolem Salem [49] studoval interakci polystyrensulfonylu sodného s neionogenním surfaktantem Tritonem X-100 pomocí viskozitních měření a měření vodivosti. Výsledky ukázali, že viskozita takového systému se snižuje se zvyšující se koncentrací polystyrensulfonylu při konstantní koncentraci Tritonu X-100, což potvrzuje, že polystyrensulfonyl je schopen interagovat s neionogenními tenzidy.

Další publikace autorů Feng, Liu a Song [50] se zabývá studiem interakcí polystyrensulfonylu s micelami, které jsou tvořeny lauryldimethylamin oxid (DDAO). Studován byl především vliv koncentrace DDAO. Jako metody vhodné pro kvantifikaci těchto interakcí byly zvoleny turbidimetrie, dynamický rozptyl světla a elektroforetický rozptyl světla. Experimentálně bylo ověřeno, že interakce jsou zásadně řízeny iontovou silou a že koncentrace DDAO v micelách nemá žádný efekt na výsledné interakce.

Interakce mezi imidazolium iontovou kapalinou a anionaktivním polystyrensulfonylem sodným byly studovány v publikaci [51]. Jako analytická metoda byla použita isothermální titrační mikrokolorimetrie (ITC), dynamický rozptyl světla (DLS) a stanovení povrchového napětí. Bylo zjištěno, že formování agregátů polymer/surfaktant a tím tedy míra interakce je dáno především koncentrací surfaktantu (tvorba micel), což bylo ověřeno všemi uvedenými metodami.

Vázání surfaktantu (alkylpyridium chlorid) na sodnou sůl polystyrensulfonylu bylo studováno v publikaci [52] autorů Ishiguro a Koopal. Autoři ve své publikaci zmiňují, že interakce kationaktivních tenzidů a anionaktivních polymerů jsou poměrně dobře prostudovány. Vážné mezery ve výzkumu ovšem nacházejí při studiu interakcí polymeru a surfaktantu při velmi nízkých koncentracích nebo naopak extrémně vysokých. Z tohoto důvodu studovali interakce hexadecyl, dodecyl a decyl-pyridium chloridu se sodnou solí polystyrensulfonylu. Rovnováhu stanovovali pomocí membránové elektrody selektivní na surfaktanty. Zároveň se věnovali také vlivu iontové síly na míru interakcí mezi výše zmíněnými látkami.

2.4 Zhodnocení současného stavu řešené problematiky

Jak je patrné z předešlých odstavců, publikací věnujících se studiu interakce polystyrensulfonylu či sodné soli polystyrensulfonylu je celé množství, stejně tak jako publikací věnujících se studiu interakcí a reaktivitě huminových látek (kyselin). Předložená dizertační práce se hlavně věnuje studiu interakcí (reaktivity) biolátek a syntetických polymerů, ovšem jako experimentální metoda jsou využity difúzní procesy, což je v tomto ohledu poměrně neprozkoumané téma, vzhledem k tomu, že existuje pouze minimum publikací, které by se věnovaly studiu interakcí polystyrensulfonylu s různými látkami právě s využitím difúzních technik. Další bezesporou výhodou výše uvedených difúzních metod je fakt, že reaktivita biokoloidních látek je studována v hydrogelových médiích, které obsahují majoritní podíl vody a tím pádem jsou poměrně účelně schopny simulovat přirozené podmínky biokoloidních látek v jejich přirozeném prostředí. Například reaktivita či afinita biokoloidních látek (huminových kyselin) vůči barvivům či iontům těžkých kovů je běžně studována pomocí klasických sorpčních procesů. Tyto studie přinášejí velmi cenné informace například o sorpční kapacitě, ale bohužel nejsou schopny podat nám informace o tom, jak k interakcím dochází v dynamickém systému, který je podobný přirozenému prostředí huminových látek. Právě tyto informace nám mohou poskytnout níže zmíněné experimentální techniky.

3 CÍLE PRÁCE

Předložená dizertační práce je zaměřena na studium reaktivity, bariérových a transportních vlastností biokoloidních (huminové kyseliny, kyselina hyaluronová, chitosan, alginát) respektive syntetických polymerních (polystyrensulfonát) látek pomocí difúzních technik. Coby difúzní médium jsou použity iontové sloučeniny ve formě jednoduchých organických barviv (rhodamin 6G, C. I. 45160, methylenová modř, C. I. 52015 a amidočern 10 B, C. I. 20470), v závislosti na tom, o jaký biokoloid či syntetický polymer (kationaktivní či anionaktivní) se jedná. Výhodou zvolených difúzní sond je snadná detekovatelnost změny koncentrace pomocí UV-VIS spektrofotometrie.

Hlavním cílem je vyvinout a následně optimalizovat jednoduché difúzní techniky určené pro studium míry interakcí mezi zvolenou látkou a difúzním médiem. Tyto metody by měly být vhodné také pro studium reaktivity a transportních vlastností vybraných látek při různých experimentálních podmínkách, čili díky optimalizovaným difúzním technikám by mělo být možné zkoumat také vliv základních fyzikálně-chemických parametrů jako je teplota, pH, iontová síla či modifikace materiálu.

Navrženy byly dvě difúzní techniky, konkrétně metoda difúzní cely a neustálená difúze v kyvetách, jejichž odlišnosti, výhody a nevýhody jsou diskutovány dále v textu. Obě tyto metody jsou založeny na realizaci penetračních experimentů v hydrogelových maticích na bázi agarózy pouze s nízkým přídatkem aktivní látky. Každá z těchto metod poskytuje relevantní informace o procesu penetrace skrz hydrogelovou přepážku (metoda difúzní cely) respektive o penetraci dovnitř hydrogelového média (neustálená difúze v kyvetách).

Hlavními parametry, pomocí nichž bylo usuzováno o míře interakce respektive reaktivitě mezi aktivní látkou a zvolenou difúzní sondou byly v obou případech efektivní či zdánlivý difúzní koeficient, v případě difúzních cel také čas průchodu prvotní molekuly difúzní sondy a koncentrace barviva imobilizovaná v hydrogelové matici. V případě neustálené difúze v kyvetách zkoumanými parametry byly také koncentrace difúzního média na rozhraní hydrogel – roztok a tortuozní faktor. Na základě těchto parametrů byl vypočítán tzv. rozdělovací koeficient mezi difúzním médiem a hydrogelovou maticí s přídatkem aktivní látky, který charakterizuje afinitu vybraných látek k difundujícím substancím. Dalšími parametry, které byly stanovovány, byly porozita nebo zdánlivá rovnovážná konstanta difúzních procesů.

Použité biokoloidní či syntetické látky včetně hydrogelových matic byly charakterizovány základními fyzikálně-chemickými metodami. Odlišnosti v mechanických vlastnostech hydrogelů, které by mohly zapříčinit změnu transportních vlastností, byly ověřovány pomocí oscilačních testů na rotačním reometru (REO). Velikost částic, porozita a specifický povrch huminových kyselin v závislosti na modifikaci byly stanoveny pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (*scanning electron microscopy* – SEM). Acidobazické vlastnosti zkoumaných látek byly posuzovány pomocí automatického titrátoru třemi typy titrací (přímá, zpětná a karboxylová). Huminové kyseliny byly dále charakterizovány také pomocí základních spektrofotometrických metod (FTIR). Tato analýza měla prokázat úspěšnou modifikaci materiálu. U všech látek, jejichž reaktivita byla zkoumána, byla provedena také elementární analýza (EA), rovněž bylo stanoveno množství nespalitelného podílu a vlhkost materiálu pomocí termogravimetrie (TGA).

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Příprava biokoloidů biokoloidních látek

4.1.1 Biokoloidní sloučeniny – huminové kyseliny

Pro účely difúzních experimentů byl připraven zásobní roztok lignitických huminových kyselin (LHK) následujícím způsobem: 0,1 g huminových kyselin bylo rozpuštěno v 50 ml $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH. Rozpouštění huminových kyselin probíhalo po dobu 12 hodin při 250 RPM na magnetické míchačce. Po dokonalém rozpuštění LHK bylo upraveno pH roztoku pomocí $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl na finální hodnotu $\text{pH} = 7$. Na závěr byl roztok LHK doplněn destilovanou vodou na objem 100 cm^3 tak, aby bylo dosaženo požadované koncentrace $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Po doplnění požadovaného objemu destilované vody bylo ověřeno pH, které mělo hodnotu $7,0 \pm 0,1$. Zásobní roztok huminových kyselin byl připravován čerstvý vždy po dvou týdnech používání, vzhledem k tomu, že bylo experimentálně ověřeno (data prozatím nebyla publikovaná v žádném z článků), že právě po této době dochází k degradaci huminových kyselin v roztoku [53] a [54] vlivem koagulace a tím pádem se mění jejich základní fyzikálně-chemické vlastnosti, především tedy velikosti částic, což je z hlediska studia reaktivity nežádoucí.

4.1.2 Modifikace huminových kyselin

Jedním z dílčích cílů předložené dizertační práce bylo prostudovat transportní procesy vybraných látek v huminových systémech bez ovlivnění reaktivity přítomností karboxylových funkčních skupin. Z tohoto důvodu byly veškeré huminové kyseliny (LHK i IHSS HK) modifikovány pomocí selektivní metylace. Tímto způsobem lze vyselektovat vliv některých funkčních skupin ve struktuře huminových kyselin na jejich reaktivitu a naopak ověřit vliv jiných funkčních skupin. V této dizertační práci byly huminové kyseliny modifikovány pomocí trimethylsilyldiazometanu (TMS), který je schopen selektivně obsadit karboxylové funkční skupiny skupinou $-\text{CH}_3$ a tím umožní, aby se právě tyto skupiny nepodílely na interakci s iontovými látkami, čímž umožní posuzovat vliv ostatních efektů podílejících se na reaktivitě huminových kyselin jako jsou například vliv $-\text{OH}$ skupin, hydrofobicita, aj.

Metylace huminových kyselin byla provedena následujícím způsobem: 1 g LHK nebo IHSS HK byl dispergován ve směsi 4 cm^3 chloroformu a 2 cm^3 metanolu. Do této suspenze byly přidány 4 cm^3 TMS o koncentraci $2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Metylace huminových kyselin probíhala po dobu 2 hodin při konstantním míchání na vícemístné míchačce a poté byly modifikované huminové kyseliny sušeny po dobu 2 hodin pod dusíkovou atmosférou a následně 12 hodin v sušárně při teplotě 50°C . Nově připravené metylované vzorky nesly označení MHK v případě metylovaných huminových kyselin připravených z LHK a MIHSS v případě huminových kyselin připravených metylací ze standardů IHSS HK.

4.1.3 Ostatní biokoloidní látky

Jako zástupce anionaktivních biokoloidních látek byly zvoleny: alginát sodný a kyselina hyaluronová. Zástupcem kationaktivních biokoloidů byl vybrán chitosan. Veškeré tyto látky byly získány od komerčních dodavatelů a používány bez další purifikace.

Alginát sodný (čistota > 99 hm. %) a chitosan (čistota > 93 hm. %, molekulová hmotnost v rozmezí 110 – 150 kDa) byl získán od společnosti Sigma Aldrich, Inc. Kyselina hyaluronová (molekulová hmotnost 73 kDa) byla získána od společnosti CPN spol. s.r.o.

Příprava zásobních roztoků jednotlivých biokoloidních látek probíhala následujícím způsobem: navážka příslušného biokoloidu (0,1 g) byla kvantitativně převedena do 80 cm³ destilované vody a ponechána po dobu 24 hodin na magnetické míchačce při 250 RPM. Po požadované době míchání byl roztok biokoloidu doplněn na finální objem 100 cm³, čímž byla získána potřebná koncentrace 1 g·dm⁻³. Kvůli nerozpustnosti chitosanu ve vodě, musel být zásobní roztok tohoto kationaktivního biokoloidu připraven následovně: 0,1 g chitosanu bylo dispergováno v 80 cm³ 5 hm. % kyselině octové a tato směs byla ponechána na míchačce při 250 RPM po dobu 24 hodin. Po dokonalém rozpuštění chitosanu byl roztok doplněn 5 hm. % kyselinou octovou na finální objem 100 cm³ proto, aby byl opět získán zásobní roztok o koncentraci 1 g·dm⁻³.

4.2 Charakterizace zkoumaných látek

4.2.1 Elementární analýza

Látky, jejichž reaktivita byla zkoumána, včetně gelačního činidla – agarózy, která byla využita pro přípravu hydrogelových médií, ve kterém byly difúzní experimenty realizovány, byly podrobeny základní charakterizaci v podobě elementární analýzy. Tato charakterizace byla realizována na přístroji Thermo Finnigan FLASH EA 1112 Series CHNS/O Analyzer na Ústavu struktury a mechaniky hornin, Akademie věd České republiky v Praze.

4.2.2 Termogravimetrie

Veškeré vzorky byly taktéž charakterizovány pomocí termogravimetrického měření. Tato základní charakterizace sloužila především ke stanovení nespalitelného podílu (množství popela) a vzdušné vlhkosti ve vzorcích biokoloidů. Všechny experimenty byly realizovány na přístroji TGA Q5000 od společnosti TA Instruments na FCH VUT. Měření byla prováděna v kyslíkové atmosféře v rozsahu teplot od 20 °C do 800 °C s rychlostí ohřevu 10 °C·min⁻¹. Průtok plynu byl nastaven na konstantní hodnotu 20 dm³·min⁻¹. Veškerá měření byla provedena opakovaně, čímž byla zajištěna věrohodnost měření. Zastoupení vlhkosti ve zkoumaných látkách bylo stanovováno při 200 °C.

