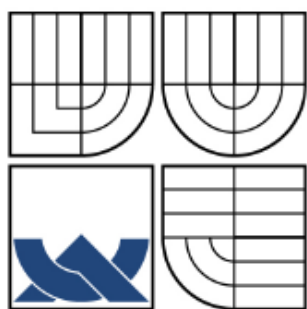
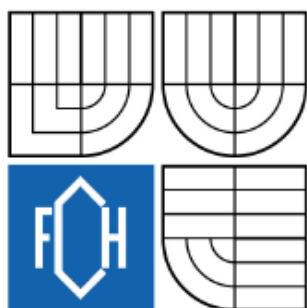




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



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

HYDROGELY HUMINOVÝCH KYSELIN – EXPERIMENTÁLNÍ MODEL I APLIKAČNÍ FORMA

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR PRÁCE

Ing. PETR SEDLÁČEK

BRNO 2009

KLÍČOVÁ SLOVA

humínové kyseliny; hydrogely; difúze; imobilizace, těžké kovy

KEYWORDS

humic acids; hydrogels; diffusion; immobilization; heavy metals

MÍSTO ULOŽENÍ

Ústav fyzikální a spotřební chemie FCH VUT, Purkyňova 118, Brno 612 00

OBSAH

1 ÚVOD.....	5
2 SOUČASNÝ STAV STUDOVANÉ PROBLEMATIKY	5
2.1 Výskyt a dělení huminových látek.....	5
2.2 Využití huminových látek.....	7
2.3 Interakce huminových látek s kovovými ionty	8
2.4 Difúze v systémech s obsahem huminových kyselin.....	10
2.5 Metody imobilizace huminových kyselin.....	11
3 CÍLE PRÁCE	13
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	14
4.1 Příprava huminových kyselin.....	14
4.2 Příprava gelu huminových kyselin.....	14
4.3 Příprava gelů s inkorporovanými měďnatými ionty	14
4.4 Difúzní experimenty	15
4.5 Gelace huminových kyselin reakcí s chitosanem	15
5 DISKUZE NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ	16
5.1 Extrakce měďnatých iontů z huminového gelu	16
5.2 Určení difúzního koeficientu měďnatých iontů v huminovém gelu	18
5.3 Studium volné difúze měďnatých iontů z vodného roztoku do huminového gelu	26
5.4 Studium difúze mobilní frakce měďnatých iontů v gelu	30
5.5 Gelace huminových kyselin reakcí s chitosanem	31
6 ZÁVĚR.....	35
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	37
8 AUTOROVO CV	41
9 SEZNAM PUBLIKACÍ	42
10 ABSTRACT	44

1 ÚVOD

Huminové sloučeniny v současnosti čelí určité „krizi identity“. Zatímco jedna část vědecké veřejnosti přijímá tyto látky především coby důležitou komponentu přírodní organické masy, která hraje klíčovou úlohu v zásadních environmentálních otázkách jako jsou globální oteplování, samočištění půd, nebo vazba CO_2 v půdě, druhá skupina přistupuje k huminovým látkám hlavně jako k cennému přírodnímu zdroji, relativně levnému a snadno dostupnému. Tyto zájmové proudy se rozvíjí nezávisle na sobě; snahy o systematické propojení obou přístupů se stále objevují spíše výjimečně, přestože právě v této kombinaci dříme obrovský potenciál v oblasti průmyslových a zemědělských aplikací huminových látek. Využití poznatků několik desetiletí trvajícího základního výzkumu huminových sloučenin, objasnění vazby mezi charakterem těchto látek na molekulární úrovni s jejich funkcí a užitnými vlastnostmi, to vše by ve svém důsledku mohlo vést k přípravě materiálů „na míru“ dle požadovaných kritérií.

Huminové sloučeniny jsou látky rozmanitého původu a vlastností. Při konfrontaci takového materiálu s odborníky z aplikačních sfér je nutná přesná specifikace a kvantifikace jeho užitných vlastností. Nezbytnou podmínkou pro široké uplatnění huminových látek v praxi je proto sjednocení metod jejich charakterizace. Je třeba vytvořit efektivní systém jednoduchých zkoušek mapujících jejich aplikačně výhodné vlastnosti, především fyzikálně – chemickou (sorpční, pufrací ad.) a biologickou aktivitu. Jedním z cílů disertační práce bylo proto nabídnout jednoduchou alternativu řešení v atypickém spojení hydrogelové formy huminových kyselin a jednoduchých laboratorních difúzních experimentů. Studium transportu nízkomolekulárních látek v huminovém materiálu s vysokým obsahem vody se blízce dotýká obou výše uvedených koncepcí studia huminových látek. Jednak může poskytnout cenné informace týkající se transportu ať už polutantů nebo naopak živin v přírodních prostředích s vysokým obsahem humusu, na druhou stranu je možné těchto znalostí využít při přípravě agrochemických nosičů živin nebo remediačních činidel na bázi huminových látek.

Potenciální využití hydrogelových forem reaktivních biopolymerů v oblasti nosičů s řízeným uvolňováním látek je v posledních letech těžištěm zájmu především ve farmacii a biomedicíně. Podobně také hydrogelové formy huminových sloučenin nabízí nové možnosti jejich uplatnění v agrochemické a environmentální sféře. Dalším tématem práce byla proto optimalizace přípravy směsných polyelektrolytových hydrogelů huminových látek s vhodným síťovacím činidlem a fyzikálně – chemická charakterizace vzniklých materiálů.

2 SOUČASNÝ STAV STUDOVANÉ PROBLEMATIKY

2.1 VÝSKYT A DĚLENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK

Velmi často se v úvodních odstavcích tématických monografií a odborných článků setkáváme s tvrzením, že *humínové látky* (HL) jsou všudypřítomné. Přesto má většina z nás tendenci spojovat jejich výskyt pouze s oblastmi neživé přírody, s

půdní organickou hmotou, se sedimenty nebo s fosilními palivy. Tato mylná představa vychází z historických souvislostí studia huminových sloučenin. Termín *humus* se původně běžně používal pro označení půdy jako celku a až později se jeho význam posunul směrem k půdní organické hmotě, jejím frakcím a produktům její chemické nebo fyzikální transformace. Nicméně, již v první polovině 19. století známý švédský vědec Berzelius prokázal výskyt rozpuštěné formy HL i v přírodních vodách, když se mu podařilo izolovat světle žluté *huminové kyseliny* (HK) z minerální vody. Představa HL jako součásti neživé přírody dostala povážlivé trhliny především v posledních desetiletích, kdy se podařilo prokázat jejich výskyt v lidských i zvířecích játrech, v trávicím traktu a krvi [1]. Poslední výzkum také naznačuje, že tyto látky nemusí vznikat pouze rozkladem organických látek; E. Ghabbour v [2] izolovala HL z hnědé řasy (*Pilayella littoralis*), Radwan a kol. následně potvrdili přítomnost HK v jiných dvou mořských rostlinách [3].

HL jsou tedy přírodní organické sloučeniny vzniklé nejčastěji chemickým a biologickým rozkladem organické hmoty (zbytků rostlin, živočichů apod.) a syntetickou činností mikroorganismů. Přirozeně se vyskytují zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém uhlí, lignitu a v některých dalších materiálech. Přítomnost HL v půdách byla prokázána dokonce i na Antarktidě, kde jsou podmínky pro humifikaci velmi specifické a odlišné ve srovnání s ostatními kontinenty. Obsah HL v přírodních matricích kolísá od stopových množství (písky, jíly), přes jednotky procent (běžné zeminy) až k desítkám procent (hnědé uhlí, lignit). Mimořádně vysoký obsah (80 % a více) vykazuje např. rašelina. Uvádí se, že celkový obsah uhlíku ve formě HL je až 6×10^{12} t, což převyšuje obsah uhlíku v živých organismech (7×10^{11} t uhlíku) [4].

HL jsou podle své acidobazické rozpustnosti děleny do tří frakcí: *fulvinové kyseliny* (FK), které jsou rozpustné v zásadách i kyselinách, *huminové kyseliny*, které se nerozpouštějí ve vodě za silně kyselých podmínek ($\text{pH} < 2$), ale jsou dobře rozpustné v alkalických roztocích, a *huminy* (HU), které se neextrahují zředěnou bází ani kyselinou. Tyto frakce se liší na první pohled barvou (FK jsou žluté, HK hnědé až šedé a HU obvykle černé), přesto však je jejich chemická struktura velmi podobná. Podle dříve běžně přijímané teorie je tmavé zbarvení HL vázáno na přítomnost polymerních složek s vysokou molekulovou hmotností [6]. Tato teorie vysvětluje rozdíly mezi HK a FK rozdílem v molekulové hmotnosti, v počtu funkčních skupin (karboxylových, fenolických) a ve stupni polymerace. S růstem molekulové hmotnosti tedy dochází ke změnám obsahu uhlíku a kyslíku, kyselosti a stupně polymerace. Přestože je dnes polymerní model HL často nahrazován představou těchto látek jako strukturních asociátů nízkomolekulárních prekurzorů, tato teorie poměrně spolehlivě vystihuje základní makroskopické charakteristiky HL.

FK obecně vykazují vyšší obsah kyslíku, ale nižší obsah uhlíku nežli HK. FK také obsahují větší počet funkčních skupin kyselého charakteru, zvláště skupin $-\text{COOH}$. Celková kyselost FK je tedy podstatně vyšší nežli kyselost HK.

Procentuální obsah jednotlivých huminových frakcí v humusu se liší podle typu půdy. Humus pralesních půd obsahuje vyšší podíl fulvinových kyselin, zatímco humus rašelinišť a luk je tvořen převážně HK. Poměr obsahu huminových a fulvinových kyselin v půdě také většinou klesá s hloubkou odběru vzorku [6].

2.2 VYUŽITÍ HUMINOVÝCH LÁTEK

Vliv přirozeného obsahu humusu na úrodnost půd je lidstvu znám po mnoho staletí. Člověk tak už od pradávna využíval cenných vlastností HL, přestože o jejich charakteru a původu neměl bližší představu. Tradiční využití HL v podobě aplikace rozkladných produktů živočišného a rostlinného odpadu při zušlechťování půd jistě není třeba zdůrazňovat. Další masové aplikace surovin s vysokým obsahem huminových sloučenin byly donedávna spjaty především s využitím uhlí v průmyslu energetickém. Nutnost nahradit fosilní paliva ekologičtějšími zdroji energie v kombinaci s bohatými přirozenými zdroji, z nichž jsou HL čerpány levně ve velkých množstvích, vedla k rozsáhlému výzkumu, věnovanému dalším možnostem uplatnění těchto látek. Mezi hlavní oblasti, v nichž je možné využít cenné vlastnosti HK, patří především zemědělství, průmysl, ochrana životního prostředí a farmacie. Velmi dobré review, věnující se aplikacím HK, představují reference [7, 8].

V zemědělství se využívá především pozitivního vlivu huminových sloučenin na strukturu půdy, obsah živin a zadržování vody v půdě. HK napomáhají vytváření pórů v půdě, asistují při přenosu živin z půdy a stimulují vývoj mikroflóry v půdě. Používají se proto jako aditiva hnojiv. Existuje řada preparátů na bázi HK, které se používají za tímto účelem, např. vápenaté soli HK a FK v kombinaci s rašelinou, humát sodný aplikovaný přímo na listy rostlin, amonné soli HK, směsi se syntetickými polymery apod. Lotosh a kol. dokázali příznivý vliv humátu amonného na růst rostlin [9]. Využití lignitu a lignitických HK v oblasti remediace půd se věnují autoři v [10]. Další oblast zemědělské aplikace HK představuje příprava krmiv pro živočišnou výrobu. Byl zjištěn také pozitivní vliv na vzrůst a váhu dobytka [11].

Příkladem průmyslového využití HK je aplikace ve stavebnictví. Tam se HK používají jako hydrofobní plniva cementů, která umožňují řízení jeho vytvrzování, ovlivňují disperzitu cementu a smáčivost vzniklých povrchů. Podobný důvod má také aplikace HK v průmyslu keramickém. Dále se HK používají coby aditiva v brusných kapalinách, ať už na vodné nebo olejové bázi, kde slouží především jako činidlo ovlivňující viskozitu a emulzifikátor. Tmavé zbarvení HL se využívá v přípravě barviv pro kožedělný, textilní i papírenský průmysl. Speciální využití HL představuje například výroba elektricky vodivých papírů. Chelatační a iontové výměnné schopnosti HL mohou být zhodnoceny např. v přípravě náplní chromatografických kolon nebo v těžebním průmyslu, kde bylo zjištěno zvýšení efektivity extrakce uranu z rud za přítomnosti HK [12].