4.2.3 Skenovací elektronová mikroskopie

Vzorky huminových kyselin před metylací a po metylaci byly porovnávány také pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Snímky povrchu huminových kyselin byly pořízeny na zařízení typu JEOL JSM-7600F od společnosti Jeol. Hlavním účelem tohoto měření bylo ověření, zda modifikace huminových kyselin zásadním způsobem ovlivňuje specifický povrch huminových kyselin, což by mělo poměrně významný vliv na zkoumané transportní charakteristiky.

4.2.4 Infračervená spektrofotometrie s Fourierovou transformací

Pro stanovení vibračních spekter byl použit přístroj Nicolet iS50 od společnosti Thermo Scientific a vzorky pro měření byly připraveny následujícím způsobem: vzorek huminové kyseliny byl sušen při 50 °C po dobu tří dnů, jelikož vzorek před měřením musel být zbaven vzdušné vlhkosti. V případě měření v KBr tabletě byl vysušený vzorek smíchán s bromidem draselným, který byl také předem vysušen, v poměru 1:3 (jeden díl huminových kyselin a tři díly bromidu draselného).

Vzorek byl dokonale rozdispergován v KBr a pomocí lisu byla vylišována tableta, kde byly huminové kyseliny homogenně rozptýleny. V první řadě u obou metod bylo změřeno pozadí (baseline), což byl vzduch. V případě ATR metody byl vzorek umístěn na ATR krystal, ke krystalu připevněn pomocí nástavce a nechalo se probíhat měření po dobu 256 skenů. Stejné nastavení (pozadí a počet skenů) bylo použito také v případě měření průchodu infračerveného záření skrz vylišovanou tabletu KBr s přídavkem vzorku. Všechna spektra byla měřena v rozsahu $4\,000 - 400\text{ cm}^{-1}$.

4.3 Příprava hydrogelových matic

4.3.1 Hydrogely – difúzní cela

Příprava agarózových hydrogelů pro difúzní procesy realizované v difúzních celách probíhala následujícím způsobem: požadované množství agarózy (0,1 g) bylo naváženo na analytických vahách a následně převedeno do 10 cm³ destilované vody. Výsledná koncentrace agarózy v gelu tedy byla 1 hm. %. Suspenze agarózy ve vodě byla následně zahřívána až na teplotu 85 °C při kontinuálním míchání skleněnou tyčinkou. Aktuální teplota byla kontrolována pomocí digitálního teploměru. Zahřívání probíhalo do té doby, než nedošlo k úplnému rozpuštění agarózy.

Do předehřáté sušárny na 100 °C byla předem umístěna dvě mikroskopická sklíčka společně s teflonovou formou (10 minut). Následně bylo jedno sklíčko upevněno na teflonovou formu pomocí svorek a roztok rozpuštěné agarózy byl ještě za horka nalit do připravené formy. Poté byl překryt druhým sklíčkem tak, aby výsledný gel neobsahoval žádné vzduchové bubliny a opět upevněno pomocí svorky. Gelace agarózy probíhala po dobu 45 minut při laboratorní teplotě. Při poklesu teploty pod 45 °C dochází k proplétání jednotlivých agarózových řetězců, které jsou následně stabilizovány vodíkovými můstky. Tímto způsobem tedy dojde k vytvoření 3D sítě prostupující celým disperzním prostředím.

Příprava vzorků s přídavkem vybrané látky probíhala prakticky stejným způsobem jako v případě přípravy čistých agarózových gelů. Jediný rozdíl spočíval v tom, že do destilované vody před přidáním agarózy, bylo přidáno také požadované množství zvolené látky ve formě zásobního roztoku (1 g·dm⁻³). V případě huminových kyselin, alginátu a polystyrensulfonátu byly jako vhodné koncentrace zvoleny následující: 0,002 hm. %, 0,005 hm. % a 0,010 hm. % (koncentrace byly zvoleny na základě předešlých laboratorních studií). Při interakci kyseliny hyaluronové s vybranými organickými barvivy neměly výše uvedené koncentrace prakticky žádný vliv na změnu vybraných difúzních parametrů. Proto byla v případě kyseliny hyaluronové testována i vyšší koncentrace, konkrétně 0,02 hm. %, 0,05 hm. % a 0,10 hm. %.

4.3.2 Hydrogely – neustálená difúze

Veškeré hydrogely, které byly použity pro zdárnou realizaci neustálených difúzních procesů v kyvetách, byly připraveny stejným způsobem gelace termoreverzibilní agarózy jako v případě gelů pro difúzní cely.

Po rozpuštění agarózy v horké vodě byl roztok nalit do připravených spektrofotometrických (plastových) kyvet a nad hranou kyvety byla vytvořena „čepička“ z horkého agarózového roztoku. Rozměry plastových kyvet byly 10 × 10 × 45 mm. Gelace opět probíhala po dobu 45 minut při laboratorní teplotě. Po stanovené době bylo pomocí skalpelu vytvořeno ostré rozhraní mezi vzduchem a vzniklým gelem přesně v místě, kde končila kyveta. Tímto způsobem bylo definováno

přesné množství hydrogelu v každé kyvetě a především difúzní procesy mohly probíhat rovnoměrně a vždy stejně ve všech gelech.

V případě neustálené difúze v kyvetách, což je ve srovnání s difúzí celou časově méně náročné, byl testován také vliv iontové síly (IS) a pH. Z tohoto důvodu byly připraveny také vzorky čisté agarózy respektive agarózy s přídavkem vybrané látky, ve fosfátovém pufru. Pro přípravu fosfátového pufru (PBS) byly využity dihydráty hydrogenfosforečnanu sodného a dihydrogenfosforečnanu sodného. Konkrétně byly difúzní experimenty realizovány v roztocích o třech pH (3,7,11) a dvou iontových silách ($0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a $0,20 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$).

4.4 Charakterizace hydrogelů

4.4.1 Stanovení viskoelastických vlastností

Stanovení mechanických vlastností připravených hydrogelů s přídavkem látek, jejichž reaktivita byla zkoumána, bylo provedeno na reometru typu AR-G2 od společnosti TA Instruments, částečně také na reometru Physica MCR 501 od společnosti Anton Paar, Ltd. v rámci zahraniční stáže na rakouské univerzitě v Linci.

Veškeré oscilační experimenty byly měřeny systémem (geometrií) deska-deska s měřicí plochou, jejíž průměr byl 40 mm. Veškerá měření byla prováděna třikrát a výsledné hodnoty viskoelastických charakteristik jsou průměrem z těchto měření. Experimentální nastavení amplitudového testu s konstantní frekvencí oscilací bylo následující: test byl realizován při 25 °C, teplota vzorku probíhala po dobu 5 minut, maximální aplikovaná normálová síla při stlačování vzorku nepřesáhla hodnotu 5 N. Frekvence oscilací byla udržována na hodnotě 1 Hz a měřený rozsah amplitudy deformace byl v rozmezí od 0,1 % do 100 % (měřeno se stoupající tendencí).

Druhý test – frekvenční test s konstantní amplitudou deformace – byl také realizován při konstantní teplotě 25 °C. Teplota i normálová síla při stlačování byla stejná jako v případě předešlého testu. Amplituda deformace byla po celou dobu testu konstantní – 0,1 % (hodnota vybrána z LVO byla pro všechny zkoumané hydrogely stejná). Rozsah frekvencí oscilací byl od 0,1 do 20 Hz (měřeno se vzestupnou tendencí).

Výstupem z výše uvedených oscilačních testů byly základní viskoelastické charakteristiky jako elastický (paměťový) modul (G'), viskózní (ztrátový) modul (G''), komplexní modul (G^*) případně komplexní viskozita (η^*) a také ztrátový úhel (δ).

4.5 Difúzní experimenty

4.5.1 Difúzní cely

Difúzní experimenty byly realizovány v temperovatelné, horizontální difúzní cele zakoupené od společnosti PermeGear, Inc. Hydrogel, připravený podle postupu, byl umístěn mezi obě komory difúzní cely a následně zajištěn pomocí držáku difúzních cel. Poté byl k vnějšímu plášti difúzní cely připojen průtokový termostat, který byl nastaven na požadovanou teplotu. Do každé z komor difúzní cely bylo napipetováno 60 cm^3 roztoku (do zdrojové bylo napipetováno vybrané barvivo o koncentraci $0,01 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ a do přijímací čistá destilovaná voda). Tato soustava byla umístěna na vícemístnou magnetickou míchačku (250 RPM).

Do přijímací části difúzní cely (komora s destilovanou vodou) byla umístěna spektrofotometrická sonda spojená optickými vlákny se zdrojem záření (OceanOptics, HL-2000)

a také s detektorem (OceanOptics, USB 2000+). Detektor byl dále spojen s počítačem. Komunikace a převod dat byl zajištěn pomocí softwaru Spectra Suite také od společnosti OceanOptics. Zdroj záření byl zapnut alespoň 45 minut před měřením, aby dosáhl maximální možné intenzity záření. Po ponoření sondy do přijímací komory difúzní cely byla nastavena základní linie (destilovaná voda) a odečten šum detektoru (vše automaticky pomocí softwaru). UV-VIS spektra měřená kontinuálně byla ukládána automaticky ve zvolených časových intervalech (30 minut) v rozsahu 300 – 900 nm. Ze změny absorpance v závislosti na čase poté byla vypočítána koncentrace pomocí kalibrační závislosti a z této koncentrační závislosti poté mohly být spočítány fundamentální difúzní parametry.

4.5.2 Neustálená difúze v kyvetách

Po vytvoření stabilního agarózového gelu a seříznutí přebytků gelů tak, aby bylo vytvořeno ostré rozhraní, byly kyvety společně s gelem ponořeny do roztoku vhodného barviva. V případě huminových kyselin, alginátu, kyseliny hyaluronové a polystyrensulfonátu čili anionaktivních látek se jednalo o barvivo methylenová modř a rhodamin 6G, coby zástupce kationaktivních barviv. U chitosanu, jakožto představitele kationaktivního biokoloidu, se jednalo o anionaktivní barvivo amidočerní. Kyvety byly ponořeny do skleněné nádoby obsahující 250 cm³ vybraného organického barviva o koncentraci 0,01 g·dm⁻³. Zásadním předpokladem bylo, aby v průběhu celého experimentu byla zachována konstantní koncentrace barviva ve zdrojovém roztoku (i po nadifundování části barviva do struktury hydrogelu), aby mohl být zachován difúzní model.

Následně byla tato nádoba opatřena víkem a utěsněna parafilmem tak, aby nedocházelo k odpařování vody a tím pádem zakoncentrování difúzního média (barviva). Do každé nádoby byly umístěny vždy 4 kyvety (jedna kyveta s referenčním vzorkem – čistý 1 hm. % agarózový gel, dále kyvety s 1 hm. % agarózovým gelem s přídatkem 0,002 hm. %, 0,005 hm. %, respektive 0,010 hm. %). Nádoby s kyvetami byly umístěny na míchačku a zdrojový roztok barviva byl kontinuálně míchán při 250 RPM, čímž byla zajištěna vždy konstantní koncentrace barviva na rozhraní kyveta-roztok a nemohlo tedy docházet ke vzniku koncentračních gradientů, což by poté neumožňovalo použití zvoleného difúzního modelu z matematického hlediska.

Následující den (po 24 hodinách) byla měřena UV-VIS spektra nadifundovaného barviva do struktury gelu v různých vzdálenostech od rozhraní kyveta-roztok. Tímto způsobem byla proměřena celá kyveta a mohl být tedy vytvořen koncentrační profil, čili závislost koncentrace na vzdálenosti od rozhraní. Proměřit UV-VIS spektra v celém rozsahu kyvety bylo umožněno díky zkonstruování speciálního pohyblivého držáku kyvet vytvořený přímo pro tento typ měření. Momentálně je podána přihláška na patentové řízení ochrany průmyslového vlastnictví. Tento speciální držák je přihlášen jako užitný vzor pod názvem zásuvný modul precizního vertikálního posuvu kyvety do spektrofotometru umožňující studium transportu nízkomolekulárních látek.

UV-VIS spektra v různých vzdálenostech od rozhraní kyveta-roztok byla měřena ve zvolených časových intervalech (24, 48 a 72 hodin) na UV-VIS spektrofotometru Cary 50, Varian. Studium vlivu teploty na reaktivitu, respektive difuzivitu zvolených barviv do agarózových gelů s přídatkem aktivní látky bylo realizováno tak, že celá nádoba s kyvetami byla umístěna do předem vytemperované sušárny (30 °C, 40 °C a 50 °C). UV-VIS spektra byla měřena ve stejných časových intervalech jako v předešlém případě.