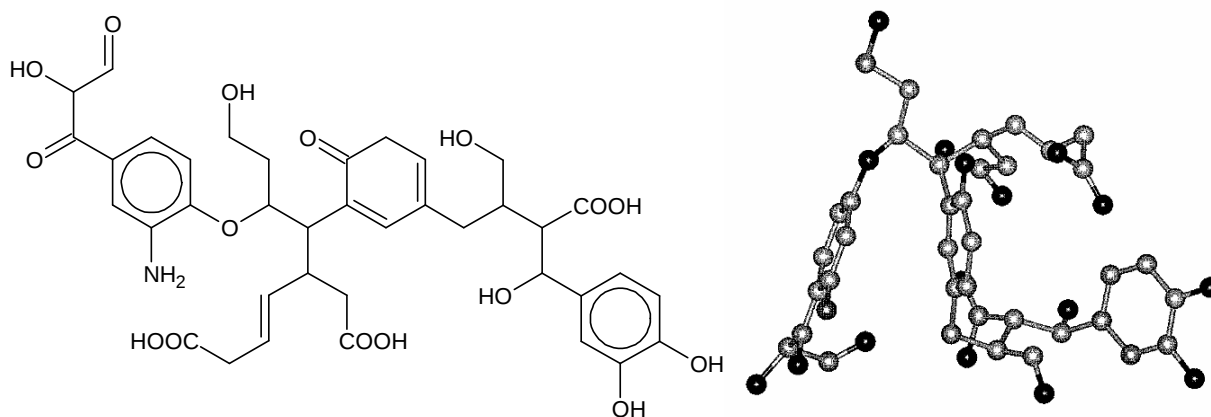
V oblasti ochrany životního prostředí se využívá především schopnost HK vázat kovy a další toxické a jinak nebezpečné látky jako jsou pesticidy, polycyklické

sloučeniny, kyanidy, barviva a detergenty, a to z půdy i z vody. Řada vědeckých prací byla věnována odstraňování fenolů z vody pomocí HK [13, 14]. Iontově výměnné materiály na bázi humátu vápenatého byly testovány jako vhodný sorbent těžkých kovů, radioaktivních složek z elektrárenských vod a chemických bojových látek při likvidaci chemického arzenálu [15].

Farmaceutické a kosmetické využití HK souvisí především s jejich antivirovým, protizánětlivým a chelatačním charakterem. Z historického hlediska má největší tradici příprava kosmetických krémů a terapeutických lázní na bázi HL (podstata účinku bahenních lázní tkví právě ve vysokém obsahu HL) a výroba potravinových doplňků. Hlavní limitaci HK v této oblasti představuje výrazné tmavé zbarvení, které není možné odstranit klasickými bělicími postupy za současného zachování jejich požadované aktivity. Nověji je aplikace HK spjatá také s izolací a identifikací sloučenin pro výrobu léčiv. Byly dokázány aktivity HK podobné heparinu a estrogenu (je zjištěna účinnost HK na léčení rakoviny dělohy laboratorních zvířat). Na druhou stranu, využití HK ve farmaceutice omezuje fakt, že může způsobovat mutagenезi DNA [4]. Velmi dobrý souhrn biomedicínských aplikací stejně jako potenciálních zdravotních rizik HL nabízí reference [8].

2.3 INTERAKCE HUMINOVÝCH LÁTEK S KOVOVÝMI IONTY

Struktura HK (viz Obr. 1) umožňuje vznik komplexů s celou řadou sloučenin. V kontextu ochrany životního prostředí je ze sorpčních schopností HK zřejmě nejdůležitější jejich vysoká afinita k iontům těžkých kovů. Znečištění půd a vodstva těžkými kovy se v poslední době stalo velmi aktuálním problémem v oblasti ochrany životního prostředí. Negativní následky dlouhodobé expozice účinkům těžkých kovů na lidské zdraví jsou detailně popsány; olovo ovlivňuje mimo jiné lidské vnímání, kadmium způsobuje disfunkce ledvin, jater a gastrointestinálního traktu a arzén napadá pokožku a centrální nervový systém. Všechny těžké kovy se při určité dávce stávají toxickými a mají schopnost „bioakumulace“, tedy setrvání (a hromadění) v organismu bez vyloučení běžnými mechanismy (např. trávicím traktem). Mobilita těžkých kovů v půdě je výrazně ovlivněna celou řadou interakcí s půdními složkami (viz výše), které zahrnují např. srážecí reakce, iontovou výměnu nebo adsorpci na půdních částicích [17].



Obr. 1 Strukturní model HK a jejich nejpravděpodobnější konformace podle [16]

Studiu komplexotvorných reakcí HL se věnuje celá řada výzkumných skupin; soustředí se především na afinitu jednotlivých prvků k HL, na mechanismus vzniku komplexu a popis struktury vytvořených komplexů (především na to, na jakou část molekuly HL se kov váže). K matematickému popisu sorpčních procesů je používána celá řada modelů, od jednoduchých rovnovážných sorpčních izoterem, které nabízejí notoricky známé modely Langmuirův a Freundlichův, až po řadu sofistikovaných rovnovážných i kinetických modelů [18 – 20].

Řada autorů diskutuje také vliv pH a iontové síly roztoku sorbátu na sorpční vlastnosti HL. Z experimentálních výsledků, které uvádí práce [21], je patrný výrazný pokles sorpčních schopností HK při zvýšení kyselosti roztoku. Růst sorpčních schopností HK se vzrůstem pH roztoku potvrdily také reference [22, 23]. V práci [24] autoři zmiňují výsledky experimentu, který naznačuje pokles sorbovaného množství Cu^{2+} iontů se zvyšující se iontovou silou roztoku v oblasti nízkých koncentrací přidané NaCl. Kromě toho autoři ověřili vzrůst sorpčních schopností HK s teplotou roztoku. Snížená sorpční schopnost HL při zvyšování kyselosti roztoku dobře koreluje se schopnostmi půdního materiálu jako celku.

Protože mají HL komplexní charakter a frakce o různé molekulové hmotnosti se liší strukturou i fyzikálně – chemickými vlastnostmi, jsou různé také sorpční vlastnosti jednotlivých frakcí. V referenci [25] autoři odlišili pomocí frakční extrakce chromité ionty vázané ve struktuře HL různou silou (5 různých kategorií od síly vazby ve volném roztoku přes mobilní ionty s různým stupněm retence až po imobilizované ionty vázané v nerozpustném komplexu). Z výsledků experimentu mimo jiné vyplynulo, že většina nasorbovaného množství iontů je poutána silnými vazbami v nerozpustném komplexu a pouze malý podíl Cr^{3+} iontů je navázaný iontovou výměnou (hlavně na alifatických karboxylových kyselinách).

Řada autorů se věnuje úplné nebo částečné extrakci kovů z půdní hmoty nebo kovů předem nasorbovaných na HL. V [26] autoři používají roztoky NH_4NO_3 a NH_4OAc jako činidla pro extrakci iontově výměnných forem kovu (nepufrovanou, resp. pufrovanou extrakci), EDTA jako komplexační extrakční činidlo a HCl jako činidlo pro kyselou extrakci. Množství kovu extrahované z půd bylo následně porovnáno s množstvím extrahovaným ze vzorků rostlin na těchto půdách pěstovaných. Takto byla stanovena biodostupnost různých těžkých kovů. Autoři [27] ověřili 100% účinnost extrakce Cu^{2+} iontů v přítomnosti HK pomocí dietyldithiokarbamátu (DDTC), v případě iontů Fe^{3+} bylo pro úplnou extrakci třeba použít pyrrolidinthiokarbamát amonný (APDC). V referenci [28] autoři studovali extrakční účinnosti různých činidel pro kovy předem nasorbované na HK. 100% účinnost extrakce Cu^{2+} iontů byla dokázána pro 0,5 M HCl a 1 M HNO_3 .

Existuje také celá řada extrakčních činidel, která jsou používána pro sekvenční extrakci kovových iontů z půdní hmoty. Nejčastěji se používá postup podle Tessiera [29], který dle síly činidla rozděluje extrahované množství kovu na 5 frakcí: iontově výměnnou frakci (extrakce pomocí MgCl_2), ionty vázané na půdní uhličitany (extrakce NaOAc), na oxidy železa a manganu (extrakce $\text{NH}_2\text{OH-HCl}$ v kyselině

octové), frakci vázanou na půdní organickou hmotu (extrakce H_2O_2 v HNO_3 a následně NH_4OAc) a frakci residuální (extrakce směsí HF a HClO_4). Selektivní sekvenční extrakce podle Zeiena a Bruemera [30] používá tato extrakční činidla: NH_4NO_3 (mobilní těžké kovy), NH_4OAc (lehce přístupné těžké kovy), směs $\text{NH}_2\text{OH-HCl}$ a NH_4OAc (kovy vázané na Mn-oxidy), $\text{NH}_4\text{-EDTA}$ (kovy vázané na organickou hmotu), $\text{NH}_4\text{-oxalát}$ (kovy vázané na amorfní Fe-oxidy), směs kyseliny askorbové a $\text{NH}_4\text{-oxalátu}$ (kovy vázané na krystalické Fe-oxidy) a směs kyselin HNO_3 a HClO_4 (reziduální frakce).

Protože zvýšení pH půdy zvyšuje její sorpční schopnosti vzhledem k těžkým kovům, klesá také extrahovatelné množství kovu. Výsledky uvedené v referenci [31] potvrdily postupné snižování množství Cu a Zn extrahovatelného do 0,1 M HCl jako důsledek přidávání CaO . Výsledky sekvenční extrakce naznačily postupné snižování obsahu iontově výměnné formy za současného zvyšování formy vázané na organickou hmotu, což potvrzuje hlavní vliv půdní organické hmoty na pH-dependentní sorpci kovových iontů.

Jako vhodný modelový těžký kov pro experimentální studium interakcí s HK se jeví především měďnatý ion. Jeho výhodou je silná vazba na HK a snadná detekovatelnost za použití UV-VIS spektroskopie i v přítomnosti spektrálního signálu HL.

2.4 DIFÚZE V SYSTÉMECH S OBSAHEM HUMINOVÝCH KYSELIN

Publikované studie, zaměřené na difúzi v systémech s obsahem HK, jsou poměrně ojedinělé. Wang a kol. [32] při studiu efektu HK na volnou difúzi Eu^{3+} v bentonitu zjistili, že vznik komplexů HK – Eu na povrchu bentonitu vedl ke zpomalení migrace iontů materiálem. Naopak Wold a Eriksen [33], kteří provedli experiment zaměřený na difúzi Eu^{3+} a Co^{2+} iontů skrz vzorek bentonitu, zjistili, že přítomnost koloidní formy HK difúzní koeficient iontů výrazně zvyšuje, HK potlačují sorpci iontů v bentonitu a působí jako „přenašeče“ Eu^{3+} a Co^{2+} . Z toho je patrné, že interakce iontů s koloidní formou HK má velmi komplexní vliv na jejich mobilitu pevným prostředím, rozhodujícími faktory jsou samozřejmě charakter HK a difúzního prostředí, ale také zvolená difúzní metoda. Lead a kol. [34] se věnovali stanovení difúzních koeficientů pěti různých HK ve vodě a v agarósovém gelu. Paralelně použili dvě metody: fluorescenční korelační spektroskopii a klasickou metodu difúzních cel. Souhlas mezi výsledky obou metod byl velmi dobrý. Autoři také sledovali vliv pH na transport HK v gelu. Výsledky jejich měření mimo jiné naznačily, že pro většinu experimentálních podmínek měly všechny studované HK velmi podobný difúzní koeficient (řádově $0,9 - 2,5 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), jehož hodnota mírně klesala se vzrůstající hydrofóbností HK a vykazovala jen nepatrný pokles při použití gelového prostředí ve srovnání s difúzí v roztoku. Autoři také doporučují použití gelových metod pro *in-situ* stanovení interakce HK např. s kovovými polutanty.

Uvedené studie se zaměřují na vliv HK v rozpuštěné koloidní formě; HK zde představuje (ko)difundující složku, nikoliv difúzní prostředí. Naproti tomu, v referenci [35] se autoři věnují difúzi těkavých organických látek (VOC) v discích lisovaných z práškových HK. Kinetika sorpce a desorpce VOC byla sledována prostřednictvím váhové změny disku v průběhu experimentu; difúzní model velmi dobře vyhovuje kinetickému popisu. Jak bylo zjištěno, při sorpci VOC na HK se zapojují dva mechanismy: první stupeň, kdy je sorpční kapacita HK poměrně nízká a druhý, kdy dojde k výraznému vzrůstu kapacity. K popisu tohoto děje se využívá modelů difúze v polymerech. V první fázi musí dojít k překonání aktivační energetické bariéry, aby mohlo dojít k intra- a intermolekulovým změnám vedoucím k vytvoření volného objemu dostupného pro difundující částice. Druhá fáze je poté kontrolována difúzí VOC huminovou maticí. Vypočtené hodnoty difúzních koeficientů VOC v discích HK se pohybovaly v rozsahu od $4,4 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro aceton až do $18,3 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro hexan při 25°C. Ve srovnání s jinými polymery je tato hodnota poměrně nízká. Jak autoři uvádějí, běžná velikost diskretních částic půdní organické hmoty (SOM) je v rozsahu 30 – 1000 nm, výsledkům studie by tedy měla odpovídat celková délka sorpce i desorpce VOC v půdě několik sekund, což však nekoresponduje s reálnou situací. Z toho autoři usuzují, že pomalá sorpce VOC v půdách není důsledkem difúze v pevných částicích HL. V půdě je podle nich rychlost transportu ovlivněna výskytem přirozených konstituentů, jako jsou huminy, rostlinné zbytky apod.