5 DISKUZE NEJVÝZNAMĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ

5.1 Agaróza

5.1.1 Difúzní cela

Z níže uvedené Tab. 1 je patrné, že koncentrace agarózy v hydrogelu má významný vliv na transportní procesy methylenové modři. S rostoucí koncentrací agarózy v gelu dochází k poklesu difúzního toku J_d , stejně tak jako k poklesu efektivního (D_e). Naopak pozoruhodným faktem je, že nedochází k výraznějším změnám v hodnotách času průchodu (t_L) a hodnotách zdánlivého difúzního koeficientu (D_a). Čas průchodu je tedy na koncentraci agarózy v hydrogelu nezávislý. Pokles výše zmíněných parametrů s rostoucí koncentrací agarózy v gelu je dán především nárůstem počtu řetězců agarózy v objemovém elementu hydrogelu. Řetězce agarózy v hydrogelu představují jakousi neproniknutelnou překážkou, která je nepropenetrovatelná, jak je diskutováno v současném stavu řešené problematiky a z toho důvodu dochází k prodloužení dráhy difundující látky (zvýšení vlivu tortuozity), stejně tak jako snížení porozity a proto je nárůst koncentrace methylenové modři v přijímací části difúzní cely pozvolnější. Právě ze směrnice nárůstu koncentrace MB v přijímací difúzní cele lze stanovit jak difúzní tok, tak také efektivní difúzní koeficient. Porovnáme-li vliv koncentrace agarózy v hydrogelu na nasorbované množství (n_s), lze si povšimnout, že s rostoucí koncentrací agarózy dochází i k nárůstu nasorbovaného množství. Naopak opačný vliv má teplota. S rostoucí teplotou dochází k poklesu nasorbovaného množství, což je dáno opět vyšší intenzitou Brownova pohybu při vyšší teplotě.

Tab. 1: Experimentálně stanovené difúzní parametry pro difúzi methylenové modři přes agarózové hydrogely lišící se svou koncentrací při různých teplotách [55]

$w_{\text{agaróza}}$ (hm. %)	T (°C)	$J_d \times 10^9$ (mol·m ⁻² ·s ⁻¹)	t_L (hod.)	$n_s \times 10^7$ (mol)	$D_e \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$D_a \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)
1	30	4,39	6,5	4,9	1,42	1,80
	40	6,02	2,6	2,9	3,28	4,48
	50	8,02	1,7	3,3	3,87	6,66
2	30	3,83	6,3	9,5	0,64	1,84
	40	6,15	2,8	6,1	1,59	4,21
	50	7,29	1,9	5,8	1,96	6,07
4	30	1,73	7,8	13,3	0,20	1,48
	40	3,84	2,6	10,7	0,56	4,40
	50	6,08	1,5	8,7	1,10	7,63

Aymard a kol. [56] studovali difuzivitu nízkomolekulárních iontů v různě koncentrovaných agarózových hydrogelech. Zjistili, že efektivní difúzní koeficient klesá přímo úměrně s rostoucí koncentrací agarózy v gelu. V našem případě se nejednalo o lineární pokles efektivního difúzního koeficientu, ovšem o pokles exponenciální. V případě nižších koncentrací agarózy v hydrogelu

docházelo k prudšímu poklesu efektivního difúzního koeficientu ve srovnání s koncentrovanějšími hydrogely. Difuzivita MB v hydrogelu klesá pozvolněji v důsledku strukturálních a konformačních změn v agarózových hydrogelech, zásadní vliv může mít také velikost difundující látky (MB) ve srovnání s nízkomolekulárními ionty uvedenými níže. Strukturální a konformační změny při gelaci agarózy studovalo několik vědeckých skupin. V publikaci [57] je zmiňován fakt, že s rostoucí koncentrací agarózy v hydrogelu dochází k nárůstu interakcí polymer-polymer, což vede ke vzniku kompaktnější struktury. Právě tato „kompaktnější“ struktura významným způsobem ovlivňuje transportní vlastnosti finálních hydrogelů, včetně difúzního toku a rozdělovacího koeficientu.

Pokud porovnáme difúzní charakteristiky získané pro různě koncentrované agarózové hydrogely při různých teplotách, je patrné, že s rostoucí teplotou dochází k nárůstu difúzního toku stejně tak jako efektivního a zdánlivého difúzního koeficientu. V případě času průchodu je tento trend opačný – s rostoucí teplotou dochází k poklesu času průchodu. Tato tvrzení jsou v souladu s teoretickými předpoklady, že difúze je teplotně aktivovaný proces. S rostoucí teplotou dochází k nárůstu Brownova tepelného pohybu částic, což je hlavní činitel, který je zodpovědný za difúzní procesy. Z tohoto důvodu jsou difúzní procesy nejen v hydrogelových médiích rychlejší při vyšší teplotě.

Hodnota difúzního toku (J_d) je také značně závislá na rozdělovacím koeficientu H , který vyjadřuje rozdíl koncentrace v gelu vůči roztoku a lze vypočítat z množství barviva obsaženého v agarózovém hydrogelu na konci experimentu (rozdíl původní koncentrace ve zdrojové komoře difúzní cely proti součtu koncentrací ve zdrojové a přijímací komoře difúzní cely na konci experimentu), lze jej spočítat podle rovnice 64. Můžeme tedy říci, že rozdělovací koeficient vyjadřuje jak moc se barvivo zakoncentrovává v hydrogelu ve srovnání s původní koncentrací barviva v roztoku. V případě penetrace methylenové modři skrz porézní přepážky ve formě hydrogelů byla pozorována silná parciace. Toto tvrzení je v souladu s již publikovanou literaturou. Golmohamadi a kol. [58] potvrdili silnou parciaci kademnatých iontů a rhodaminu v agarózových hydrogelech. V těchto publikacích vysvětlují nárůst rozdělovacího (parciačního) koeficientu díky nespecifickým Donnanovým efektům, které jsou spojeny s nábojem hydrogelu, čili v podstatě se jedná o elektrostatické interakce. Vylučují ovšem jakýkoliv vliv specifických interakcí mezi agarózou a difundujícím médiem, což bylo experimentálně potvrzeno několika metodami.

5.1.2 Neustálená difúze v kyvetách

Výše uvedená difúzní metoda – metoda difúzní cely – představuje velmi cenný aparát vhodný pro stanovení transportních charakteristik vybraných látek. Ovšem tato metoda má také několik úskalí. Hlavní nevýhoda spočívá především v tom, že nelze zároveň relevantně kvantifikovat proces parciace mezi gelem a roztokem společně s interakcemi solutu a hydrogelové matrice. Z tohoto důvodu byla navržena také druhá metoda – neustálená difúze v kyvetách, která má napomoci ke stanovení obdobných difúzních parametrů nezbytných pro kvantifikaci difúzních procesů, ovšem z jiného pohledu, se zaměřením především na proces parciace barviva v hydrogelu. Zatímco v případě metody difúzní cely se jedná o ustálený difúzní proces, kde penetrace barviva probíhá skrz celou hydrogelovou přepážku, v případě neustálené difúze v kyvetách probíhá difúze do struktury hydrogelu, ve kterém je aktivní substance homogenně rozptýlena. Takže zatímco v případě metody difúzní cely nejsme schopni usuzovat o tom, co se s difundujícím médiem děje uvnitř hydrogelu, v případě nestacionární difúze v kyvetách už ano.

Z koncentračních profilů pro různě koncentrované agarózové hydrogely byly vypočítány fundamentální difúzní parametry v podobě zdánlivého difúzního koeficientu, efektivní porozity, rozdělovacího koeficientu a nově zavedeného parametru koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok (c_s). Tyto parametry pro různé koncentrace agarózy při různých teplotách pro difúzní procesy realizované ve vodě jsou sumarizovány v Tab. 2 pro methylenovou modř.

Jak je patrné z Tab. 2, s rostoucí koncentrací agarózy v hydrogelech dochází k poklesu efektivního difúzního koeficientu, což je zcela ve shodě s výsledky z difúzních cel. Naopak v případě nově zavedeného parametru – koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok (c_s) – který lze dávat do souvislosti s rozdělovacím koeficientem (H) je zřejmé, že s rostoucí koncentrací agarózy dochází k mírnému nárůstu koncentrace c_s , stejně jako rozdělovacího koeficientu. Pokles efektivního difúzního koeficientu s rostoucí koncentrací agarózy v gelu je opět vysvětlována nespecifickými interakcemi mezi AG řetězcí a zvolenou difúzní sondou (MB respektive RH), stejně tak jako změnou mechanických vlastností a především koncentrací řetězců agarózy v hydrogelu. Trend poklesu efektivního difúzního koeficientu je shodný s předešlými měřeními realizovanými v difúzní cele. Rozdíl ovšem nastává tehdy, podíváme-li se na absolutní hodnoty efektivních difúzních koeficientů. Efektivní difúzní koeficienty získané metodou neustálené difúze jsou výrazně vyšší ve srovnání s metodou difúzní cely. Vysvětlení inkriminovaného rozdílu může být následující: zatímco v difúzní cele jsou zdánlivé difúzní koeficienty počítány nepřímo z času průchodu (t_L) potřebného pro penetraci difúzní sondy skrz hydrogelovou matici definované tloušťky, v případě experimentů realizovaných v kyvetách lze pozorovat časový vývoj koncentračních profilů po dlouhou dobu a opakovaně, vzhledem k tomu, že nedochází ke změně koncentračního gradientu ve zdrojovém roztoku (koncentrace zdrojové difúzní sondy je udržována po celou dobu na konstantní hodnotě buď tak, že je difúze realizována v nasyceném roztoku a nebo přidavkem zdrojového difúzního média v průběhu experimentu), což významným způsobem redukuje možnou experimentální chybu stanovení. Z tohoto důvodu jsou nestacionární difúzní metody realizované v kyvetách vhodnější metodou pro popis té části difúzních procesů, kde dochází k sorpci a penetraci barviva skrz porézní přepážku ve srovnání s metodou difúzní cely. Stejné trendy ve fundamentálních difúzních parametrech byly zaznamenány také pro druhou difúzní sondu – rhodamin 6G

Tab. 2: Efektivní difúzní koeficient, koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok, rozdělovací koeficient a efektivní porozita pro agarózové hydrogely při různých teplotách (jako difúzní sonda použita MB)

$w_{\text{agaróza}}$ (hm. %)	T (°C)	$D_e \times 10^{10}$ ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	c_s ($\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$)	H (a.u.)	ϵ_{eff} (a.u.)
1	30	$5,58 \pm 0,88$	$0,015 \pm 0,003$	$1,5 \pm 0,3$	$1,50 \pm 0,34$
	40	$7,79 \pm 0,60$	$0,030 \pm 0,004$	$3,0 \pm 0,4$	$3,04 \pm 0,38$
	50	$8,39 \pm 0,77$	$0,027 \pm 0,004$	$2,7 \pm 0,4$	$2,65 \pm 0,38$
2	30	$5,01 \pm 0,28$	$0,021 \pm 0,001$	$2,1 \pm 0,1$	$4,28 \pm 0,23$
	40	$6,64 \pm 0,12$	$0,045 \pm 0,007$	$4,5 \pm 0,7$	$9,55 \pm 1,40$
	50	$7,68 \pm 1,32$	$0,053 \pm 0,018$	$5,3 \pm 1,8$	$10,59 \pm 3,52$

5.2 Lignitické huminové kyseliny

5.2.1 Difúzní cely

Prvními přírodními látkami, jejíž reaktivita byla zkoumána pomocí metody difúzní cely, byly lignitické huminové kyseliny izolované z jihomoravského lignitu. Malý přídavek LHK v porovnání s množstvím agarózy v gelu (maximální přídavek LHK byl 100 krát nižší v porovnání s koncentrací agarózy v hydrogelu) zcela zásadním způsobem ovlivňuje difuzivitu vybraných organických barviv a zároveň i bariérové schopnosti těchto směsných agarózových a huminových gelů. Stejně jako u vlivu koncentrace agarózy, i v tomto případě dochází k nárůstu nasorbovaného množství MB respektive RH v agarózovém hydrogelu v závislosti na rostoucí koncentraci LHK. Tento nárůst je natolik razantní, že lze zcela jistě vyloučit, že by mohl být způsoben pouze zvýšením pevného podílu ve finálním hydrogelu. Zcela zásadně se zvyšuje také druhý parametr rozhodující o difúzních procesech v difúzních celách – čas průchodu (t_L). I v tomto případě dochází k výraznému nárůstu času průchodu, kdy tento nárůst je úměrný zvyšující se koncentraci LHK v gelu. Na druhou stranu, hodnota difúzního toku (J_d) signifikantně klesá s rostoucí koncentrací LHK v 1 hm. % agarózovém hydrogelu. Změna těchto základních difúzních parametrů je dána intenzivními interakcemi mezi kladně nabitými difúzními sondami (MB a RH) a celkově záporně nabitými lignitickými huminovými kyselinami. Charakter těchto interakcí bude diskutován dále.

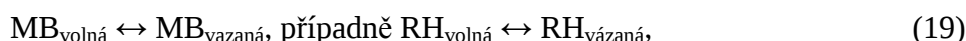
Tab. 3: Experimentálně stanovené difúzní parametry pro difúzi methylenové modři přes 1 hm. % agarózový hydrogel s přídavkem lignitických huminových kyselin při různých teplotách.

w_{LHK} (hm. %)	T (°C)	$J_d \times 10^9$ (mol·m ⁻² ·s ⁻¹)	t_L (hod.)	$n_s \times 10^7$ (mol)	$D_e \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$D_a \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)
0,000	30	4,39	6,4	4,9	1,42	1,80
	40	6,02	2,6	2,9	3,28	4,48
	50	8,02	1,7	3,3	3,87	6,66
0,002	30	4,11	7,5	6,6	1,39	1,55
	40	5,64	3,6	5,7	3,68	3,22
	50	6,50	2,2	5,7	3,70	5,31
0,005	30	2,76	11,2	7,6	1,11	1,03
	40	5,40	4,7	7,9	4,22	2,44
	50	6,87	3,7	8,6	4,94	3,11
0,010	30	1,73	17,2	10,5	0,76	0,57
	40	2,88	8,3	9,6	2,62	1,40
	50	6,95	4,8	10,5	6,03	2,42

Základní parametry v podobě času průchodu a efektivního difúzního koeficientu byly vypočítány z časových vývoje koncentrace vybrané difúzní sondy v přijímací části difúzní cely. Efektivní difúzní koeficient charakterizuje ustálenou difúzi barviva do přijímací komory difúzní cely, čili až tu část difúze, kdy barvivo propenetruje skrz porézní přepážku ve formě hydrogelu. Z tohoto důvodu by neměla být hodnota efektivního difúzního koeficientu ovlivněna jakýmkoliv specifickými interakcemi mezi difundujícím solem a aktivní látkou v hydrogelu, vzhledem k tomu,

že ustálená difúze přichází na řadu až tehdy, když je ustanovena dynamická rovnováha mezi difundující látkou a hydrogelem. Proto lze uvažovat, že difúzní koeficient bude zcela nezávislý na malém přídávku aktivní látky. Toto tvrzení ovšem není zcela pravdivé, vzhledem k tomu, že malé nuance byly v případě závislosti efektivního difúzního koeficientu na proměnném množství huminových kyselin v AG gelu prokázány (viz. Tab. 3). Stejně tak jako ve srovnání efektivního difúzního koeficientu pro čistý agarózový hydrogel a hydrogel s přídávkem HK.

Pozitivní interakce mezi LHK a difúzními sondami v podobě organických barviv je tedy zřejmá z uvedených průchodových křivek již na první pohled. Otázkou ovšem zůstává, jaký charakter mají tyto interakce a jaký je mechanismus sorpce barviv na huminové kyseliny obsažené v agarózovém hydrogelu. Pro vysvětlení povahy inkriminovaných interakcí můžeme uvažovat následující model: jedná se o reverzibilní sorpci, kterou lze vystihnout schématem (rovnice 19)



čili očekáváme, že nastane rovnováha mezi barvivem navázaným na LHK a barvivem schopným difundovat skrz hydrogel do přijímací komory difúzní cely. Tento předpoklad lze uvažovat tehdy, jedná-li se o velmi rychlý proces v porovnání s difúzí barviva, což je v tomto případě splněno a také tehdy, pokud sorbent (LHK) obsahuje velké množství funkčních skupin, které jsou schopny se podílet na sorpčních procesech. Samotné reakce (mechanismy) jsou splněny tehdy, pokud se jedná o reakce 1. Řádu v obou směrech (nesmí vznikat žádné vedlejší produkty). Podmínka lokální rovnováhy je splněna tehdy, pokud je reakce velmi rychlá v porovnání s difúzí. Druhý předpoklad je splněn pro systémy obsahující funkčních skupiny, které jsou v celém objemovém elementu distribuovány homogenně (jako v případě agarózových hydrogelů s přídávkem LHK).

Závěrem lze tedy říci, že experimentální výsledky poměrně jasně ilustrují efekt interakcí huminových kyselin s vybranými organickými barvivy. Bylo ověřeno, že i malý přírůstek LHK výrazným způsobem mění transportní a bariérové vlastnosti AG hydrogelů (transport kladně nabitých organických barviv je signifikantně zpomalován). Změna transportních a bariérových vlastností je dána především specifickou interakcí MB respektive RH a LHK, kterou lze vyjádřit pomocí zdánlivé rovnovážné konstanty. Podrobnější informace o studiu reaktivity LHK v agarózových hydrogelech formou difúzních procesů lze nalézt v literatuře [55].

5.3 Kyselina hyaluronová

Vhodnost vyvinutých a optimalizovaných difúzních metod byla ověřována také na jiných biokoloidních látkách, například na tělu vlastní látce kyselině hyaluronové. Metodou difúzní cely byl studován vliv koncentrace HYA v hydrogelu, stejně jako vliv molekulové hmotnosti na reaktivitu, bariérové a transportní vlastnosti hydrogelů obsahujících přírůstek této aktivní látky.

V první fázi byly realizovány experimenty v difúzní cele. Difúzní parametry vypočítané ze změny koncentrace methylenové modři v přijímací cele v závislosti na čase jsou sumarizovány v Tab. 4. Studium reaktivity kyseliny hyaluronové bylo realizováno pouze za použití MB coby difúzního média, vzhledem k tomu, že vhodnost vyvinutých difúzních technik již byla úspěšně ověřena u huminových kyselin.

Tab. 4: Vypočtené difúzní parametry pro 1 hm. % AG hydrogel s přidavkem kyseliny hyaluronové. Difúze methylenové modři realizována v difúzní cele při 30 °C.

W_{HYA} (hm. %)	M (kDa)	$J_d \times 10^9$ (mol·m ⁻² ·s ⁻¹)	t_L (hod.)	$n_s \times 10^7$ (mol)	$D_e \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$D_a \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)
0,00	-	3,23 ± 0,36	4,8 ± 0,5	3,6 ± 0,9	1,40 ± 0,26	2,41 ± 0,36
0,01	500	2,67 ± 0,27	4,4 ± 0,1	4,3 ± 0,4	1,20 ± 0,02	2,62 ± 0,37
0,01	1 250	3,56 ± 0,43	4,5 ± 0,8	5,5 ± 0,4	1,76 ± 0,12	2,57 ± 0,42

Na základě dat ve výše uvedené tabulce lze konstatovat, že přidavek kyseliny hyaluronové do agarózového hydrogelu má pouze velmi malý vliv na tranposrtní a bariérové vlastnosti hydrogelů nezávisle na koncentraci a na molekulové hmotnosti kyseliny hyaluronové. Porovnáme-li difúzní toky (J_d) pro 1 hm. % AG hydrogel bez/s přidavkem 0,01 hm. % kyseliny hyaluronové, je patrné, že rozdíly v absolutních hodnotách jsou prakticky zanedbatelné. Stejně tomu je také u ostatních difúzních parametrů, jako je čas průchodu, efektivní či zdánlivý difúzní koeficient. Výraznější rozdíly jsou patrné pouze v množství methylenové modři v hydrogelu stanoveném po ukončení experimentu jako rozdíl zdrojové koncentrace a sumy koncentrace barviva v přijímací a zdrojové komoře difúzní cely. Přídavek kyseliny hyaluronové mírně zvýšil sorpční kapacitu agarózového hydrogelu. V případě HYA o molekulové hmotnosti 500 kDa, je tento nárůst přibližně o 17 rel. %, zatímco v případě HYA s vyšší molekulovou hmotností (1 250 kDa) je nárůst sorpční kapacity hydrogelu o přibližně 35 rel. %. Ovšem v žádném případě tyto změny v difúzních parametrech včetně sorpční kapacity nejsou natolik markantní jako v případě výše uvedených huminových kyselin. Na základě výše uvedených difúzních parametrů lze tvrdit, že kyselina hyaluronová nemá takové bariérové schopnosti jako je tomu u huminových kyselin. Hlavní odlišnosti ve stanovených difúzních charakteristikách lze nalézt v samotném skeletu kyseliny hyaluronové. Hustota náboje ve struktuře kyseliny hyaluronové je velmi malá, jak je uvedeno v odborném článku [59]. Dle knihy publikované Gargem a Halesem [60] připadá na každý druhý hyaluronový zbytek ve struktuře kyseliny hyaluronové pouze jeden náboj. Hustota náboje a tedy hustota funkčních skupin čili možných vazebných míst ve skeletu kyseliny hyaluronové bude výrazným způsobem ovlivňovat finální míru interakce mezi HYA a MB. Právě tato odlišnost v hustotě náboje ve srovnání s huminovými kyselinami je zodpovědná za to, že stanovené difúzní parametry jsou prakticky nezávislé na koncentraci stejně tak jako na molekulové hmotnosti kyseliny hyaluronové.

Výše stanovené difúzní charakteristiky metodou difúzní cely byly verifikovány také druhou uvedenou metodou – neustálenou difúzí v kyvetách. Opět pro studium bariérových vlastností AG hydrogelů s přidavkem HYA bylo v tomto případě použito pouze barvivo MB. Difúzní parametry vypočítané z korelace mezi teoretickou funkcí a experimentálními daty jsou sumarizovány v Tab. 5. Vzhledem k tomu, že nestacionární difúzní procesy v kyvetách jsou časově méně náročné ve srovnání s experimenty realizovanými v difúzních celách, tak rozsah koncentrací kyseliny hyaluronové v hydrogelu byl rozšířen. Konkrétně byly doplněny koncentrace 0,02 hm. %, 0,05 hm. % a 0,10 hm. %. Testován byl také vliv takto vysoké koncentrace kyseliny hyaluronové v AG hydrogelu na finální viskoelastické vlastnosti, ovšem opět nebyl pozorován žádný zřetelný nárůst v hodnotách viskoelastických modulů (data nejsou uvedena v dizertační práci). Jak je patrné z níže uvedených difúzních parametrů, ani nejvyšší přídavek kyseliny hyaluronové (0,1 hm. %)

výraznějším způsobem neovlivnil transport methylenové modři či bariérové vlastnosti AG hydrogelů. Signifikantní změny nejsou patrné ani při porovnání koncentrace barviva na rozhraní hydrogel-roztok. Dokonce ani při porovnání zdánlivé rovnovážné konstanty nelze vydedukovat, že by docházelo ke specifickým interakcím mezi kationaktivním barvivem a anionaktivním biokoloidem.

Vysvětlení výše uvedených tvrzení může spočívat v již diskutované hustotě náboje ve skeletu kyseliny hyaluronové. Dalším možným vysvětlením může být fakt, že kyselé funkční skupiny (především pak karboxylové a hydroxylové) přítomné ve struktuře kyseliny hyaluronové nejsou k dispozici pro specifickou interakci s difundujícím barvivem. Dle knihy autora Walter [61] patří kyselina hyaluronová mezi jedny z nejsilnějších biologických organických kyselin. Disociační konstanta kyseliny hyaluronové nabývá hodnoty $pK_a = 3,23$. Je tedy možné, že kyselé funkční skupiny ve struktuře HYA se nemusí nacházet v disociované formě (studium reaktivity a bariérových vlastností hydrogelů s přidavkem kyseliny hyaluronové bylo realizováno při neutrálním pH) a tím pádem by tyto skupiny byly nepřístupné pro interakci s organickým barvivem. Společně tedy s nízkou hustotou náboje ve skeletu HYA může právě disociace kyselých funkčních skupin zásadním způsobem ovlivňovat transport MB, a proto nedochází ke změně fundamentálních difúzních parametrů s rostoucí koncentrací kyseliny hyaluronové v hydrogelu.

Tab. 5: Difúzní parametry pro AG hydrogely s odlišným množstvím kyseliny hyaluronové (1 250 kDa) při difúzi methylenové modři při 30 °C. Nestacionární difúze v květech.

W_{HYA} (hm. %)	M (kDa)	$D_a \times 10^{10}$ ($m^2 \cdot s^{-1}$)	c_s ($g \cdot dm^{-3}$)	H (a.u.)	K_{app} (a.u.)
0,000	1 250	$5,45 \pm 0,09$	$0,036 \pm 0,002$	$3,6 \pm 0,2$	0,6
0,002	1 250	$5,33 \pm 0,12$	$0,031 \pm 0,001$	$3,1 \pm 0,2$	0,6
0,005	1 250	$5,37 \pm 0,10$	$0,029 \pm 0,002$	$2,9 \pm 0,2$	0,6
0,010	1 250	$5,11 \pm 0,16$	$0,021 \pm 0,001$	$2,1 \pm 0,1$	0,7
0,020	1 250	$5,14 \pm 0,07$	$0,034 \pm 0,001$	$3,4 \pm 0,1$	0,6
0,050	1 250	$5,14 \pm 0,17$	$0,026 \pm 0,004$	$2,6 \pm 0,4$	0,6
0,100	1 250	$5,11 \pm 0,19$	$0,025 \pm 0,002$	$2,5 \pm 0,2$	0,7

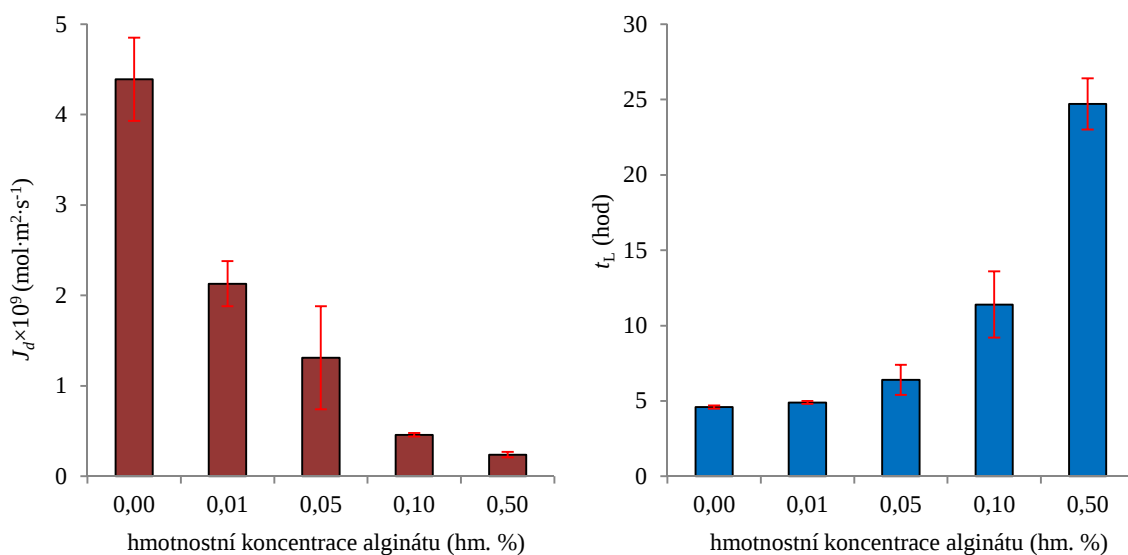
Závěrem této kapitoly lze říci, že kyselina hyaluronová coby přírodní biokoloid disponuje nižší reaktivitou ve srovnání s huminovými kyselinami. Vliv disociace karboxylových funkčních skupin může být potvrzen či vyloučen studiem reaktivity HYA při rozdílném pH a iontové síle jako v případě huminových kyselin, což může být námětem pro další experimenty týkající se studia reaktivity biokoloidních látek v hydrogelových médiích pomocí difúzních procesů.