2.5 METODY IMOBILIZACE HUMINOVÝCH KYSELIN

Imobilizace huminových sloučenin na pevných nebo gelových nosičích je vhodným prostředkem pro studium sorpčních schopností HL, jejich katalytické účinnosti, ba dokonce i jejich struktury. V praxi se takto upravené HL mohou použít jako průmyslové nebo zemědělské sorbenty. Funkční skupiny HK, které jsou zodpovědné za jejich imobilizaci na pevné nosiče, jsou především skupiny karboxylové, fenolové a aminoskupiny. Mezi chemické reakce způsobující imobilizaci patří alkylace, acylace a polykondenzace. Imobilizaci HK se podrobně věnují Klavins a Eglite. V [23] srovnávají různé metody imobilizace HK: imobilizace na pryskyřici Merrifield (chlormethylovaný kopolymer styrenu a divinylbenzenu), na epoxypropylosilice, epoxypropylcelulóze, pomocí karbodiimidů a polykondenzací s formaldehydem. Všechny takto upravené HK se vyznačovaly hydrolytickou stabilitou; největší sorpční kapacita byla zjištěna u polykondenzovaných HK. Sorpčním schopnostem takto připravených huminových sorbentů se titíž autoři hlouběji věnují v [36]. Barbot a kol. [37] připravili pro studium sorpce na HK modelový gel vzniklý kovalentní vazbou HK na aktivovaný epoxysilikagel. Pomocí měření FT-IR spekter původních HK a takto vzniklého materiálu zjistili, že během povrchové vazby se struktura HK nemění. Takto kovalentně vázané HK nepodléhají desorpci, proto autoři doporučují jejich aplikaci ve vsádkových nebo kolonových sorpčních experimentech.

Santosa a kol. v [38] syntetizovali nové typy hybridních huminových materiálů čtyřmi různými metodami imobilizace HK na chitin a studovali sorpční schopnosti vzniklého materiálu. V [39] zase autoři provedli roubování HK karbamidem ve formaldehydu. Jako hlavní parametry, ovlivňující polymerizaci, se projevíly teplota, pH a poměr koncentrace HK/karbamid. Produkt polymerace se vyznačoval vynikající termickou stabilitou a absorpčními vlastnostmi a tedy velmi dobrou perspektivou praktického využití.

Ruští autoři v [40] připravili vodorozpustné deriváty HK schopné samovolné adheze k minerálním nosičům. Motivací této práce bylo využití sorpčních schopností HK při přípravě propustných reaktivních bariér pro čištění odpadních vod, což by výrazně zefektivnilo a zároveň zlevnilo přípravu těchto membrán. Modifikace byla založena na reakci karboxylových skupin HK s aminosilanovou sloučeninou; vzniklé materiály vykazovaly kontrolovatelný obsah modifikovaných karboxylových skupin a dobrou schopnost adheze ke křemenným materiálům.

Velmi perspektivní a rychle se rozvíjející oblastí výzkumu HL je směsná polymerace nebo gelace HK za použití biopolymerů. Japonští autoři [41] se věnují přípravě kompozitních biopolymerních adsorbentů za použití HK a alginátu sodného. Vytvořili postup pro přípravu kulových sorbentů i membrán. Protože má HK v roztoku charakter polyaniontu, jeví se jako ideální proces vedoucí ke gelaci těchto látek reakce s polykationtem. Velký potenciál v této oblasti nabízí chitosan, polysacharid vzniklý částečnou deacetylací chitinu ((1→4) N-acetyl glukosaminu).

Chitosan se díky výskytu volných aminoskupin v kyselých vodných roztocích vyskytuje ve formě polykationtu a vyznačuje se velkou a dobře prostudovanou schopností gelace polyaniontových sloučenin, jako jsou xanthan [42], alginát [43], apod. Kromě toho je chitosan biokompatibilní materiál s výhodnými fyzikálně – chemickými a biochemickými vlastnostmi jako jsou hemostatická a bakteriostatická schopnost nebo vysoká sorpční kapacita k aniontovým i kationtovým polutantům [44]. V [43] se autoři věnují použití směsných chitosanových gelů v oblasti agrochemie při přípravě nosičů s kontrolovaným uvolňováním aktivní látky.

Reakci různých materiálů obsahujících chitosan s huminovými sloučeninami se věnují např. práce [45 – 47]. Autoři [45] dospěli k názoru, že chitosan je velmi efektivním flokulantem HK, nejúčinnějším v rozsahu pH 6,5 – 7,5. Hlavní aplikační možnosti autoři nalézají v čištění odpadních vod od HL, potenciálnímu využití cílené přípravy směsných koloidů chitosan/HK se ovšem nevěnují. Autoři [46] se zaměřili na adsorpci HK z vodného roztoku na hydrogelových perlách připravených síťováním chitosanu epichlorhydrinem. K charakterizaci interakce mezi perlami a sorbujícími se HK použili metodu FT–IR spektroskopie. Zjistili tak, že HK se na sorpční perly váží pomocí fyzikálních vazeb. Přesto je síla poutání poměrně vysoká, pouze 61% nasorbovaného množství se desorbuje do roztoku 1 M HCl.

Hlavní úlohu dusíkatých skupin při sorpci huminových sloučenin na chitosan prokázali autoři [47]. Ti studovali kinetiku sorpce fulvinových kyselin

na hydrogelové perly chitosanu. Mimo jiné dospěli k názoru, že sorpce FK je silně závislá na pH (to ovlivňuje náboj povrchu chitosanu a FK) a iontové síle roztoku (určuje konformaci FK v roztoku). Isoelektrický bod povrchu chitosanových perel byl stanoven na hodnotu 9,9. Autoři [48] připravili různou gelací chitosanu několik typů hydrogelových nosičů a sledovali uvolňování lidokainu z nich. Gelace dosáhli prostřednictvím roztoku chitosanu v 10% kyselině octové různým přídavkem acetanhydridu.

Gelace chitosanu se také často provádí přídavkem vícemocných aniontů. Rayment a Butler diskutují použití chitosanových nosičů připravených gelací přídavkem trifosforečnanu sodného (často označován jako tripolyfosfát) [49]. Gelace tripolyfosfátem se využívá především pro přípravu nosičů pro gastrointestinální trakt a pro oftalmologii. Další zajímavou možností gelace chitosanu bez přídavku chemických síťovacích činidel představuje alkalická gelace viskózního roztoku chitosanu pomocí par amoniaku podle [50].

3 CÍLE PRÁCE

Disertační práce je zaměřena na přípravu a studium gelových koloidních forem lignitických huminových kyselin se zvláštním zaměřením na difúzní procesy v nich probíhající. Jako difundující látka je zvolen měďnatý ion jako modelový těžký kov.

Prvním nezbytným krokem experimentální práce je výběr vhodného postupu přípravy huminového gelu bez přítomnosti přidaných síťovacích činidel. V tomto bodě se vycházelo především z literární rešerše a obecné znalosti vlastností HK.

Hlavní náplní difúzních studií je výběr a optimalizace postupů určení difúzního koeficientu měďnatých iontů v huminovém gelu a diskuze relevance výsledných hodnot z hlediska modelování transportu kovových polutantů v přírodních huminových systémech. Dalším cílem je popis volné difúze iontů v huminovém gelu. Hlavní studované parametry jsou počáteční koncentrace měďnatých iontů v roztoku a doba trvání difúze, protože toto jsou hlavní proměnné, které se vyskytují v teoretickém vztahu pro odvození difúzního toku. Experimentálně zjištěné hodnoty difúzních toků jsou použity pro určení rozdělovacího koeficientu měďnatých iontů mezi vodným roztokem a huminovým gelem, který charakterizuje afinitu gelu k těmto iontům. Dále je brán zřetel na vliv dalších vlastností roztoku měďnaté soli na difúzi Cu^{2+} iontů. Protože je publikován vliv pH a iontové síly roztoku kovových iontů na sorpční schopnosti huminových látek, dá se předpokládat, že tyto vlastnosti ovlivňují také difúzi těchto iontů v gelu HK.

Práce je také zaměřena na volbu a otestování vhodných extrakčních činidel pro úplnou nebo částečnou extrakci měďnatých iontů z gelu. Sekvenční extrakce vede k rozdělení měďnatých iontů, inkorporovaných do huminového gelu, podle síly vazby na huminovou matici.

Dalším tématem práce je optimalizace postupu přípravy formy huminového gelu, vhodné pro praktickou průmyslovou nebo zemědělskou aplikaci. Síťovací činidlo i metody testování jsou zvoleny na základě literární rešerše.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 PŘÍPRAVA HUMINOVÝCH KYSELIN

HK byly připraveny alkalickou extrakcí z jihomoravského lignitu (důl Mír, lokalita Mikulčice). Jedná se o mírně upravenou proceduru, publikovanou Piccolem a Contem v [51]; tato metoda extrakce byla použita v celé řadě předcházejících experimentů v rámci studia fyzikálně – chemických vlastností HK [52 – 54].

Lignit byl míchán s extrakčním roztokem (0,5 M NaOH + 0,1 M Na₄P₂O₇) v poměru 20 g na 1 dm³ po dobu 12 hod. Vzniklá suspenze byla ponechána v klidu přes noc a druhý den byl slit roztok nad pevnou fází do samostatné nádoby, kde byl okyselen 20% HCl na pH ~ 1. Pevný podíl byl zalit dalším 1 dm³ extrakčního roztoku, který byl opět po 1 hod. míchání slit a okyselen stejným způsobem. Okyselené roztoky byly ponechány přes noc v lednici. Vysrážené HK byly od roztoku odděleny odstředováním (4000 min⁻¹), několikrát promyty vodou a centrifugovány do vymytí Cl⁻ iontů a vysušeny při 50 °C. Před přípravou gelu byly HK ještě jednou promyty vodou, odstředěny a opět vysušeny.

4.2 PŘÍPRAVA GELU HUMINOVÝCH KYSELIN

Optimalizovaný postup přípravy gelu HK vypadal takto: potřebné množství HK bylo rozpuštěno v 0,5 M NaOH v poměru 8 g HK na 1 dm³ NaOH. Roztok humátu byl okyselen koncentrovanou HCl až na pH ~ 1 a ponechán přes noc v lednici.

Po odstředění (10 min při otáčkách 4000 min⁻¹ a za chlazení na 15 °C) byl supernatant slit a gel byl promyt vodou a znovu odstředěn. Promytí bylo zopakováno ještě dvakrát, po třetím promytí byl gel odstředěn (30 min) a uložen v exsikátoru s vodou.

4.3 PŘÍPRAVA GELŮ S INKORPOROVANÝMI MĚĎNATÝMI IONTY

K přípravě gelu s nadifundovanými měďnatými ionty byl použit huminový hydrogel připravený postupem podle kapitoly 4.2. Difúze probíhala vždy po dobu minimálně 6 dní z roztoku CuCl₂ v poměru 50 ml na 1 g gelu.

Pro přípravu hydrogelu s měďnatými ionty, inkorporovanými již ve stádiu vzniku gelové struktury, byly práškové HK rozpuštěny v 0,5 M NaOH (8 g HK na 1 dm³ 0,5 M NaOH) a vzniklý roztok byl srážen 5 M CuCl₂ v objemovém poměru 5 : 8 a ponechán přes noc v lednici. Roztok byl třikrát odstředěn (4000 min⁻¹, 10 min za chlazení na 15 °C), po každém odstředění byl roztok slit a doplněn destilovanou vodou. Po třetím promytí byl gel odstředěn (30 min) a uložen v exsikátoru s vodou k ustavení rovnovážné vlhkosti.

Oba typy gelů byly použity v sérii extrakčních experimentů. Pro extrakci byl gel naplněn do skleněné válcové trubičky o známém vnitřním objemu. Vhodná

extrakční činidla byla zvolena na základě literární rešerše. Objemy extrakčních činidel byly voleny podle konkrétního činidla a koncentrace Cu^{2+} v gelu v rozsahu od 10 ml (gel po difúzi Cu^{2+} z 0,6 M roztoku, všechna extrakční činidla) po 100 ml (gel po difúzi z 5 M roztoku a srážený gel) na cca 1 g gelu. Koncentrace Cu^{2+} v extraktech byla zjištěna pomocí UV–VIS spektroskopie (Hitachi U3300) na základě předem stanovených kalibračních křivek závislosti absorpce roztoku na koncentraci iontů.

4.4 DIFÚZNÍ EXPERIMENTY

Pro difúzní experimenty byly použity válcové vzorky gelu připravené manuálním plněním gelu do plastových nebo skleněných trubiček o známé hmotnosti, délce (30 mm, resp. 50 mm) a vnitřním průměru (9 mm, resp. 10 mm).

Vzorky gelu o konstantní koncentraci předem nadifundovaných Cu^{2+} , nezbytné pro metody difúzního páru a konečného válcového zdroje, byly připraveny difúzí iontů z roztoku CuCl_2 o koncentraci 1 M do trubičky naplněné gelem HK.

K určení difúzního koeficientu Cu^{2+} v huminovém gelu byly použity modifikované postupy následujících difúzních technik: difúze z konstantního zdroje, z okamžitého plošného zdroje, válcového zdroje, difúze v difúzním páru dvou nekonečných médií a metoda difúzních (Stokesových) cel.

Cylindrický vzorek gelu byl po každém difúzním experimentu podroben stejné následné proceduře: povrch trubičky s gelem byl opatrně omyt destilovanou vodou a vzorek gelu byl plastovým pístem postupně vytlačován z trubičky a ocelovou strunou plátkován na plátky o délce cca 5 mm. Každý plátek byl zvážen a samostatně luhován ve známém objemu (5 – 10 ml) extrakčního činidla (0,025 M NH_4EDTA , resp. 1 M HCl) po dobu 24 hod. na třepačce. Obsah Cu^{2+} iontů v extraktu byl určen z UV–VIS absorpčního spektra, změřeného na dvou-paprskovém spektrofotometru (Hitachi U3300); kalibrační křivka závislosti absorpce na koncentraci mědi byla předem stanovena pro vlnovou délku 810 nm. Hlavní sledované veličiny představoval celkový difúzní tok, tedy množství Cu^{2+} transporované od počátku experimentu přes difúzní rozhraní, a dále koncentrační profil měďnatých iontů podél vzorku gelu.

4.5 GELACE HUMINOVÝCH KYSELIN REAKCÍ S CHITOSANEM

Chitosan (o obchodním označení *medium molecular weight*) dodala firma Sigma-Aldrich. Roztok chitosanu byl připraven postupem použitým pro přípravu směsných gelů chitosanu s xanthanem v [42]; 6,5 g chitosanu bylo rozpuštěno v 300 ml 0,1 M HCl , pH bylo upraveno pomocí 0,2 M roztoku NaOH na hodnotu 5,6 a roztok byl doplněn destilovanou vodou na objem 1000 ml.

Roztok HK byl připraven rozpuštěním pevných HK v 0,5 M NaOH v poměru 8 g na 1000 ml. pH roztoku bylo ještě před doplněním na výsledný objem upraveno pomocí HCl . Oba roztoky byly před použitím promíchány po dobu 4 dnů a poté uskladněny v ledniče.

Hydrogel byl připraven smícháním obou roztoků v objemovém poměru 1 : 1, a to tím způsobem, že roztok HK byl vždy pomalu přiléván do kontinuálně míchaného roztoku chitosanu. Po 10 min. neustálého míchání vzniklé směsi byl hydrogel oddělen od matečného roztoku, v našem případě vždy centrifugací (15 min. při 4000 min^{-1}), ale byla ověřena i možnost odfiltrování hydrogelu na Büchnerově nálevce přes odpovídající textilní filtr. Opakovaným promytím destilovanou vodou a následným odstředěním roztoku byly odstraněny přebytečné polymerní reaktanty. Pevný obsah gelu byl stanoven vážením gelu před a po sušení při 110°C po dobu 24 hod.

Příprava hydrogelových perel byla založena na postupu publikovaném v [45]. Roztok chitosanu byl připraven rozpuštěním 3,3 g práškového chitosanu ve 100 ml 5% kyseliny octové. Takto vzniklý viskózní roztok byl před použitím 4 dny promícháván na magnetické míchačce. Perly byly získány přikapáváním takto připraveného roztoku do roztoku alkálie, a to buď čistého 0,5 M NaOH (chitosanové perly) nebo roztoku HK v NaOH (směsné perly chitosanu a HK).

5 DISKUZE NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ

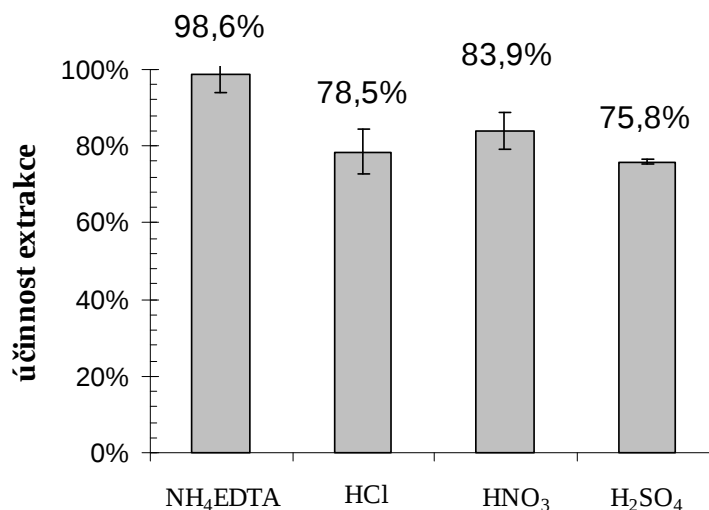
5.1 EXTRAKCE MĚĎNATÝCH IONTŮ Z HUMINOVÉHO GELU

K odlišení různých frakcí Cu^{2+} iontů podle typu interakce s huminovým gelem byla provedena celá řada extrakčních experimentů. První série pokusů se soustředila na výběr vhodného extrakčního činidla pro kompletní výluh předem nadifundovaných Cu^{2+} ze vzorku huminového gelu.

V pilotních experimentech zaměřených na difúzi Cu^{2+} do gelu HK byla prokázána 100% účinnost 1 M HCl při extrakci iontů, které byly do gelu nadifundovány z 0,1 M roztoku CuCl_2 . Pro vyšší koncentrace zdrojového roztoku Cu^{2+} (0,3 M, resp. 0,6 M) však účinnost extrakce klesala přibližně k 75 %.

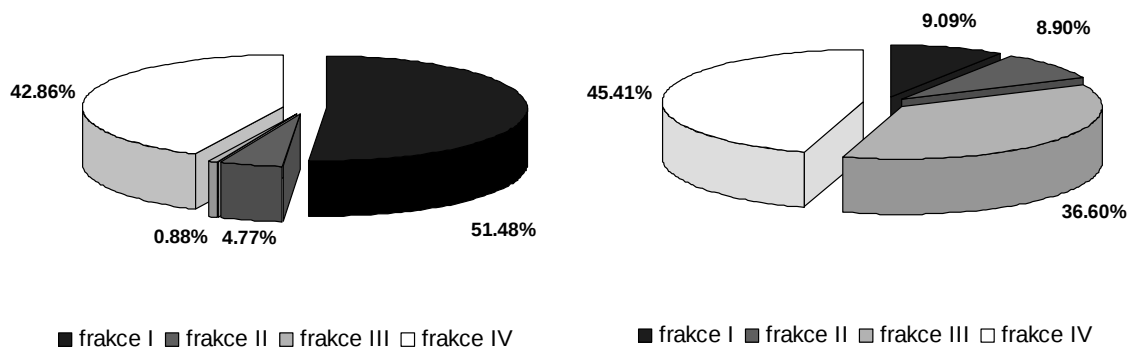
Proto byla sérií nezávislých experimentů ověřena účinnost tří kyselých (HCl, HNO_3 a H_2SO_4 , vše o koncentraci 1 M) a jednoho komplexotvorného činidla (0,025 M NH_4EDTA , viz [30]) pro extrakci Cu^{2+} iontů, difundovaných do 0,5 g huminového gelu z 10 ml 0,6 M CuCl_2 . Jak uvádí graf na Obr. 2, nejlepší extrakční účinnost vykazoval roztok NH_4EDTA , u něhož bylo navíc dosaženo maximální účinnosti extrakce již po 6 hodinách třepání roztoku s gelem na třepačce. NH_4EDTA byl proto doporučen jako vhodné extrakční činidlo všude tam, kde koncentrace Cu^{2+} v gelu přesáhne hodnotu 0,1 M a účinnost HCl je již omezena. Na druhou stranu, při použití HCl nedochází na rozdíl od extrakce pomocí NH_4EDTA k dispergaci pevných HK do kapalného prostředí ani k částečnému rozpouštění HK a výluh není před měřením třeba složitě upravovat (filtrovat nebo odstředovat). Proto 1 M roztok HCl zůstává vhodnějším činidlem při nízkých koncentracích Cu^{2+} v gelu.

Celá řada autorů, především z oblasti půdní chemie, používá sekvenční, resp. frakční extrakci jako nástroj pro rozlišení kovových iontů vázaných na různé složky půdy. Podobný postup byl adaptován také na studium interakce měďnatých iontů



Obr. 2 Účinnost vybraných činidel pro kompletní extrakci předem nadifundovaných Cu^{2+} z huminového gelu

s huminovým gelem. Jako vhodná činidla byla na základě literární rešerše zvolena voda (volná mobilní frakce), 1 M roztok NH_4NO_3 nebo 1 M MgCl_2 (předchozí + iontově výměnná frakce), 1 M NH_4OAc (součet předchozích + „lehce přístupná“ frakce vázaná na organickou hmotu) a 0,025 M NH_4EDTA (součet předchozích + reziduální frakce). Na Obr. 3 uvedeny proporcionální podíly samotných frakcí, tj. volné mobilní frakce (frakce I), iontově výměnné frakce (frakce II), „lehce přístupné“ frakce vázané na organickou hmotu (frakce III) a reziduální frakce (frakce IV). Ty jsou vypočteny jako rozdíl množství vyluhovaných činidly se vzrůstající silou. Separace jednotlivých frakcí v gelu s měďnatými ionty inkorporovanými difúzí do již sesíťovaného gelu není patrná. Výsledky naznačují především přítomnost mobilní a pevně vázané frakce měďnatých iontů. Proporcionální část Cu^{2+} odpovídající imobilizované frakci klesá při zvyšování koncentrace zdrojového roztoku Cu^{2+} , což naznačuje postupné „vyčerpání“ vazebných míst v gelu HK při vzrůstající koncentraci iontů v gelu a výskyt zbývajících mědi v mobilní rozpuštěné formě v disperzním prostředí.



Obr. 3 Proporcionální obsah jednotlivých frakcí Cu^{2+} iontů v gelu HK s mědí inkorporovanou difúzí (vlevo, difúze z 0,6 M roztoku CuCl_2) a srážením (vpravo, srážení 5 M roztokem CuCl_2)

Výsledky frakční extrakce Cu^{2+} z gelu vzniklého srážením HK roztokem CuCl_2 vykazují zcela jinou tendenci. Loužení gelu bylo prováděno v poměru 50 ml extrakčního činidla na 1 g gelu po dobu 18 dní. Na rozdíl od předchozího případu je na Obr. 3 patrná velmi dobrá separace jednotlivých frakcí. Protože v tomto případě nebylo možné stanovit celkovou koncentraci Cu^{2+} v gelu (tak jak to bylo umožněno v předchozím případě sledováním úbytku Cu^{2+} v roztoku CuCl_2), bylo množství vyluhované jednotlivými roztoky vyhodnocováno jako proporcionální část vzhledem k celkovému množství iontů vyluhovanému roztokem NH_4EDTA .

Vysvětlení rozdílné frakcionace Cu^{2+} iontů ve dvou studovaných typech gelů je nasnadě. Zatímco v případě difúze do gelu HK ionty interagují s již sesíťovanou strukturou gelu, při srážení roztoku HK mají tyto částice k dispozici daleko širší plejádu volných funkčních skupin HK. V prostředí hydrogelu bez počáteční přítomnosti Cu^{2+} se funkční skupiny schopné vzájemně tvořit slabé interakce (vodíkové můstky, van der Waalsovy můstky nebo hydrofóbní interakce) podílí na vzniku fyzikálních spojů a proto takto vzniklý gel částečně ztrácí schopnost vázat transportované kovové ionty. Nicméně, jak naznačují výsledky uvedených experimentů, interakce, která mezi gelem HK a Cu^{2+} probíhá, má vysokou pevnost. Při vzniku gelu srážením se naopak ionty Cu^{2+} inkorporují do právě vznikající trojrozměrné struktury a může vznikat daleko více typů interakcí HK – Cu^{2+} o rozdílné síle poutání, od poměrně lehce přístupných frakcí až po silně imobilizované ionty.

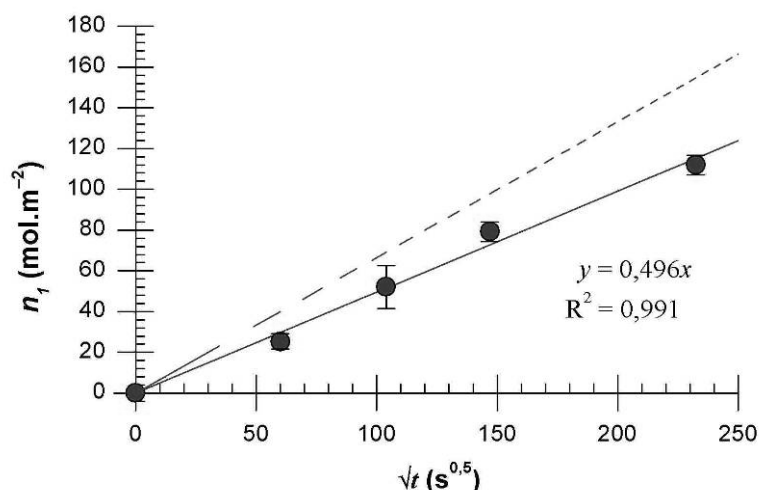
5.2 URČENÍ DIFÚZNÍHO KOEFICIENTU MĚDNATÝCH IONTŮ V HUMINOVÉM GELU

K určení difúzivity Cu^{2+} bylo otestováno několik jednoduchých laboratorních technik. Matematický aparát, který je aplikován při interpretaci experimentálních výsledků, vychází z řešení základní parciální diferenciální rovnice

$$\frac{\partial c_1}{\partial t} = D_{\text{eff}} \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2}, \quad (1)$$

která představuje obdobu Druhého Fickova zákona pro případ, že všechny efekty, které ovlivňují transport difundující látky (porézní charakter média, interakce difundující látky s prostředím) je možné shrnout do tzv. *efektivního difúzního koeficientu* D_{eff} . Konkrétní analytická řešení této rovnice vychází z odpovídajících počátečních a okrajových podmínek.