5.4 Alginát

Dalším testovaným biokoloidem byl alginát sodný. Na rozdíl od výše uvedené kyseliny hyaluronové, přidavek alginátu do agarózového hydrogelu vyvolával silnou interakci mezi tímto biokoloidem a difundujícím médiem v podobě methylenové modři, která se projevila ve stanovených difúzních parametrech.

Změny v uvedených difúzních parametrech jsou pravděpodobně způsobeny odlišnou nábojovou hustotou. Jak je uvedeno v [62], nábojová hustota ve struktuře alginátu sodného je poměrně vysoká, především pak u manuronové kyseliny coby podjednotky vyskytující se ve struktuře alginátu, což je výrazná změna ve srovnání s nábojovou hustotou kyseliny hyaluronové. Důležitým parametrem může být také hydratace biokoloidních látek. Vzhledem k tomu, že kyselina hyaluronová je známa svým silným hygroskopickým efektem, dokonce je prezentována jako jedna z nejvíce hygroskopických látek v přírodě [63], dochází tedy k hydrataci hyaluronových řetězců a tím pádem nasorbovaná voda tvoří jakýsi neprostupný obal a proto dochází pouze k omezené interakci s barvivem. Alginát je v tomto případě odlišný. V literatuře [64] je taktéž popsán hygroskopický efekt alginátu, ovšem ve srovnání s kyselinou hyaluronovou není natolik markantní.

Srovnáme-li hodnoty disociačních konstant pro obě dvě látky, zjistíme, že se od sebe příliš neliší. Zatímco u kyseliny hyaluronové je hodnota pK_a 3,23. pK_a pro alginát nabývá dle literatury [62] hodnoty 3,40. Výše diskutovaný vliv disociace na reaktivitu a bariérové vlastnosti biokoloidních látek tedy v tomto případě můžeme vyloučit, jelikož obě porovnávané biokoloidní látky disponují téměř stejnou hodnotou pK_a , tím pádem disociace kyselých funkčních skupin v obou případech bude prakticky stejná. Jejich reaktivita vyjádřená změnou difúzního toku respektive času průchodu v závislosti na koncentraci alginátu v hydrogelu se ovšem velmi významně liší. Hlavní odlišnosti v reaktivitě obou porovnávaných látek budou tedy způsobeny především již diskutovanou nábojovou hustotou.



Obr. 1: Difúzní tok J_d (vlevo) a čas průchodu barviva t_L (vpravo) pro 1 hm. % AG hydrogely s různou koncentrací alginátu. Výsledky z difúzní cely.

Vliv přidavku alginátu sodného na transportní a bariérové vlastnosti agarózových hydrogelů byl studován také neustálenou difúzní metodou. Výsledky vyhodnocených experimentálních dat jsou sumarizovány v Tab. 6. Z níže uvedené tabulky je patrné, že s rostoucí koncentrací alginátu v hydrogelu dochází k výraznému snižování zdánlivého difúzního koeficientu D_a . Stejně jako v případě experimentů realizovaných v difúzních celách, i v tomto případě tento pokles symbolizuje silnou interakci mezi alginátem a difundujícím barvivem. Porovnáme-li ovšem koncentraci barviva na rozhraní hydrogel-roztok pro všechny zkoumané koncentrace alginátu, zjistíme, že alginát v hydrogelu nemá prokazatelný vliv na finální hodnoty c_s . Z tohoto tvrzení lze usuzovat, že

rychlost difúzních procesů je sice bržděna pozitivní interakcí mezi ALG a MB, ovšem nedochází k žádnému zakoncentrovávání barviva na rozhraní jako tomu bylo například u huminových kyselin, což se podepíše také na hodnotách rozdělovacího koeficientu H , který se s rostoucí koncentrací ALG v hydrogelu prakticky nemění. Změny jsou prakticky na úrovni stanovených relativních odchylek.

Tab. 6: Sumarizované difúzní parametry pro agarózové hydrogely s přidavkem alginátu sodného pro difúzi methylenové modři při teplotě 30 °C. Neustálené difúzní experimenty v kyvetách.

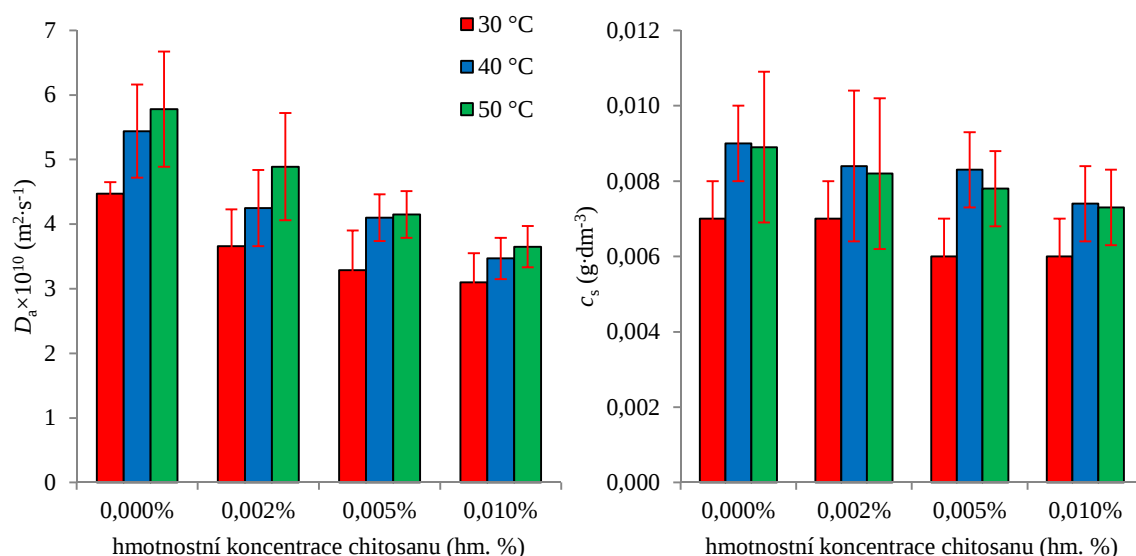
W_{ALG} (hm. %)	T (°C)	$D_a \times 10^{10}$ ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	c_s ($\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$)	H (a.u.)	K_{app} (a.u.)
0,00	30	$5,23 \pm 0,12$	$0,019 \pm 0,002$	$1,9 \pm 0,8$	0,6
0,01	30	$1,63 \pm 0,20$	$0,014 \pm 0,004$	$1,4 \pm 0,4$	4,2
0,05	30	$0,64 \pm 0,17$	$0,018 \pm 0,004$	$1,8 \pm 0,4$	12,2
0,10	30	$0,27 \pm 0,05$	$0,011 \pm 0,003$	$1,1 \pm 0,3$	30,3
0,50	30	$0,11 \pm 0,04$	$0,009 \pm 0,001$	$0,9 \pm 0,1$	75,6

5.5 Chitosan

Vhodnost vyvinutých metod, stejně tak jako univerzálnost byla testována nejen na biokoloidních látkách anionaktivního charakteru, ale také na kationaktivním zástupci biokoloidních sloučenin – chitosan. Dle teoretických předpokladů [65] se chitosan v roztoku vyskytuje jako kladně nabitý biokoloid, vzhledem k tomu, že ve své struktuře obsahuje nemalé množství $-\text{NH}_2$ skupin, které jsou schopny se protonizovat, čímž dává chitosanu poměrně unikátní vlastnosti. Díky této presumpci byla očekávána pozitivní interakce mezi kationaktivním chitosanem a anionaktivním organickým barvivem v podobě amidočerni 10B.

Výsledky získané z experimentů realizovaných metodou neustálené difúze v kyvetách jsou sumarizovány na Obr. 2. Na základě těchto grafických závislostí lze usuzovat o pozitivní interakci mezi chitosanem a zvoleným organickým barvivem, vzhledem k tomu, že s rostoucí koncentrací chitosanu v agarózovém hydrogelu dochází k poklesu zdánlivého difúzního koeficientu (D_a) viz. Obr. 2 (vlevo). Na rozdíl od koncentrace barviva AMD na rozhraní hydrogel-roztok, která je na koncentraci chitosanu v hydrogelu prakticky nezávislá. Pokles zdánlivého difúzního koeficientu je zcela jistě způsoben reverzibilní interakcí CHIT s difúzním médiem.

Pomocí neustálené difúze v kyvetách byl studován také vliv teploty na reaktivitu a bariérové vlastnosti hydrogelů obsahujících příměs chitosanu. Z výše uvedených grafických závislostí je patrné, že s rostoucí teplotou dochází k mírnému nárůstu zdánlivého difúzního koeficientu, porovnáme-li hodnoty těchto difúzních koeficientů pro jednotlivé koncentrace chitosanu v AG gelu. Stejně jako v předešlých případech, i zde je difúze barviva teplotně aktivovaný proces, kdy s rostoucí teplotou dochází k nárůstu intenzity Brownova pohybu a z toho důvodu dochází také k nárůstu zdánlivého difúzního koeficientu. Jak již bylo avizováno dříve, koncentrace chitosanu v hydrogelu neměla prokazatelný vliv na změnu koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok, stejně tak tomu bylo i v případě vlivu teploty. Ani v tomto případě nedocházelo k signifikantní změně c_s při různých teplotách.



Obr. 2: Zdánlivý difúzní koeficient (vlevo) a koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok (vpravo) pro 1 hm. % AG hydrogely s různým množstvím chitosanu při použití AMD jako difúzního média. Výsledky z neustálené difúze v květech.

5.6 Polystyrensulfonát

Univerzálnost vyvinutých difúzních technik byla testována nejen na substancích přírodního charakteru, ale také na modelové syntetické látce v podobě polystyrensulfonátu sodného. Vzhledem k tomu, že polystyrensulfonát obsahuje ve své struktuře disociované sulfonové skupiny, které jsou vykompenzovány sodnými ionty, očekávalo se, že tato látka bude vykazovat pozitivní afinitu vůči kationaktivní methylenové modři respektive rhodaminu 6G. Veškeré difúzní parametry získané metodou difúzní cely pro barvivo methylenová modř jsou sumarizovány v níže uvedeného tabulce (viz. Tab. 7).

Tab. 7: Difúzní parametry pro AG hydrogely s přídavkem PSS pro difúzi MB. Výsledky z měření v difúzní cele.

W_{PSS} (hm. %)	T (°C)	$J_d \times 10^9$ (mol·m ⁻² ·s ⁻¹)	t_L (hod.)	$n_s \times 10^7$ (mol)	$D_e \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$D_a \times 10^{10}$ (m ² ·s ⁻¹)
0,000	30	5,39 ± 0,23	4,4 ± 0,6	3,9 ± 0,9	3,79 ± 0,15	4,66 ± 0,31
0,002	30	1,03 ± 0,12	9,7 ± 0,5	11,5 ± 1,1	0,86 ± 0,14	1,20 ± 0,16
0,005	30	0,73 ± 0,09	9,3 ± 0,3	12,1 ± 1,3	0,66 ± 0,07	1,24 ± 0,21
0,010	30	0,33 ± 0,07	9,1 ± 0,6	16,6 ± 0,9	0,52 ± 0,11	1,29 ± 0,13

Z výše uvedené tabulky je patrné, že nepatrný přídavek aktivní látky v podobě polystyrensulfonátu sodného do 1 hm. % agarózového hydrogelu způsobuje zásadní změny ve stanovených difúzních charakteristikách. S rostoucí koncentrací polystyrensulfonátu sodného v AG hydrogelu dochází k exponenciálnímu poklesu difúzního toku J_d , což se podepíše také na hodnotách efektivního difúzního koeficientu. Pokles těchto difúzních charakteristik je způsoben

poměrně silnou interakcí mezi aktivní látkou v podobě PSS a zvoleným difúzním médium, v tomto případě se jednalo o methylenovou modř.