Metoda *konstantního zdroje* předpokládá konstantní koncentraci difundujícího iontu na rozhraní; v praktickém případě byla tato podmínka zajištěna ponořením vzorku gelu, naplněného ve skleněné válcové trubičce, do nasyceného roztoku CuCl_2 , do něž byla před vlastním experimentem přidána lžička nerozpuštěné soli. Rozpuštění krystalické soli pak v průběhu experimentu vyrovnává množství soli oddifundované z roztoku a udržuje jeho koncentraci na konstantní hodnotě.



Obr. 4 Závislost celkového difúzního toku Cu^{2+} do gelu HK na odmocnině z času; přerušovaná čára představuje vypočtenou závislost pro difúzi do vody

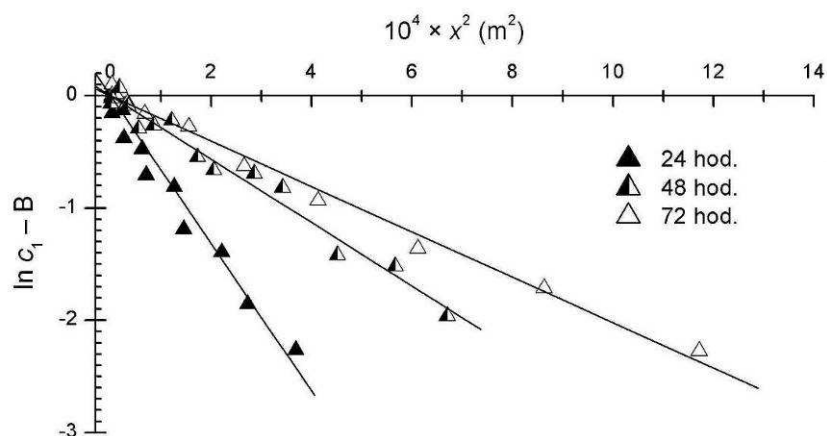
Řešením rovnice (1) získáváme vztah pro celkové množství látky n_1 , prošlé rozhraním o jednotkové ploše za čas t , ve tvaru

$$n_1 = 2c_{10}\sqrt{\frac{D_{\text{eff}}t}{\pi}}, \quad (2)$$

kde c_{10} je konstantní koncentrace Cu^{2+} v gelu na rozhraní. Lineární regrese závislosti celkového difúzního toku na odmocnině času tak umožňuje výpočet efektivního difúzního koeficientu. Obr. 4 naznačuje také řešení vypočtené pro publikovanou hodnotu difúzního koeficientu měďnatých iontů ve vodném roztoku. Právě „zpomalení“ transportu ve studované fázi, charakterizované změnou sklonu uvedené časové závislosti, ilustruje souhrnný efekt všech obstrukcí, které omezují tok látky v prostředí (stérické, chemické a fyzikální interakce).

V případě *difúze z okamžitého plošného zdroje* byl, narozdíl od ostatních metod, při interpretaci výsledků difúzních experimentů difúzní koeficient primárně odvozován z tvaru koncentračního profilu, nikoliv z časové závislosti celkového difúzního toku. Okamžitý plošný zdroj Cu^{2+} iontů byl realizován tenkým proužkem filtračního papíru, namočeným na 1 min. do roztoku CuCl_2 o koncentraci 1 M. Proužek byl po vyjmutí z roztoku mírně osušen proudem teplého vzduchu a následně uveden do těsného kontaktu s jednou kruhovou stranou trubičky se vzorkem gelu.

Řešením rovnice (1) získáváme vztah pro koncentrační profil difundujícího iontu v gelu v podobě



Obr. 5 Linearizované koncentrační profily Cu^{2+} v gelu HK po difúzi z okamžitého plošného zdroje (pro větší přehlednost byly regresní přímky posunuty do počátku souřadnic zavedením koeficientu B)

$$c_1 = \frac{n_{\text{tot}}}{2A\sqrt{\pi D_{\text{eff}} t}} \exp\left(-\frac{x^2}{4D_{\text{eff}} t}\right), \quad (3)$$

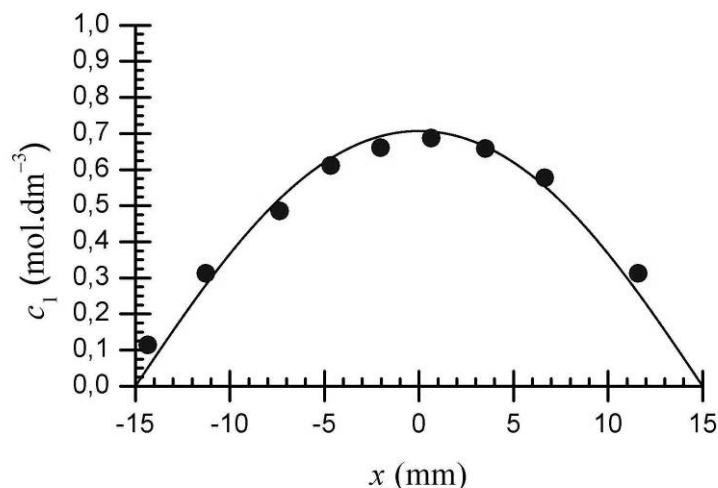
kde n_{tot} je látkové množství látky 1 nanesené v čase $t = 0$ na rozhraní ($x = 0$), A je plocha rozhraní. Lineární regrese experimentálních koncentračních profilů, vynesných ve tvaru $\ln c_1 = f(x^2)$ (viz Obr. 5), umožňuje výpočet efektivní difúzivity, a to jak ze směrnic, tak z úseků regresních přímek. Stanovené hodnoty difúzivity jsou uvedeny v Tab. 1.

Při následujícím experimentu (*metoda válcového zdroje*) bylo studováno „vymývání“ měďnatých iontů ze vzorku gelu do vody. Inkorporace iontů do „zdrojové“ části difúzního páru bylo dosaženo předcházející difúzí z roztoku CuCl_2 a konstantní počáteční koncentrace podél vzorku gelu byla experimentálně ověřena. Tento gel byl následně ponořen do destilované vody a ve zvolených časech byl stanoven koncentrační profil iontů v gelu.

K interpretaci naměřených dat byl použit matematický model, běžně používaný při experimentálním studiu uvolňování aktivních látek z nosičových systémů. Tento model je podrobně popsán např. v [55] nebo [56] a vychází z předpokladu jednosměrné Fickovské difúze do systému, jehož koncentrace je udržována na konstantní (nulové) hodnotě.

$$\frac{n_1(t)}{n_1(\infty)} = \sqrt{\frac{4D_{\text{eff}} t}{\pi}}. \quad (4)$$

Člen $n_1(\infty)$ roven podílu celkového látkového množství, vyskytujícího se na počátku experimentu ve vzorku gelu, a plochy fázového rozhraní. Difúzní koeficient je opět



Obr. 6 Srovnání experimentálně stanoveného koncentračního profilu pro difúzi Cu^{2+} z gelu do vody (body) s profily vypočtenými (čára)

možné stanovit ze směrnice závislosti celkového difúzního toku Cu^{2+} iontů $n_1(t)$ na odmocnině z času.

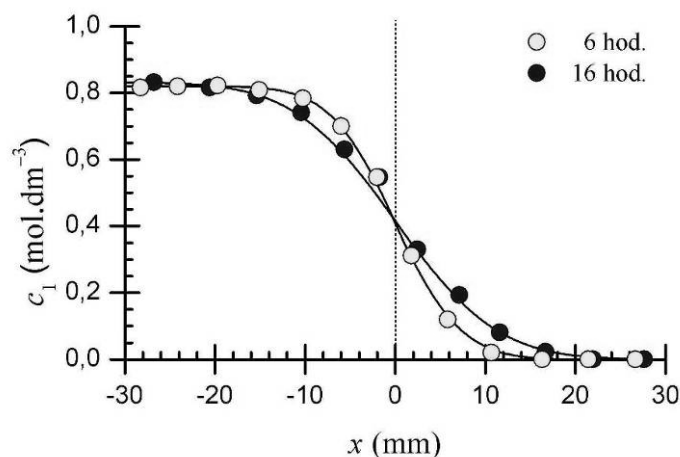
Hodnota vypočtené difúzivity je opět uvedena v tabulce Tab. 1; její použití umožňuje výpočet teoretického koncentračního profilu pro daný čas difúze podle zjednodušeného řešení pro nízké časy

$$c_1 = c_{10} - c_{10} \left(\operatorname{erfc} \frac{l-x}{\sqrt{4D_{\text{eff}}t}} + \operatorname{erfc} \frac{l+x}{\sqrt{4D_{\text{eff}}t}} \right), \quad (5)$$

kde c_{10} reprezentuje počáteční koncentraci iontů ve vzorku gelu. Na Obr. 6 je patrná velmi dobrá shoda experimentálně stanoveného koncentračního profilu s profilem vypočteným podle rovnice (5).

V další metodě byl zrealizován *difúzní pár* spojením cylindrického vzorku gelu bez přítomnosti Cu^{2+} iontů s gelem, do nějž byly ionty inkorporovány předcházející difúzí z roztoku CuCl_2 (stejný gel jako v předchozím případě difúze do vody). Ve zvoleném čase byl difúzní pár rozpojen a byl stanoven celkový difúzní tok rozhraním a koncentrační profil difundujících iontů v obou částech páru. Závislost celkového difúzního toku do přijímací části gelu je opět popsána vztahem (2), kde c_{10} v tomto případě představuje konstantní koncentraci Cu^{2+} na rozhraní mezi zdrojovou a přijímací částí difúzního páru. Ze směrnice experimentálně určené závislosti celkového toku (určen jako celkový obsah iontů v přijímací části, resp. jako úbytek iontů ze zdrojové části páru) na odmocnině z času byla opět stanovena hodnota efektivního difúzního koeficientu. Dosazením této hodnoty do vztahu

$$c_1 = c_{10} \operatorname{erfc} \frac{x}{\sqrt{4Dt}} \quad (6)$$



Obr. 7 Příklady experimentálně stanovených (body) a vypočtených (křivky) koncentračních profilů pro dvě doby difúze v difúzním páru

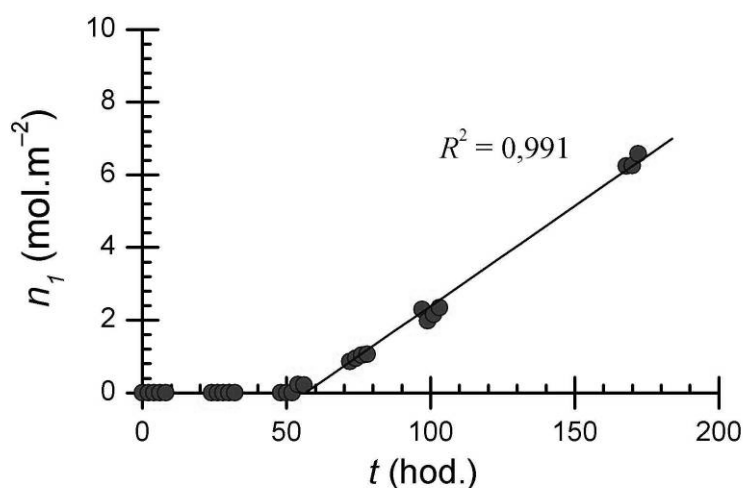
je možné vypočítat teoretické koncentrační profily difundujících iontů pro jednotlivé experimentální doby difúze. Příklad dobré shody mezi takto vypočtený a experimentálně stanoveným profilem uvádí Obr. 7.

Z grafu je patrné, že při přechodu přes rozhraní ze zdrojové ($x < 0$) do přijímací ($x > 0$) oblasti difúzního páru se koncentrace difundujících iontů mění spojitě. Tato vlastnost koncentračních profilů vychází z totožné povahy obou částí difúzního páru. První krok přípravy gelů je společný, na síťování gelové struktury se tudíž podílí stejné funkční skupiny; měďnaté ionty následně při přípravě gelu s konstantní koncentrací Cu^{2+} vstupují do již vytvořené struktury a interagují se stejným typem volných funkčních skupin, které jsou k dispozici i v gelu, tvořícím přijímací část difúzního páru.

Metoda *difúzních cel* přináší celou řadu výhod. Aparatura je velice jednoduchá, komerčně dostupná, a protože difúze probíhá skrz studovaný materiál mezi dvěma roztoky, umožňuje sledování jinak obtížně dostupných doplňkových parametrů, jako jsou pH nebo vodivost.

Metoda byla realizována dvěma způsoby, nejprve difúze probíhala skrz válcový vzorek gelu o délce 30 mm a průměru 10 mm z roztoku o vysoké koncentraci Cu^{2+} iontů (1 M). V tomto případě je rozdíl koncentrací v obou celách tak vysoký, že je možné jej v prvním přiblížení pokládat v průběhu experimentu za konstantní. Tomu napomáhají také velké objemy obou roztoků (200 ml). Za předpokladu konstantního koncentračního gradientu je konstantní také difúzní tok systémem. Efektivní difúzní koeficient je v tomto případě určen ze vztahu

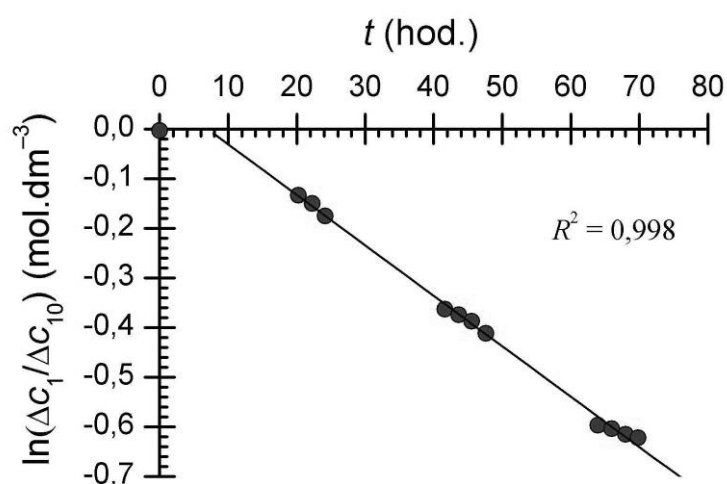
$$D_{\text{eff}} = \frac{1}{\varepsilon} \left(\frac{dn_1}{dt} \right) \cdot \left(\frac{l}{\Delta C_{10}} \right), \quad (7)$$



Obr. 8 Časová závislost celkového difúzního toku do přijímací cely.

kde dn_1/dt reprezentuje směrnici lineární části časové závislosti celkového difúzního toku do přijímací cely, l je délka gelu a ΔC_{10} konstantní hodnota koncentračního rozdílu difundující látky mezi celami. Hodnota rovnovážného koeficientu ($\varepsilon = 1,17$), reprezentujícího poměr mezi koncentrací difundujícího iontu v gelu a v roztoku na fázovém rozhraní (koncentrační skok na rozhraní), byla vypočtena extrapolací experimentálně stanoveného koncentračního profilu v gelu po ukončení experimentu. Vypočtená hodnota difúzního koeficientu je opět uvedena v Tab. 1.

Experiment byl následně s úpravami zopakován v komerčně dodávané aparatuře. V tomto případě byla koncentrace ve zdrojovém roztoku natolik nízká, aby bylo možné sledovat její změny v čase. Při výpočtu difúzního koeficientu nebylo



Obr. 9 Lineární závislost použitá při výpočtu difúzního koeficientu pro transport v difúzních celách s proměnlivým koncentračním rozdílem

tentokrát možné předpokládat konstantní hodnotu koncentračního rozdílu mezi celami; proto je třeba použít vztah

$$D_{eff} = \frac{1}{\beta t} \ln \left[\frac{(c'_1 - c_1)_0}{(c'_1 - c_1)_t} \right], \quad (8)$$

kde c'_1 a c_1 představují koncentrace difundující látky ve zdrojové, resp. přijímací cele, β (v cm^{-2}) je konstanta aparatury

$$\beta = \frac{A\varepsilon}{l} \ln \left(\frac{2}{V} \right), \quad (9)$$

kde A je plocha, přes kterou látka difunduje, ε je opět rozdělovací koeficient na rozhraní, l je efektivní tloušťka membrány a V je objem cely. Jelikož byla šířka vzorku gelu pouze 1 cm a nebylo možné experimentálně stanovit koncentrační profil, za hodnotu koeficientu ε byla dosazena hodnota stanovená v předchozím experimentu. Obr. 9 uvádí lineární závislost logaritmu okamžitých rozdílů koncentrací v čase. Směrnice této závislosti byla použita při výpočtu difúzivity iontů v gelu; hodnota koeficientu (viz Tab. 1) je vyšší než v předchozím případě a lépe koresponduje s ostatními stanovenými hodnotami.

Všechny vypočtené hodnoty difúzního koeficientu uvádí Tab. 1. Hodnoty se řádově shodují s hodnotami difúzivity Cu^{2+} iontů v dalších reaktivních hydrogelech [57 – 61]; ve srovnání s publikovanou hodnotou pro difúzi Cu^{2+} ve vodě jsou však zřetelně nižší. Právě pokles hodnoty difúzivity v gelu ve srovnání s difúzí v roztoku představuje nejzajímavější parametr ilustrující komplexní vliv gelové fáze na transport studované látky. Jak už bylo několikrát uvedeno, tento vliv vzniká kombinací efektu porézní struktury gelu (a s ní spojených stérických obstrukcí) a dále všech chemických i fyzikálních interakcí difundovaného iontu s pevným podílem gelu.

Nicméně, mezi jednotlivými hodnotami jsou patrné významné odlišnosti. Nejvyšší zápornou odchylku od průměrné hodnoty vykazují difúzní koeficienty stanovené pomocí metody okamžitého plošného zdroje, zatímco nejvyšší hodnota difúzivity byla získána metodou konstantního zdroje. Tyto výsledky dobře kopírují koncentrační meze použitých metod. V případě okamžitého plošného zdroje bylo transportováno podstatně menší celkové množství iontů a také jejich lokální koncentrace v gelu byla nižší. Naopak, nejvyšší zdrojová koncentrace Cu^{2+} byla použita v případě difúze z nasyceného roztoku. Závislost difúzního koeficientu na koncentraci je všeobecně známým a často publikovaným jevem [62]. Výrazně nízká hodnota difúzivity, stanovená v prvním experimentu provedeném v difúzních celách, je pravděpodobně spjatá s nevhodně aplikovaným modelem konstantního koncentračního rozdílu mezi celami. To naznačuje mimo jiné také výsledek aplikace tohoto modelu na druhý experiment, což vedlo k výpočtu podobně nízké hodnoty difúzivity ($4,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

Tab. 1 Difúzní koeficienty měďnatých iontů v huminovém gelu vypočtené s použitím různých laboratorních metod. Průměrné hodnoty jsou uvedeny s intervalem 95% spolehlivosti.

Difúze z konstantního zdroje	$(7,9 \pm 0,6) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze z okamžitého plošného zdroje – výpočet ze směrnic lineární regrese	$(4,8 \pm 0,4) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze z okamžitého plošného zdroje – výpočet z úseků lineární regrese	$(5,0 \pm 1,4) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze v difúzním páru	$(7,1 \pm 0,2) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze z gelu do vody	$(6,5 \pm 0,2) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze v difúzních celách – konstantní koncentrační rozdíl	$(3,9 \pm 0,6) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze v difúzních celách – proměnlivý koncentrační rozdíl	$(6,3 \pm 0,5) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Průměrná hodnota	$(5,9 \pm 1,3) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Difúze ve vodném roztoku *	$14,3 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

* převzato z [59]

Obecně platí, že rychlost difúze je určena výslednicí hnací síly a veškerých jevů, které transportu brání. Jak naznačuje hodnota rozdělovacího koeficientu ε , která byla v případě difúze v difúzních celách větší jak 1, ionty Cu^{2+} mají při transportu z roztoku do gelu HK tendenci na rozhraní zvyšovat svojí koncentraci na straně gelu. Gel tedy jeví ve srovnání s vodným roztokem vyšší afinitu k transportovaným iontům a tím je zvýšena také hnací síla difúze. Tento vliv odpadá v případě experimentů, probíhajících v jednofázovém systému (difúze v difúzním páru, metoda okamžitého plošného zdroje). Zvýšení sil bránících transportu iontů v gelové fázi je logické. Jednak je způsobeno interakcemi s pevným podílem gelu, které mohou vést až k imobilizaci iontů na HK, jednak také již mnohokrát zmiňovanými stericými obstrukcemi v pórovité gelové struktuře.

Podívejme se nyní (velmi zjednodušeně) na pokles difúzivity Cu^{2+} v gelu HK ve srovnání s vodnými roztoky. Při interpretaci vlivu pórovité struktury média předpokládáme platnost vztahu

$$D_{\text{eff}} = \phi \frac{D}{\tau}, \quad (10)$$

kde D je difúzní koeficient v homogenním prostředí, ϕ je volný objem prostředí a τ určuje křivolakost prostředí [62]. Ta vyjadřuje vliv prodloužení dráhy molekuly

v porézním prostředí. Předpokládáme-li dále, že interakci mezi difundující látkou a difúzním prostředím je možné zjednodušeně modelovat prostou imobilizací, která probíhá velmi rychle v porovnání s rychlostí difúze, můžeme uvažovat vznik lokální rovnováhy mezi volnými a imobilizovanými frakcemi difundující látky

$$c_2 = Kc_1, \quad (11)$$

platí obecně pro vyjádření vlivu těchto interakcí prostřednictvím efektivní difúzivity následující vztah:

$$D_{\text{eff}} = \frac{D}{K+1}, \quad (12)$$

kde D reprezentuje difúzivit v prostředí, ve kterém tyto interakce neprobíhají.

Spojením uvedených vztahů dostáváme výsledný vztah pro efektivní hodnotu difúzního koeficientu

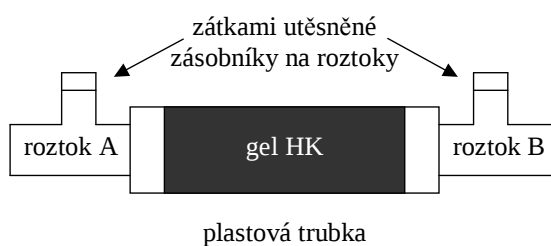
$$D_{\text{eff}} = \frac{\phi D}{\tau(K+1)}, \quad (13)$$

přičemž tortuozitu τ můžeme v našem případě malého poloměru difundujících iontů a gelu s vysokým obsahem vody považovat za blízkou jedné. Po dosazení publikované hodnoty difúzního koeficientu Cu^{2+} ve vodě za D a průměrné hodnoty stanovených efektivních difúzivit za D_{eff} , dostáváme hodnotu $K = 1,05$. Ta naznačuje, že v každém místě gelu je po rychlém ustavení rovnováhy cca 48 % z přítomných iontů v imobilizované formě. To poměrně dobře souhlasí s výsledky frakční extrakce (viz Obr. 3), při difúzi z 0,6 M roztoku CuCl_2 bylo v gelu stanoveno cca 45 % iontů v pevně vázané frakci.

Obecně se dá říci, že každá ze studovaných metod se osvědčila jako cenný experimentální nástroj pro studium interakce měďnatých iontů s gelem HK, konkrétně pro určení efektivní hodnoty difúzního koeficientu iontu v tomto prostředí. Každá technika nabízí individuální výhody (např. malé, resp. velké množství transportované látky, rychlý, resp. dlouhodobý experiment) a při aplikaci musí být specifika konkrétní metody vzata v úvahu především při výběru matematického aparátu použitého při interpretaci experimentálních dat.

5.3 STUDIUM VOLNÉ DIFÚZE MĚĎNATÝCH IONTŮ Z VODNÉHO ROZTOKU DO HUMINOVÉHO GELU

Co se týká modelování bariérových schopností přírodních huminových maticí s použitím hydrogelů HK, zvláštní pozornost je třeba věnovat sledování difúze ve dvoufázovém systému gel – vodný roztok. Aparatura, v níž byly provedeny vlastní difúzní experimenty, je uvedena na Obr. 10. Gel měl podobu válce o délce 5 cm a průměru



Obr. 10 Aparatura použitá při studiu volné difúze

1 cm. a do zásobníků se dávkovaly 2 cm³ roztoku CuCl₂ (roztok A), resp. vody (roztok B). Celá aparatura byla utěsněna a upevněna ve vodorovné poloze.

Při interpretaci experimentálních výsledků se na takovýto systém běžně aplikuje model volné difúze v nekonečném kompozitním médiu. Celkový difúzní tok do média je poté dán vztahem

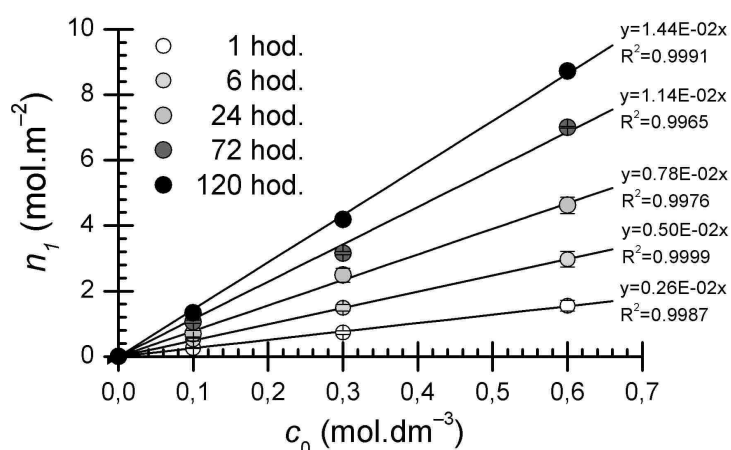
$$n_1 = \frac{\varepsilon c_{10}}{1 + \varepsilon \sqrt{D_{\text{eff}} / D}} \sqrt{\frac{4 D_{\text{eff}} t_0}{\pi}}, \quad (14)$$

kde c_{10} představuje počáteční koncentraci Cu²⁺ iontů v roztoku a D jejich difúzivitou ve vodném roztoku.