Poměrně výrazně narůstá také množství barviva, které bylo detekováno po ukončení experimentu v hydrogelu obsahujícím aktivní látku. Zatímco v případě čistého agarózového hydrogelu je množství barviva $3,9 \cdot 10^7$ molu, v případě vyšších koncentrací PSS dosahuje koncentrace barviva vázaného na hydrogelu případně volného v hydrogelu až $16,6 \cdot 10^7$ molu. Tento nárůst je opět způsoben pozitivní interakcí mezi kladně nabitým barvivem a disociovaným PSS. Polystyrensulfonát vykazuje vyšší míru afinity a s tím spojených interakcí se zvolenými difúzními médii v podobě organických barviv ve srovnání s biokoloidními látkami především pak ve srovnání s kyselinou hyaluronovou. Rozdílnost v míře reaktivity těchto dvou látek je způsobena opět nábojovou hustotou.

6 ZÁVĚR

Předložená dizertační práce se zaměřuje na základní výzkum v oblasti studia reaktivity, transportních a bariérových vlastností biokoloidních a syntetických polymerních látek. V rámci řešení dizertační práce byly vyvinuty jednoduché laboratorní difúzní techniky, které byly úspěšně optimalizovány pro stanovení uvedených kritérií širokého spektra substancí. Studium reaktivity a bariérových vlastností výše zmiňovaných látek bylo prováděno v hydrogelových médiích, jakožto vhodné matrici pro realizaci difúzních experimentů, především z hlediska matematického popisu difúze. Výhoda hydrogelů spočívá v tom, že lze připravit materiál přesně definovaných vlastností (rozměry, tvar, velikost pórů, aj.), což je nezbytné pro vytvoření vhodného matematického aparátu pro popis penetračních experimentů. Další výhoda hydrogelů tkví v relativně vysokém obsahu vody, díky kterému lze simulovat přirozené podmínky výše uvedených biokoloidních látek a tím pádem se přiblížit tomu, jak se tyto látky chovají v přirozeném prostředí – příroda.

Úspěšně bylo ověřeno, že vyvinuté difúzní techniky v podobě metody difúzních cel a neustálené difúze v kyvetách lze zdárně využít pro studium reaktivity a bariérových vlastností širokého spektra látek počínaje látkami přírodního charakteru, až po syntetické polymery. Pomocí těchto difúzních technik lze také poměrně jednoduchým způsobem stanovovat dopad základních fyzikálně-chemických parametrů na transportní a bariérové vlastnosti zkoumaných látek jako je například vliv teploty, pH, iontové síly případně modifikace materiálu. Úspěšně bylo také prokázáno, že modifikací zkoumaného materiálu (selektivním blokováním kyselých funkčních skupin) lze ovlivnit jeho reaktivitu, což bylo potvrzeno odlišnostmi ve fundamentálních difúzních parametrech při porovnání nativní a modifikované substance.

Vyvinuté difúzní techniky v sobě skrývají obrovský potenciál pro jejich případné široké využití v oblasti studia reaktivity, transportních a bariérových vlastností rozličných látek při různých experimentálních podmínkách, ať už se jedná o vliv již zmiňovaných fyzikálně-chemických parametrů či modifikaci materiálu. Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně jednoduché, ekonomicky nenáročné a uživatelsky přívětivé metody, lze tyto difúzní techniky využít na mnohých vědeckých pracovištích pro rychlé avšak poměrně spolehlivé stanovení míry interakcí mezi zvolenou aktivní látkou a difúzním médiem.

Tato dizertační práce představuje jakýsi odrazový můstek pro další výzkum, který je nezbytně nutné realizovat, v problematice studia reaktivity, bariérových a transportních vlastností biokoloidních látek. Propojení těchto difúzních technik s jinými metodami vhodnými pro studium interakcí jako například termická analýza případně spektrofotometrické metody zcela jistě poskytne ucelený náhled na reaktivitu a bariérové vlastnosti zkoumaných látek. Je nutné také rozšířit spektrum substancí, které lze pomocí těchto metod studovat o jiné (bio)polymerní, (bio)koloidní či syntetické sloučeniny. Dalším pohledem na studium interakcí v hydrogelových médiích může být korelace naměřených difúzních charakteristik s teoretickými modely vytvořenými pomocí počítačových simulací ve vhodném softwaru.

Existuje spousta možností, kam se může další výzkum ubírat. Předložená dizertační práce představuje pouze zlomek toho, co nás čeká v navazujícím výzkumu v oblasti studia bariérových a transportních vlastností koloidních látek. Tak s chutí do toho!

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] WAGGONER, Allen a Frank BLUM. Dependence of the solvent diffusion coefficient on concentration in polymer solutions. *Macromolecules*. 1993, vol. 26, no. 25, pp. 6841-6848. ISSN 0024-9297.
- [2] THOMAS, Henry. Self-diffusion studies of gel hydration and the obstruction effect. *The Journal of Physical Chemistry*. 1971, vol. 75, no. 12, pp. 1821-1826. ISSN 1089-5639.
- [3] MACKIE, J. a P. MEARES. The diffusion of electrolytes in a cation-exchange resin membrane. II. Experimental. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 1955, vol. 232, no. 1191, pp. 510-518. ISSN 1471-2946.
- [4] BROWN, Wyn, Peter STILBS a Robert JOHNSEN. Self-diffusion and sedimentation of dextran in concentrated solutions. *Journal of Polymer Science B: Polymer Physics*. 1982, vol. 20, no. 10, pp. 1771-1780. ISSN 1099-0488.
- [5] OGSTON, Alexander, Barry PRESTON a John WELLS. On the transport of compact particles through solutions of chain-polymers. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 1973, vol. 333, no. 1594, pp. 297-316. ISSN 1471-2946.
- [6] FOYE, W., T. LEMKE a D. WILLIAMS. *Principles of medicinal chemistry*. 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, c1995. ISBN 978-0-683-03323-6.
- [7] JOHANSSON, Lennart a Pia HEDBERG. Diffusion and interaction in gels and solutions. 5. Nonionic micellar systems. *The Journal of Physical Chemistry*. 1993, vol. 97, no. 3, pp. 747-755. ISSN 1089-5639.
- [8] LAGGNER, P. a O. GLATTER. *Trends in Colloid and Interface Science VII*. 1st ed. Steinkopff, c1993. ISBN 978-3-7985-0955-9.
- [9] CUKIER, Robert. Diffusion of Brownian spheres in semidilute polymer solutions. *Macromolecules*. 1984, vol. 17, no. 2, pp. 252-255. ISSN 0024-9297.
- [10] ALTENBERGER, Andrzej a Matthew TIRRELL. On the theory of self-diffusion in a polymer gel. *The Journal of Chemical Physics*. 1984, vol. 80, no. 5, pp. 2208-2213. ISSN 1089-7690.
- [11] PETIT, Jean, Benoit ROUX, Xiaoxia ZHU a Peter MACDONALD. A new physical model for the diffusion of solvents and solute probes in polymer solutions. *Macromolecules*. 1996, vol. 29, no. 18, pp. 6031-6036. ISSN 0024-9297.
- [12] PHILLIES, George. Numerical interpretation of the concentration dependence of micelle diffusion coefficients. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1987, vol. 119, no. 2, pp. 518-523. ISSN 0021-9797.
- [13] PHILLIES, George. The hydrodynamic scaling model for polymer dynamics. *Journal of Non-crystalline Solids*. 1991, vol. 131-133, no. 2, pp. 612-619. ISSN 0022-3093.
- [14] DE GENNES, Pierre. Reptation of a polymer chain in the presence of fixed obstacles. *The Journal of Chemical Physics*. 1971, vol. 55, no. 2, pp. 572-578. ISSN 0021-9606.
- [15] VRENTAS, James, Christine VRENTAS a John DUDA. Comparison of free-volume theories. *Polymer Journal*. 1993, vol. 25, no. 1, pp. 99-101. ISSN 0014-3057.
- [16] MASARO, Laurent a Xiaoxia ZHU. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. *Progress in Polymer Science*. 1999, vol. 24, no. 5, pp. 731-775. ISSN 0079-6700.
- [17] LIANG, Songmiao, Jian XU, Lihui WENG, Hongjum DAI, Xiaoli ZHANG a Lina ZHANG. Protein diffusion in agarose hydrogel in situ measured by improved refractive index method. *Journal of Controlled Release*. 2006, vol. 115, no. 2, pp. 189-196. ISSN 0168-3659.

- [18] WENG, Lihui, Songmiao LIANG, Lina ZHANG, Xianmin ZHANG a Jian XU. Transport of glucose and poly(ethylene glycol)s in agarose gels studied by the refractive index method. *Macromolecules*. 2005, vol. 38, no. 12, pp. 5236-5242. ISSN 0024-9297.
- [19] GOLMOHAMADI, Mahmood, Thomas DAVID a Kevin WILKINSON. Diffusion and partitioning of cations in an agarose hydrogel. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2012, vol. 116, no. 25, pp. 6505-6510. ISSN 1089-5639.
- [20] LEAD, Jamie, Konstantin STARCHEV a Kevin WILKINSON. Diffusion coefficients of humic substances in agarose gel and in water. *Environmental Science and Technology*. 2003, vol. 37, no. 3, pp. 482-487. ISSN 0013-936X.
- [21] GUTENWIK, Jan, Bernt NILSSON a Anders AXELSSON. Determination of protein diffusion coefficients in agarose gel with a diffusion cell. *Biochemical Engineering Journal*. 2004, vol. 19, no. 1, pp. 1-7. ISSN 1369-703X.
- [22] WESTRIN, Bengt a Anders AXELSSON. A diaphragm diffusion cell applied to ethanol diffusion in agarose gel: a reproducibility study. *Biotechnology Techniques*. 1991, vol. 5, no. 4, pp. 303-306. ISSN 0951-208X.
- [23] SHACKELFORD, Charles a Stephanie MOORE. Fickian diffusion of radionuclides for engineered containment barriers: diffusion coefficients, porosities and complicating issues. *Engineering Geology*. 2013, vol. 152, no. 1, pp. 133-147. ISSN 0013-7952.
- [24] SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – results from diffusion cells. *Reactive and Functional Polymers*. 2013, vol. 73, no. 11, pp. 1500-1509. ISSN 1381-5148.
- [25] SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – 2. Non-stationary diffusion experiments. *Reactive and Functional Polymers*. 2014, vol. 75, no. 2, pp. 41-50. ISSN 1381-5148.
- [26] SMILEK, Jiří, Petr SEDLÁČEK, Michal KALINA a Martina KLUČÁKOVÁ. On the role of humic acids' carboxyl groups in the binding of charged organic compounds. *Chemosphere*. 2015, vol. 138, no. 11, pp. 503-510. ISSN 0045-6535.
- [27] SEDLÁČEK, Petr a Martina KLUČÁKOVÁ. Simple diffusion method applied in evaluation of metal transport in model humic matrices. *Geoderma*. 2009, vol. 153, no. 1-2, pp. 11-17. ISSN 0016-7061.
- [28] KLUČÁKOVÁ, Martina, Michal KALINA, Petr SEDLÁČEK a Laurent GRASSET. Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels. *Journal of Soils and Sediments*. 2014, vol. 14, no. 2, pp. 368-376. ISSN 1439-0108.
- [29] BEDDOW, Jamie, Robert PETERSON, John HEPTINSTALL a David WALTON. Electrochemical characterisation of the diffusion of a biomolecule through a hydrogel. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2003, vol. 544, no. 3, pp. 107-112. ISSN 1572-6657.
- [30] MADIHALLY, Sundararajan a Howard MATTHEW. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 1999, vol. 20, no. 12, pp. 1133-1142. ISSN 0142-9612.
- [31] MAO, Jin, Li ZHAO, Yu YIN a Kang DE YAO. Structure and properties of bilayer chitosan-gelatin scaffolds. *Biomaterials*. 2003, vol. 24, no. 6, pp. 1067-1074. ISSN 0142-9612.
- [32] COPELLO, Guillermo, Andrea MEBERT, Maria RAINERI, Mariela PESENTI a Eduardo DÍAZ. Removal of dyes from water using chitosan hydrogel/SiO₂ and chitin hydrogel/SiO₂ hybrid