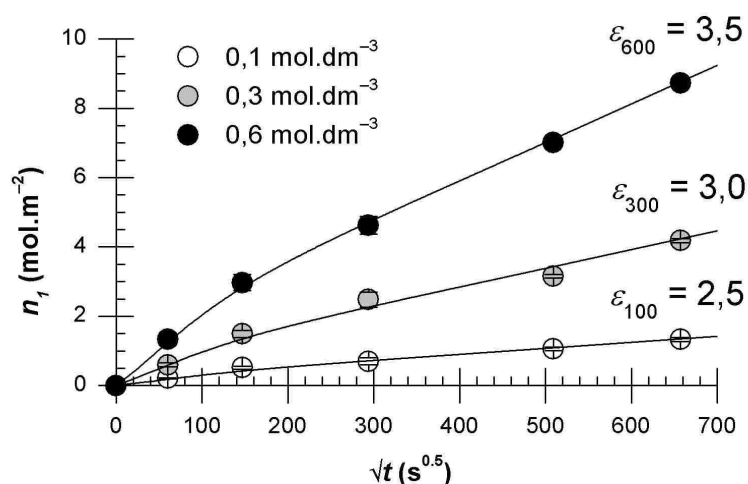
Jak je patrné z rovnice (14), hlavními experimentálně nastavitelnými proměnnými, určujícími hodnotu celkového difúzního toku, jsou v tomto případě koncentrace roztoku a samozřejmě doba difúze. Proto byl studován především vliv těchto dvou parametrů.

Protože z použitých metod stanovení hodnoty difúzního koeficientu měďnatých iontů v gelu nejlépe studovanému systému odpovídá metoda konstantního zdroje, kde byl také studován neustálený transport iontů z jejich vodného roztoku, ve všech následujících výpočtech byla použita hodnota difúzivity určená právě touto metodou. Z Obr. 11 plyne, že lineární závislost celkového toku na původní koncentraci roztoku skutečně platí, a to pro všechny studované doby trvání experimentu.

Časová závislost celkového difúzního toku vykazuje podstatně komplikovanější tendenci. Jak je patrné z Obr. 12, v čase blížícím se hodnotě 6 hod. dochází k výraznému zakřivení závislosti celkového toku na odmocnině z času.



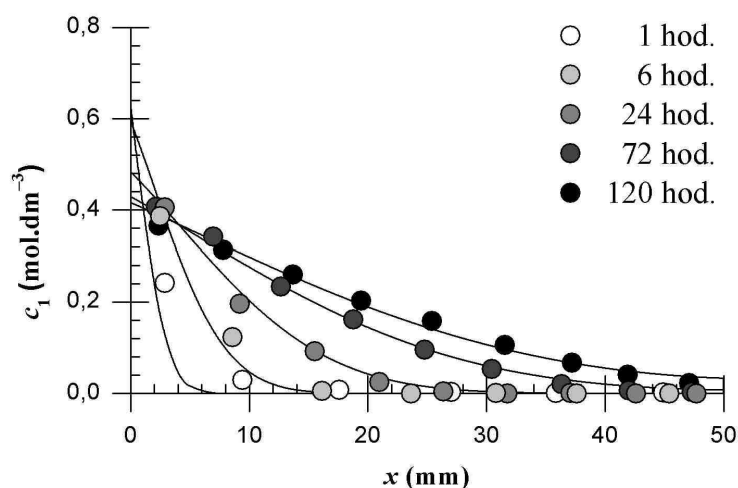
Obr. 11 Lineární závislost celkového difúzního toku na počáteční koncentraci roztoku CuCl₂ ve vybraném koncentračním rozsahu pro různé doby difúze



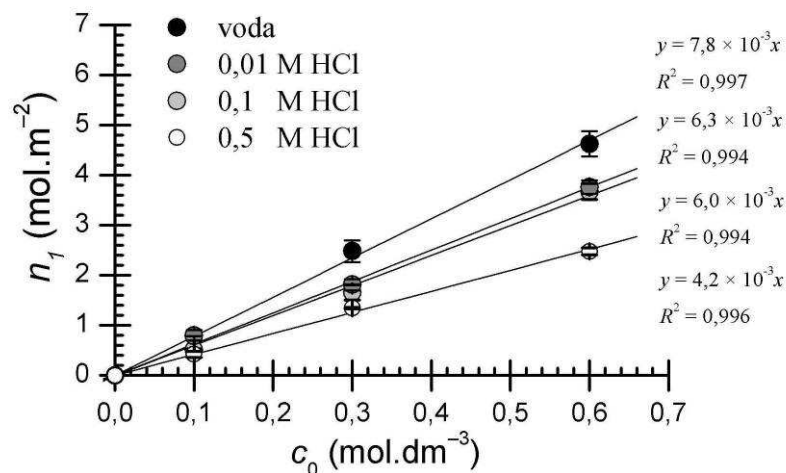
Obr. 12 Srovnání experimentálně stanovené závislosti celkového difúzního toku na odmocnině z času (body) s výsledky počítačové simulace pro uvedené hodnoty koeficientu ε (čára)

Vysvětlení tohoto jevu není na první pohled zřejmé; kombinací experimentálních testů a počítačové simulace difúzního procesu pomocí softwaru COMSOL Multiphysics[®], bylo nicméně zjištěno, že uvedená tendence je zřejmě spojena s geometrií systému, který nesplňuje aplikovaný předpoklad nekonečných médií.

Zmíněná simulace byla provedena pro všechny tři experimentálně studované počáteční koncentrace zdrojového roztoku (0,1 M, 0,3 M a 0,6 M). Jak vyplývá z Obr. 12, hodnoty ε se pro různé počáteční koncentrace mírně liší (v rozsahu 2,5 – 3,5), modelové výsledky však velmi dobře kopírují abnormální tvar časové závislosti difúzního toku. Získané hodnoty koeficientu ε poskytují daleko



Obr. 13 Srovnání experimentálně stanovených koncentračních profilů pro difúzi z roztoku o původní koncentraci 0,6 M (body) s výsledky počítačové simulace pro hodnotu $\varepsilon = 3,0$



Obr. 14 Závislost celkového difúzního toku Cu^{2+} iontů do gelu HK na původní koncentraci měďnatých iontů v roztoku pro různé koncentrace kyseliny v roztoku

lepší představu o rovnováze na rozhraní než původně aplikovaný analytický model volné difúze v nekonečných médiích. Je patrné, že koncentrace na rozhraní je vždy ze strany gelu přibližně třikrát vyšší než ze strany roztoku, což opět reprezentuje vysokou afinitu gelu HK k transportovaným iontům. Kromě toho výsledky naznačují, že přestože tomu naměřená data na první pohled neodpovídají, Fickovský charakter difúze zůstal zachován a veškeré interakce, které v systému probíhají, jsou zahrnuty pouze v efektivní hodnotě difúzivity. Počítačová simulace difúzního děje v konkrétním systému tak v tomto případě umožnila jinak nedosažitelnou interpretaci experimentálních dat. Obr. 13 také uvádí srovnání experimentálně stanovených koncentračních profilů v systému s profily, získanými simulací pomocí COMSOL Multiphysics®. Výsledky počítačové simulace se velmi dobře shodovaly s experimentálními daty v celém rozsahu koncentrací i časů.

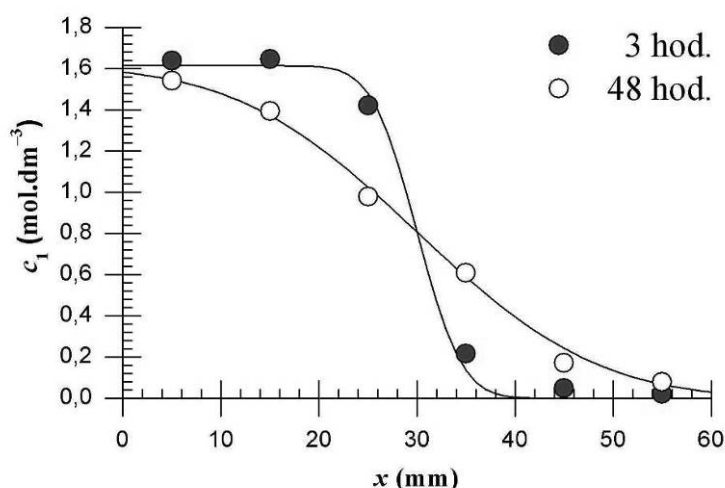
Protože jsou HK látky kyselé povahy, jsou jejich sorpční schopnosti výrazně ovlivněny parametry systému, jako jsou pH nebo iontová síla [21]. Tento efekt je v gelové fázi ještě zesílen ovlivněním vnitřní struktury gelu, především jeho botnání. Proto byla věnována pozornost také vlivu dalších fyzikálních parametrů zdrojového roztoku na studované transportní procesy v huminovém gelu. Experimentální výsledky naznačily výrazné rozdíly mezi celkovým difúzním tokem z roztoku různých měďnatých solí. Všechny soli obsahující jednomocné anionty (CuCl_2 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$) vykazovaly prakticky stejný celkový difúzní tok Cu^{2+} do gelu HK, pokles toku byl zjištěn pouze pro sůl s dvojmocným síranem a čtyřmocným difosforečnanem. Tento efekt je možné spojovat se změnou vnitřní struktury gelu způsobenou přítomností vícemocného iontu; přestože nebylo možné v průběhu experimentu tento jev sledovat, dá se očekávat, že v případě polyelektrolytového gelu způsobuje přítomnost nízkomolekulárního iontu s vyšším nábojem odbotnání gelu. Tento efekt by samozřejmě ovlivnil i transportní vlastnosti takového materiálu.

Také zvýšení iontové síly by podle předpokladů mělo výrazně ovlivnit transport Cu^{2+} ; např. odbotnutí gelu v důsledku přidání elektrolytu by mohlo vést k menší permeabilitě gelu. Přidaná sůl také zvyšuje koncentraci protiiontů měďnaté soli (Cl^-) v roztoku, což by mohlo ovlivnit hydrolyzu soli. Jak uvádí [63], chlorid měďnatý se ve svých vodných roztocích vyskytuje v celé řadě iontových forem (Cu^{2+} , CuCl^+ , CuCl_2 , CuCl_3^- , CuCl_4^{2-}), jejichž zastoupení výrazně ovlivňuje charakter interakce s funkčními skupinami HK a je samozřejmě určeno koncentrací Cl^- v roztoku. Nicméně, v rámci provedených experimentů, v nichž byla iontová síla ve zdrojovém roztoku nastavena přidavkem NaCl, se žádné výrazné odlišnosti difúzního chování systému v závislosti na přidavku NaCl neprojevily.

Nejpodrobněji byl studován vliv pH roztoku na difúzi iontů do gelu HK. Počáteční hodnota pH byla upravena rozpouštěním CuCl_2 v různě koncentrované HCl namísto ve vodě. Jak je patrné z Obr. 14, linearita závislosti na původní koncentraci difundujících iontů je sice pro jednotlivé roztoky zachována, ale směrnice této závislosti se s rostoucí kyselostí roztoku výrazně snižuje. Klasické sorpční experimenty mnohokrát potvrdily snížení vazebných schopností pevných nebo rozpuštěných HK při vzrůstající kyselosti prostředí [21 – 23]. Tento jev je poměrně snadno vysvětlitelný potlačením disociace kyselých funkčních skupin a tím také omezením chemisorpce, která je řízená elektrostatickými silami. Nicméně, pokud v difúzních experimentech uvažujeme tyto interakce jako „brzdící“ sílu, která zpomaluje transport difundujících iontů prostředím, jak je jednoduše vyjádřeno např. v definici efektivní difúzivity podle rovnice (12) (se vzrůstající rovnovážnou konstantou K klesá difúzivita látky), představují výsledky uvedené na Obr. 14 neočekávaný paradox. A právě zde se projevuje velká výhoda použití difúzních experimentů při modelování chování reálných huminových systémů imobilizovaných v nabotnaném systému. Oproti klasickým sorpčním experimentům se zde výrazně projevuje důležitost nejen samotné interakce studované látky s HK, ale také transportu této látky k aktivním vazebným centrům. Kromě simulace reaktivity HK tedy v těchto experimentech modelujeme také jejich vliv na strukturní změny reálných komplexních systémů, v nichž jsou huminové složky obsaženy. Přestože tedy může být v důsledku snížení pH interakce prostředí s transportovanou látkou výrazně potlačena, souhrnný vliv všech dalších efektů způsobených sníženou disociací HK může vést např. k silnému odbotnutí systému a tím také k omezení jeho permeability pro sledovanou látku.