- materials obtained by the sol-gel method. *Journal of Hazardous Materials*. 2011, vol. 186, no. 1, pp. 932-939. ISSN 0304-3894.
- [33] DOTTO, Luiz, Jaqueline MOURA, Tito CADAVAL a Luiz PINTO. Application of chitosan films for the removal of food dyes from aqueous solutions by adsorption. *Chemical Engineering Journal*. 2013, vol. 214, no. 1, pp. 8-16. ISSN 1385-8947.
- [34] HARIKISHORE, Reddy a Lee SEUNG-MOK. Application of magnetic chitosan composites for the removal of toxic metal and dyes from aqueous solutions. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2013, vol. 201-202, no. 12, pp. 68-93. ISSN 0001-8686.
- [35] WANSaime, Ngh, Lee TEONG a Megat HANAFIAH. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: a review. *Carbohydrate Polymers*. 2011, vol. 83, no. 4, pp. 1446-1456. ISSN 0144-8617.
- [36] IQBAL, Javed, Feroza WATTOO, Mohammad WATTOO, Rukhsana MALIK, Syed TIRMIZI, Muhammad IMRAN a Allah GHANGRO. Adsorption of acid yellow dye on flakes of chitosan prepared from fishery wastes. *Arabian Journal of Chemistry*. 2011, vol. 4, no. 4, pp. 389-395. ISSN 1878-5352.
- [37] DOTTO, Luiz a Luiz PINTO. Adsorption of food dyes acid blue 9 and food yellow 3 onto chitosan: stirring rate effect in kinetics and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*. 2011, vol. 187, no. 1-3, pp. 164-170. ISSN 0304-3894.
- [38] YOSHIDA, Cristiana, Carlos BASTOS a Telma FRANCO. Modelling of potassium sorbate diffusion through chitosan films. *LWT – Food Science and Technology*. 2010, vol. 43, no. 4, pp. 584-589. ISSN 0023-6438.
- [39] GARCÍA-APARICIO, Carlos, Isabel QUIJADA-GARRIDO a Leoncio GARRIDO. Diffusion of small molecules in a chitosan/water gel determined by proton localized NMR spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2012, vol. 368, no. 1, pp. 14-20. ISSN 0021-9797.
- [40] GUY, David, Robert NARINE a Simon DESILVA. Organocation speciation. I. A comparison of the interactions of methylene blue and paraquat with bentonite and humic acid. *Canadian Journal of Chemistry*. 1980, vol. 58, no. 6, pp. 547-554. ISSN 0008-4042.
- [41] CHAUDHUR, Manju, M. PAL. Conductometric titrations of anionic polyelectrolytes with metachromatic dyes and effects of organic solvents. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2003, vol. 133, no. 1, pp. 151-160. ISSN 1521-3935.
- [42] JANOS, Pavel. Sorption of Basic Dyes onto Iron Humate. *Environmental Science and Technology*. 2003, vol. 37, no. 24, pp. 5792-5798. ISSN 0013-936X.
- [43] GOLMOHAMADI, Mahmood, Thomas DAVIS a Kevin WILKINSON. Diffusion and partitioning of cations in an agarose hydrogel. *Journal of Physical Chemistry A*. 2012, vol. 116, no. 25, pp. 6505-6510. ISSN 1089-5639.
- [44] FATIN-ROUGE, Nicolas, Antoine MILON, Jacques BUFFLE, Richard GOULET a André TESSIER. Diffusion and partitioning of solutes in agarose hydrogels: The relative Influence of Electrostatic and Specific Interactions. *Journal of Physical Chemistry B*. 2003, vol. 107, no. 44, pp. 12126-12137. ISSN 1520-6106.
- [45] GOLMOHAMADI, Mahmood a Kevin WILKINSON. Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion. *Carbohydrate Polymers*. 2013, vol. 94, no. 1, pp. 82-87. ISSN 0144-8617.

- [46] JANOŠ, Pavel, Pavel ŠEDIVÝ, Milena RÝZNAROVÁ a Sylvie GRÖTSCHELOVÁ. Sorption of basic and acid dyes from aqueous solutions onto oxihumolite. *Chemosphere*. 2005, vol. 59, no. 6, pp. 881-886. ISSN 0045-6535.
- [47] JANOŠ, Pavel, Pavel MICHÁLEK a Lukáš TUREK. Sorption of ionic dyes onto untreated low-rank coal – oxihumolite: a kinetic study. *Dyes and Pigments*. 2007, vol. 74, no. 2, pp. 363-370. ISSN 0143-7208.
- [48] FERNANDES, Andreia, Carlos ALMEIDA, Crislaine MENEZES, Angelo DEBACHER a Maria SIERRA. Removal of methylene blue from aqueous solution by peat. *Journal of Hazardous Materials*. 2007, vol. 144, no. 1-2, pp. 412-419. ISSN 0304-3894.
- [49] SALEM, Jamil, Omar MELAD a Rajai BARAKA. Interaction between sodium polystyrenesulfonate and Triton X-100 in aqueous solution. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2004, vol. 25, no. 6, pp. 755-758. ISSN 0193-2691.
- [50] XIANHUA, Feng, Liu SHIZHONG a Song HUITING. Studies on interaction between N,N-dimethyldodecylamine oxide and sodium polystyrenesulfonate via light scattering method. *Chemical Journal of Chinese Universities*. 2003, vol. 24, no. 5, pp. 924-927. ISSN 0251-0790.
- [51] ZHANG, Qian, Wenpei KANG, Dezhi SUN, Jie LIU a Xilian WEI. Interaction between cationic surfactant of 1-methyl-3-tetradecylimidazolium bromide and anionic polymer of sodium polystyrene sulfonate. *Applied Surface Science*. 2013, vol. 279, no. 10, pp. 353-359. ISSN 0169-4332.
- [52] ISHIGURO, Munehide a Luuk KOOPAL. Binding of alkylpyridinium chloride surfactants to sodium polystyrene sulfonate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009, vol. 347, no. 1-3, pp. 69-75. ISSN 0927-7757.
- [53] KOPPLIN-SCHMITT, Phillipe, Norbert HERTKORN, Hans-Rolf SCHULTEN a Antonius KETTRUP. Structural changes in a dissolved solid humic acid during photochemical degradation processes under O₂ and N₂ atmosphere. *Environmental Science and Technology*. 1988, vol. 32, no. 17, pp. 2531-2541. ISSN 0013-936X.
- [54] STEELINK, Cornelius, Gordon TOLLIN, John BERRY, Anthony HO a Harold NORDBY. Alkaline degradation products of soil humic acid. *Scientific Proceedings of the Royal Dublic Society*. 1960, pp. 59-67. ISSN 0080-4339.
- [55] SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – results from diffusion cells. *Reactivite and Functional Polymers*. 2014, vol. 75, no. 2, pp. 41-50. ISSN 1381-5148.
- [56] AYMARD, Pierre, Dave MARTIN, Kevin PLUCKNETT, Tim FOSTER, Allan CLARK a Ian NORTON. Influence of thermal history on the structural and mechanical properties of agarose gels. *Biopolymers*. 2001, vol. 59, no. 3, pp. 131-144. ISSN 0006-3525.
- [57] FERNÁNDEZ, Emiliano, Daniel LÓPEZ, Carmen MIJANGOS, Miroslava DUŠKOVÁ-SMRČKOVÁ, Michal ILAVSKÝ a Karel DUŠEK. Rheological and thermal properties of agarose aqueous solutions and hydrogels. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*. 2008, vol. 46, no. 3, pp. 322-328. ISSN 0887-6266.
- [58] GOLMOHAMADI, Mahmood a Kevin WILKINSON. Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion. *Carbohydrate Polymers*. 2013, vol. 94, no. 1, pp. 881-886. ISSN 0045-6535.

- [59] POLEXE, Ramona a Thierry DELAIR. Elaboration of stable and antibody functionalized positively charged colloids by polyelectrolyte complexation between chitosan and hyaluronic acid. *Molecules*. 2013, vol. 18, no. 7, pp. 8563-8578. ISSN 1420-3049.
- [60] GARG, H.G. a HALES, C.A. *Chemistry and Biology of Hyaluronan*. London: Elsevier Science & Technology, c2004. ISBN 978-008-044-382-9.
- [61] WALTER, R.H. a TAYLOR S. *Polysaccharide dispersions: chemistry and rechnology in food*. Massachusetts: Academic Press, Inc., c1997. ISBN 978-012-733-865-1.
- [62] MOYER, B.A. *Ion exchange and solvent extraction: a series of advances*. Florida: CRC Press, c2009. ISBN 978-142-005-969-4.
- [63] BANSAL, Jyoti, Suresh KEDIGE a Samir ANAND. Hyaluronic acid: a promising mediator for periodontal regeneration. *Indian Journal of Dental Research*. 2010, vol. 21, no. 4, pp. 575-578. ISSN 0970-9290.
- [64] MAZUR, Kamila, Richard BÜCHNER, Mischa BONN a Johannes HUNGER. Hydration of sodium alginate in aqueous solution. *Macromolecules*. 2014, vol. 47, no. 2, pp. 771-776. ISSN 0024-9297.
- [65] KURITA, Keisuke. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*. 2006, vol. 8, no. 3, pp. 203-226. ISSN 1436-2228.

8 ŽIVOTOPIS

Osobní informace

Jméno a příjmení	Jiří Smilek
Adresa	Zlobice 18, 768 31 Zlobice, Česká republika
Datum a místo narození	18.12.1987, Zlín
e-mail	xcsmilek@fch.vutbr.cz

Vzdělání

2012 – nyní	Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická Typ studia: doktorské Dizertační práce: Nové metody studia reaktivity a transportních vlastností biokoloidů
2010 – 2012	Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická Typ studia: navazující magisterské Diplomová práce: Studium reaktivity biopolymerů v gelové fázi
2007 – 2010	Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická Typ studia: bakalářské Bakalářská práce: Reologie huminového gelu

Přednášky na zahraničních konferencích

17th Conference on Environment and Mineral Processing & Exhibition (Ostrava, Česká republika)
13rd Workshop of Physical Chemists and Electrochemists (Brno, Česká republika)
17th Meeting of International Humic Substances Society (Ioannina, Řecko)
15th European Student Colloid Conference (Krakov, Polsko)

Postery na zahraničních konferencích

20 th International Symposium for Environmental Biogeochemistry (Istanbul, Turecko)
26th International Meeting on Organic Geochemistry (Costa Adeje, Španělsko)
6th International Conference on Nanomaterials (Brno, Česká republika)
14th International Conference on Environmental Science and Technology (Rhodos, Řecko)
7th International Conference on Nanomaterials (Brno, Česká republika)
6th Meeting on Chemistry and Life (Brno, Česká republika)

Seznam řešených projektů

Autor dizertační práce byl v akademickém roce 2015/2016 hlavním řešitelem mezifakultního juniorského projektu ve spolupráci s FEKT VUT s názvem *Vývoj senzorů na bázi nanoporéznych membrán s řízenou iontovou propustností* (FCH/FEKT-J-15-2663).

Zahraniční stáže

09/2011 – 01/2012	Stáž na turecké univerzitě v Istanbulu (Yildiz Technical University) prof. Nergis Arsu
-------------------	---

07/2014 – 08/2014	Stáž na nizozemské univerzitě ve Wageningenu (Wageningen Uni.) prof. Herman P. van Leeuwen
05/2015 – 06/2015	Stáž na rakouské univerzitě v Linci (Johannes Kepler University) prof. Milan Kracalik
11/2015 – 12/2015	Stáž na rakouské univerzitě v Linci (Johannes Kepler University) prof. Milan Kracalik

Školitel bakalářských prací

Šárka Krňávková	Studium sol-gel procesu agarózy pomocí klasické reologie a dynamického rozptylu světla
Barbora Tesařová	Studium reaktivity kationaktivního biopolymeru pomocí jednoduchých difúzních technik
Kateřina Vašíčková	Transport biomedicínsky aktivních látek skrz porézní membrány

Konzultant diplomových prací

Milan Herzog	Vliv huminových kyselin na mobilitu iontových sloučenin
Marcela Laštůvková	Studium transportu huminových látek skrz rostlinné kutikuly

Konzultant bakalářských prací

Jana Lepiková	Nové metody síťování huminových látek
Pavel Kolesa	Vliv polyelektrolytových biopolymerů na transport iontů
Marie Přítulová	Vliv pH a iontové síly na bariérové schopnosti huminových látek
Renata Pavlicová	Příprava hydrogelů s obsahem huminových látek pro kosmetické aplikace
Iva Karásková	Možnosti využití polyelektrolytových komplexů pro kosmetické a medicínské aplikace
Zdeněk Kratochvíl	Studium stability biopolymerů pomocí technik rozptylu světla

Pedagogická činnost

2012 – nyní	Chemická informatika I – řízená výuka praktických cvičení
2012 – nyní	Chemická informatika II – řízení výuka praktických cvičení
2013 – 2014	Praktický úvod do nanotechnologií – řízená výuka praktických cvičení
2013 – 2014	Praktikum z fyzikální chemie I – řízená výuka laboratorních cvičení
2014 – nyní	Chemická informatika I a II – praktická cvičení a přednášky (kombinovaná forma studia)

Ocenění

2012	Cena děkana za nejlepší diplomovou práci
2014	Cestovní grant od mezinárodní společnosti pro huminové látky (IHSS) určený pro účast na 17th Meeting of International Humic Substances Society
2015	Cestovní grant od European Cooperation in Science and Technology (COST) určený pro účast na 15th European Student Colloid Conference
2015	Cestovní grant od European Cooperation in Science and Technology (COST) určený pro účast na Interfacial Science and Fluid Mechanics
2015	Cena děkana FCH VUT za přínos v oblasti výzkumné činnosti

9 SEZNAM PUBLIKACÍ

Články v impaktovaném časopise

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KALINA, M., KLUČÁKOVÁ, M. On the role of humic acids' carboxyl groups in the binding of charged organic compounds. *CHEMOSPHERE*. 2015. 138(11). s. 503 - 510. ISSN 0045-6535. DOI:10.1016/j.chemosphere.2015.06.093 IF = 3,854.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – 2. Non-stationary diffusion experiments. *REACTIVE & FUNCTIONAL POLYMERS*. 2014. 75(1). s. 41 - 50. ISSN 1381-5148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.12.002 IF = 2,535.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – Results from diffusion cells. *REACTIVE & FUNCTIONAL POLYMERS*. 2013. 73(11). s. 1500 - 1509. ISSN 1381-5148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.07.008 IF = 2,535.

Konferenční příspěvky indexované v databázi Web of Science

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. New Approach for Characterization and Study on Reactivity of Biomaterials. *Nanocon 2014 Conference Proceedings*. 1. Ostrava, Tanger Ltd. 2014. s. 808 - 813. ISBN 978-80-87294-53-6.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Role of humic acids in transport of charge organic compounds as revealed by combination of simple laboratory diffusion techniques. *Abstracts of papers of the American Chemical Society*. San Francisco, CA, American Chemical Society. 2015. 248(430-ENVR). s. 154 - 154. ISSN 0065-7727.

Příspěvky na mezinárodních konferencích

SMILEK, J., KYNCLOVÁ, H., SEDLÁČEK, P., PRÁŠEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Specific permeability of nanoporous alumina membranes studied by diffusion cell techniques. *Nanocon 2015 Conference Proceedings*. Ostrava, Tanger Ltd. 2015. s. 102 – 109. ISBN 978-80-87294-59-8.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M., KALINA, M., ENEV, V. Methylation of humic acids - the impact on the reactivity studied by diffusion techniques. *XIV. pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - Sborník příspěvků*. Brno, Masarykova univerzita. 2014. s. 137 - 141. ISBN 978-80-210-6842-1.

SMILEK, J., KOLESÁ, P., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Studium reaktivity kationaktivního biopolymeru interakcí s anionaktivními barvivy. *Studentská vědecká konference 2014*. Ostrava, Česká republika. 2014. s. 1 - 4. ISBN 978-80-7464-359-0.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Utilization of Diffusion Cell Technique for Study on Reactivity of Humic Acids (Impact of Methylation). *Studentská konference Chemie je život Sborník příspěvků*. Brno, FCH VUT. 2013. s. 332 - 337. ISBN 978-80-214-4823-0.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Study on reactivity of humic acids by innovative diffusion techniques. *17th Conference on Environment and Mineral Processing*. Ostrava, VŠB Technical University of Ostrava. 2013. s. 279 - 284. ISBN 978-80-248-3000-1.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Utilization of diffusion techniques for study on reactivity of modified humic acids. *XIII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - Sborník příspěvků*. Brno, Mendelova univerzita v Brně. 2013. s. 167 - 168. ISBN 978-80-7375-757-1.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Study on reactivity of humic acids under varying conditions by diffusion techniques. *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno. 2012. s. 421 - 428. ISBN 978-80-214-4425-6.

KYNCLOVÁ, H., SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., PRÁŠEK, J., KLUČÁKOVÁ, M., HUBÁLEK, J. Fabrication of nanoporous alumina membranes for electrochemical sensors. Brno. 2015. s. 107 - 110.

KOLESA, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Vliv polyelektrolytových biopolymerů na transport iontů. *Chemie je život, Studentská konference*. Brno, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 61200 Brno. 2014. s. 95 - 100. ISBN 978-80-214-5078-3.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Simple diffusion techniques for determination of substances penetrated through plant cuticles. *Chemie je život - Studentská konference*. Brno, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. 2014. s. 315 - 321. ISBN 978-80-214-5078-3.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. On the role of humic acids'carboxyl groups in binding charged organic compounds. *Natural Organic Matter: Structure-Dynamics Innovative Applications*. Ioannina. 2014. s. 146 - 147.

KALINA, M., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Aging of biopolymers and biocolloids studied by light scattering techniques. *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno, VUT v Brně. 2013. s. 300 - 305. ISBN 978-80-214-4823-0.

KOLESA, P., SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Studium reaktivity kationaktivního biopolymeru jednoduchými laboratorními technikami - neustálená difúze v kyvetách. *Studentská konference Chemie je život Sborník příspěvků*. Brno, FCH VUT. 2013. s. 89 - 93. ISBN 978-80-214-4823-0.

PŘÍTULOVÁ, M., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P. Vliv pH na bariérové schopnosti huminových kyselin. *Studentská konference Chemie je život Sborník příspěvků*. Brno, FCH VUT. 2013. s. 161 - 166. ISBN 978-80-214-4823-0.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J. Využití difúzních technik pro studium transportu lignohumátů přes rostlinné kutikuly. *Studentská konference Chemie je život Sborník příspěvků*. Brno, FCH VUT. 2013. s. 109 - 114. ISBN 978-80-214-4823-0.

KALINA, M., KLUČÁKOVÁ, M., MAYET, N., SMILEK, J. Behaviour of Humic Acids in Aqueous Solutions. *XIII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - sborník příspěvků*. Brno, Mendelova univerzita v Brně. 2013. s. 171 - 172. ISBN 978-80-7375-757-1.

SEDLÁČEK, P., KARÁSEK, J., SMILEK, J. Shape-optimalization of controlled-release systems using finite element method. *XIII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - Sborník příspěvků*. Brno, Mendelova univerzita v Brně. 2013. s. 142 - 142. ISBN 978-80-7375-757-1.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J. Návrh a testování metody studia transportu kapalných humátů skrz rostlinné kutikuly. *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno, Vysoké

učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno. 2012. s. 168 - 174. ISBN 978-80-214-4425-6.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Study on mobility of methylene blue in the presence of humic acids. *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Zhejiang, China, Springer-Verlag GmbH. 2012. s. 321 - 323. ISBN 978-94-007-5633-5.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Comparison of barrier properties of modified humic acids. *16th Conference on Environment and Mineral Processing*. Ostrava, Czech Republic, VŠB - Technical University of Ostrava. 2012. s. 109 - 113. ISBN 978-80-248-2688-2.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Diffusion Of Organic Dyes in Aqueous Solutions and Agarose Gels Studied by Method of Horizontal Diffusion Cells. *Chemické listy*. Brno, Czech Chemical Society. 2011. 105(18). s. 889 - 890. ISSN 0009-2770. (IF=0,529).

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Humic Acids In Hydrogel Forms. *15th Conference on Environment and Mineral Processing, Part II*. Ostrava, Publishing services department, VŠB - Technical University of Ostrava. 2011. s. 133 - 138. ISBN 978-80-248-2388-1.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Novel reactivity-mapping technique for characterization of polyelectrolyte biopolymers. *Sborník příspěvků - XI. pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků*. Brno, Mendelova univerzita v Brně. 2011. s. 246 - 248. ISBN 978-80-210-4234-6.

Abstrakty

SMILEK, J., KALINA, M., LAŠTŮVKOVÁ, M., TÜRKEOVÁ, I., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Reactivity-mapping tool based on diffusion techniques for characterization of biocolloids. *Chemistry and Life 2015 – Book of Abstracts*. Brno 2015. s. 60 - 60. ISBN 978-80-214-5228-2.

SMILEK, J., KYNCLOVÁ, H., SEDLÁČEK, P., PRÁŠEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Characterization of nanoporous membranes with controlled permeability. *Chemistry and Life 2015 – Book of Abstracts*. Brno 2015. s. 165 – 166. ISBN 978-80-214-5228-2.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Diffusion Techniques as Reactivity Mapping Tool of Biocolloids. *15th European Student Colloid Conference - Book of abstracts*. Krakow, Poland. 2015. s. 31.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KALINA, M., LAŠTŮVKOVÁ, M., KLUČÁKOVÁ, M. Barrier properties of natural biopolymers studied by innovative diffusion techniques. *Ceitec PhD Retreat*. Brno. 2015. s. 76 - 76. ISBN 978-80-210-7825-3.

SMILEK, J., KOLESA, P., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. The Reactivity of Cationic Biopolymer Studied by Interactions with Organic Dyes. *Frontiers in material and life sciences*. Brno, CEITEC. 2014. s. 216 - 216. ISBN 978-80-210-7159-9.

SMILEK, J., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Reactivity of modified humic acids studied by diffusion techniques in diffusion cell. *ORGANIC GEOCHEMISTRY: TRENDS FOR THE 21st CENT., Vol. 2, Book of abstracts*. Tenerife, Španělsko. 2013. s. 197 - 198.

SMILEK, J., NOVÁČKOVÁ, K., KISLINGER, J., KLUČÁKOVÁ, M., PEKAŘ, M. Characterization of SOM from South Moravian Soils. *Conference proceedings 'Frontiers in Biochemistry' 20th International Symposium on Environmental Biogeochemistry*. Istanbul, Turecko. 2011. s. PSII-34.

ENEV, V., KLUČÁKOVÁ, M., SMILEK, J.; DOSKOČIL, L. Methylation of humic acids – the impact on the reactivity, chemical composition and properties of HAS studied by spectrometric techniques. *15th European Student Colloid Conference – Book of abstract*. Kraków, Poland, EU, European Colloid & Interface Society. 2015. s. 111 - 111.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M., SMILEK, J. Characterization of plant cuticles for a study of foliar fertilizers. *CEITEC Ph.D. Retreat*. Brno, Masarykova univerzita. 2015. s. 62 - 62. ISBN 978-80-210-7825-3.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J. Studium transportu huminových látek skrz rostlinné kutikuly. *Sborník anotací diplomových prací o přírodě, krajině a environmentálně příznivém životním stylu*. Brno. 2014. s. 27. ISBN 978-80-87604-68-7.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Penetration of fertilizers based on humic substances through plant cuticles. *Nanocon 2014 Conference proceedings*. Ostrava. 2014. s. 125 - 125. ISBN 978-80-87294-55-0.

KALINA, M., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Light Scattering Techniques Applied for the Study of Aging of Biopolymers and Biocolloids. *CEITEC Annual Conference - "Frontiers in Materials and Life Sciences"*. Brno, Masaryk University. 2014. s. 143 - 143. ISBN 978-80-210-7159-9.

LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Optimization of transport liquid substances through natural porous material. *Frontiers in Material and Life Sciences*. Brno, CEITEC. 2014. s. 167 - 167. ISBN 978-80-210-7159-9.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Barrier Properties of Natural Polyelectrolytes Studied by Diffusion Experiments in Model Hydrogels. *ECIS 2013 Abstracts - Complex Fluids and Environmental Colloid Science*. Sofia, Bulgaria. 2013. s.8.

SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. Reactivity of biopolymers as observed by simple diffusion experiments. *Elektronický sborník*. Berlín, TU Berlín. 2011. (1 p.).

SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M., SMILEK, J. Diffusion techniques for characterization of dynamic humic systems. *Book of Abstracts and Field Session Guide*. Wroclaw, Poland, Polskie Towarzystwo Substancji Humusowych. 2011. s. 20 - 20.

ABSTRAKT

Účelem předložené dizertační práce bylo studium reaktivity, transportních a bariérových vlastností biokoloidních a syntetických polymerních látek prostřednictvím jednoduchých difúzních technik. Studován byl především vliv základních fyzikálně-chemických parametrů (teplota, koncentrace, pH a modifikace materiálu) na reaktivitu výše uvedené skupiny látek. Jako vhodné modelové materiály, jejichž vlastnosti byly zkoumány, byli vybráni zástupci biokoloidních látek (huminové kyseliny, alginát, chitosan respektive hyaluronan) a jako zástupce syntetického polymeru (polystyren sulfonát). Reaktivita výše uvedených substancí byla zkoumána interakcemi s opačně nabitými organickými barvivy (methylenová modř, rhodamin 6G případně amidočern 10B) v hydrogelových médiích na bázi termoreverzibilního lineárního polysacharidu (agaróza). Pozornost byla věnována rovněž charakterizaci zkoumaných látek, stejně tak jako hydrogelovým maticím, která byla realizována základními fyzikálně-chemickými metodami (infračervená spektrofotometrie, reologie, elementární analýza, termogravimetrie, rastrovací elektronová mikroskopie). Klíčovou oblast celé dizertační práce představuje optimalizace zvolených difúzních technik (metoda difúzní cely a nestacionární difúze v kyvetách) pro studium reaktivity, bariérových a transportních vlastností zvolených látek tak, aby se vyvinuté metody daly využít jako univerzální metoda pro studium reaktivity širokého spektra látek při různých experimentálních podmínkách. Na základě stanovení fundamentálních difúzních parametrů (difúzní koeficient, čas průchodu, koncentrace na rozhraní hydrogel-roztok, tortuozní faktor, zdánlivá rovnovážná konstanta a rozdělovací koeficient) bylo usuzováno o reaktivitě a transportních vlastnostech vybraných biokoloidních respektive syntetických substancí.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogel, biokoloidy, difúze, reaktivita, organická barviva, interakce, transportní a bariérové vlastnosti

ABSTRACT

The main aim of doctoral thesis was the study on reactivity, transport and barrier properties of biocolloidal and synthetic polymeric substances by simple diffusion techniques. It was studied mainly the influence of basic physic-chemical parameters (temperature, concentration, pH and modification of material) on the reactivity and barrier ability of chosen compounds. Further substances were chosen as a model compounds: biocolloids (humic acids, alginate, chitosan, hyaluronate) and synthetic polymer (polystyrenesulfonate). Reactivity, barrier and transport properties of chosen substances were studied by interactions with oppositely charged basic organic dyes (methylene blue, rhodamine 6G, amido black 10B respectively) in hydrogels medium based on linear polysaccharide (agarose). The attention was also paid to basic physic-chemical characterisation (infrared spectroscopy, rheology, elemental analysis, thermogravimetry and scanning electron microscopy) of chosen materials and also hydrogels. Key part of the whole doctoral thesis was the optimization of selected diffusion techniques (diffusion cell technique and non-stationary diffusion in cuvettes) designated for the study on reactivity and barrier properties of wide range compounds (optimized method should be used as an universal method for simple and fast determination of reactivity of different compounds at given or changing conditions). The rate of reactivity, transport and barrier properties was determined based on fundamental diffusion parameters such as diffusion coefficients, break-through time so called lag time, interfacial concentration of chosen organic dye, apparent equilibrium constant, tortuosity factor, partition coefficient.

KEYWORDS

hydrogel; biocolloids; diffusion; reactivity; organic dyes; interaction; transport and barrier properties