5.4 STUDIUM DIFÚZE MOBILNÍ FRAKCE MĚĎNATÝCH IONTŮ V GELU

Při experimentech zaměřených na frakční extrakci Cu^{2+} iontů z huminových gelů bylo zjištěno, že v gelu, do nějž byly ionty inkorporovány již při jeho přípravě srážením roztoku HK roztokem Cu^{2+} , jsme schopni poměrně dobře frakcionovat ionty podle síly jejich poutání. Proto byl proveden pilotní experiment zaměřený na možnosti adaptace těchto frakcionačních postupů v jednoduché difúzní technice.



Obr. 15 Srovnání experimentálně stanovených (body) a vypočtených (čáry) koncentračních profilů mobilní frakce Cu^{2+} iontů

Byla použita technika difúzního páru. Protože bylo třeba jednotlivé části gelu podrobit opakované extrakci (některé ještě před vlastním difúzním experimentem), nebyla k nalezení koncentračního profilu využita technika plátkování gelu strunou. Jako zdrojová část byla namísto toho použita trojice za sebou zapojených trubiček, naplněných gelem připraveným srážením HK roztokem CuCl_2 a jako část přijímací trojice trubiček, z nichž byla ze stejného gelu před vlastním experimentem extrahována mobilní frakce pomocí 1 M roztoku MgCl_2 . Po spojení těchto částí probíhal po přesně definovanou dobu difúzní experiment, po jehož ukončení byly trubičky rozpojeny a další extrakcí pomocí MgCl_2 stanoven obsah mobilní frakce Cu^{2+} v každé trubičce zvlášť. Takto se získalo šest bodů, z nichž byl zkonstruován koncentrační profil mobilní fáze Cu^{2+} iontů v gelu.

Jak naznačila lineární závislost celkového difúzního toku rozhraním mezi zdrojovou a přijímací částí difúzního páru na odmocnině z času, transport opět vykazoval závislost typickou pro Fickovskou difúzi. Řídícím dějem byla tedy difúze mobilní frakce iontů způsobená jejich koncentračním gradientem. Pohyb je řízený efektivní hodnotou difúzního koeficientu, který v sobě opět zahrnuje vliv reakce, tentokrát nikoliv imobilizace, ale naopak uvolňování původně pevně vázaných iontů. Jeho hodnota byla vypočtena ze vztahu (6) a činila $6,1 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Na obrázku Obr. 15 je zobrazena dobrá shoda mezi experimentálně stanovenými koncentračními profily mobilní frakce Cu^{2+} v gelu a profily vypočtenými s použitím stanovené hodnoty efektivní difúzivity.

5.5 GELACE HUMINOVÝCH KYSELIN REAKCÍ S CHITOSANEM

Při optimalizaci metody přípravy směsných polyelektrolytových hydrogelů HK s chitosanem byla nejprve věnována pozornost výběru vhodného pH roztoku HK; jako nejlepší z hlediska obsahu vody v získaném hydrogelu se z testovaných

zdrojových roztoků HK jeví roztok o pH $\sim 8,4$. Kromě vysoké výtěžnosti gelace a vysokého obsahu vody v gelu je další výraznou výhodou takto získaného materiálu jeho neutrální vnitřní pH. Vybrané optimum pH roztoku HK bylo použito při všech následujících experimentech.

Na tvar makromolekulárního klubka v roztoku polyelektrolytu mají klíčový vliv elektrostatické interakce řetězce s protiionty vyskytujícími se v roztoku v okolí makroiontu. Tyto protiionty mohou vznikat disociací funkčních skupin polyelektrolytu, nebo mohou být do roztoku přidány. Možnost takového ovlivnění vlastností vznikajícího hydrogelu byla studována přidavkem indiferentního elektrolytu NaCl. Gelační směs byla připravena smícháním roztoku chitosanu s roztokem HK o pH $\sim 8,4$, v němž byl předem rozpuštěn různý přídavek NaCl.

Vysoký přídavek NaCl (~ 3 hm. %) vedl k výrazné změně konzistence gelu, charakterizované značným snížením obsahu vody v gelu (z 97 hm. % na 89 hm. %) a změnou reometrických charakteristik (zvýšení viskózního i elastického modulu přibližně o řád). Vliv přidané soli je možné interpretovat na základě konformačních změn polyelektrolytu způsobených změnou iontové síly. V alkalickém roztoku ponesou molekuly HK záporný náboj o vysoké hustotě a v důsledku elektrostatických repulzí mezi náboji stejného znaménka budou mít tendenci zaujímat co nejvíce nataženou konformaci. Přidáním nízkomolekulárního elektrolytu však dochází k odstínění náboje disociovaných skupin HK kationtem soli (Na^+) a konformace řetězce se mění směrem k neuspořádanému klubku. Tím se mění také dostupnost reaktivních míst pro vazbu HK s chitosanem a tedy také např. počet vazeb ve vzniklém hydrogelu na jednu molekulu vázané HK.

Infračervená vibrační spektroskopie byla využita při interpretaci strukturních změn, které doprovázejí proces gelace. Vymizení absorpčního píku při 1720 cm^{-1} , který reprezentuje absorpci karboxylových skupin, se současným zesílením absorpce karboxylátového aniontu okolo 1620 cm^{-1} ilustruje podíl karboxylových skupin HK na gelaci. Intenzita píků odpovídající amidovým skupinám chitosanu ($1660, 1550, 1430, 1150\text{ cm}^{-1}$) se také, dle očekávání, gelací snižuje. Spektra jednotlivých směsných hydrogelů se mezi sebou liší jen nepatrně, což naznačuje zachování stejného mechanismu síťování pro všechny metody přípravy gelu.

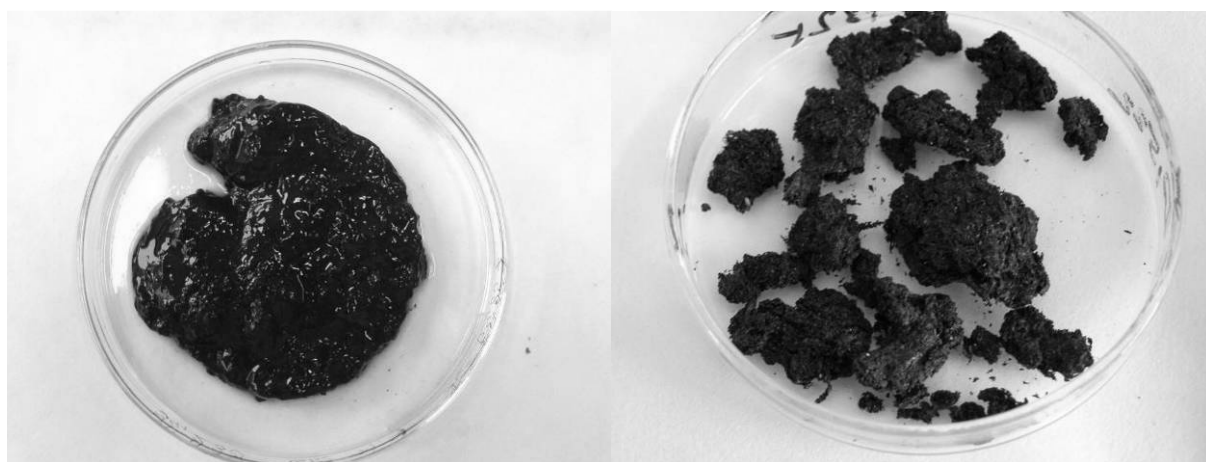
Vzhledem k tomu, že jednou z aplikačně nejdůležitějších vlastností obou použitých materiálů je jejich velmi dobrá sorpční schopnost, byly provedeny také jednoduché sorpční experimenty s použitím Cu^{2+} iontů jako modelového těžkého kovu. Ty naznačily, že závislost množství Cu^{2+} inkorporovaného do gelu na rovnovážné koncentraci zdrojového roztoku je dobře charakterizována Freundlichovou izotermou. Vysoký přídavek NaCl ke gelační směsi vedl k mírnému snížení kapacity vzniklého hydrogelu pro inkorporaci Cu^{2+} .

Vzorky gelu s měďnatými ionty inkorporovanými v průběhu sorpčního experimentu byly následně podrobeny luhování v destilované vodě až do znovuustavení rovnováhy. Z porovnání úbytku koncentrace měďnatých iontů

v roztoku během sorpčního experimentu s odpovídajícím množstvím iontů uvolněným do vody byla stanovena „zádrž“ Cu^{2+} ve vzorku gelu. Ta byla výrazně závislá na množství mědi v gelu před desorpcí. Pro nízký obsah Cu^{2+} přídavek NaCl ke gelační směsi zádrž iontů v gelu zvyšuje, při vysokém obsahu se rozdíly mezi jednotlivými gely minimalizují a procentuální zádrž iontů v gelu klesá.

Sítování chitosanu pomocí polyfosfátu je dobře známý a široce publikovaný způsob přípravy chitosanových gelů a filmů (velmi dobré review různých způsobů sítování chitosanu uvádí [64]) a trifosforečnan sodný (TPP) je nejčastěji používanou látkou pro tyto účely. Proto byl studován vliv přídavku TPP ke gelační směsi (konkrétně k roztoku HK před smícháním roztoků). Pro přípravy směsných hydrogelů HK s chitosanem byly zvoleny koncentrace 0,02 hm.%, 0,1 hm.% a 0,5 hm.%. Nízký přídavek TPP nijak výrazně neovlivnil obsah vody v gelu, efekt nejvyššího přídavku zase způsobil změnu konzistence velmi obdobnou extrémnímu přídavku NaCl. V tomto případě byl efekt TPP zřejmě spjatý s nespecifickým zvýšením iontové síly roztoku a tím s výše diskutovanými konformačními změnami reagujících polymerních látek. Naproti tomu, koncentrace 0,1 hm. % vedla k výrazné změně konzistence, která nenachází žádnou analogii s přídavkem NaCl. Došlo až k dvojnásobnému nárůstu obsahu vody v gelu ve srovnání s referenčním gelem připraveným bez přídavku TPP. Toto chování je zřejmě důsledkem specifického sítování řetězce chitosanu polyfosfátovým aniontem při uvedené optimální koncentraci TPP. Reometricky je tato změna konzistence gelu charakterizována snížením hodnot viskózního i elastického modulu.

Začlenění HK do trojrozměrné sítě je spojeno s celou řadou aplikačních výhod. Nicméně, také hydrogelová forma s sebou přináší některé problémy a limitace. Uskladnění, přeprava a přímá aplikace hydrogelů je poměrně neefektivní, protože převážná většina hmotnosti je tvořena z aplikačního hlediska bezcennou vodou. Dlouhodobé uskladnění hydrogelů je také limitováno jejich nízkou trvanlivostí a vysokou náchylností k plesnivění. Synereze gelu může také poměrně významně měnit vlastnosti připraveného materiálu. Postupné sušení takového hydrogelu



Obr. 16 Směsný hydrogel připravený reakcí HK s chitosanem (vlevo) a jeho xerogelová forma (vpravo)

chitosanu s HK, stejně jako u podobných látek s vysokým obsahem hydrofóbních skupin, je spojeno s pomalým smršťováním struktury, které umožňuje vznik hydrofóbních interakcí mezi řetězci gelu a značně tím omezuje schopnost vznikajícího materiálu znovu botnat.

Laboratorní řešení tohoto problému představuje lyofilizace gelu, založená na vymražení vody a jejím následném odsublímování. To bylo provedeno na komerčně dodávaném lyofilizátoru Labconco FreeZone 4.5 Liter Benchtop. Připravené xerogelové formy vykazovaly dobré botnací charakteristiky; rovnováha při botnání gelu ve vodě je ustavena velmi rychle (do 30 min). Obsah vody v rovnovážném hydrogelu je nižší než v případě původních gelů (70 – 80 %). Xerogel, vzniklý lyofilizací hydrogelu, při jehož přípravě byl použit vysoký přírůdek NaCl do gelační směsi, vykazuje vyšší rovnovážný stupeň nabotnění. Xerogely také vykazovaly vysoký stupeň nabotnění v kyselém i zásaditém roztoku, což je jev typický pro amfoterní polyelektrolytové sítě. Naopak, různá koncentrace soli v botnácím roztoku se na stupni nabotnění neprojevovala.

Hlavním handicapem připravených xerogelů byla jejich křehkost; větší kusy se snadno rozpadaly na menší části, které se při botnání už nebyly schopny znovu spojit v kompaktní gel o původním objemu. Při řešení tohoto problému je opět možné nalézt celou řadu podnětů v literatuře. Srinivasa a kol. [65] studovali vliv plastifikátorů a mastných kyselin na mechanické vlastnosti a propustnost chitosanových membrán. Mezi nejběžněji používané plastifikátory patří glycerol, jehož hlavní výhody představují jeho biokompatibilita a poměrně nízká cena. Vliv přírůdku glycerolu na vlastnosti alginátových membrán je studován v referenci [66]. Proto byly připraveny hydrogely, při jejichž přípravě bylo ke 100 ml reakční směsi přidáno 5 ml, resp. 20 ml glycerolu.

Vliv přírůdku glycerolu na obsah vody v čerstvém hydrogelu je zanedbatelný. Také reologické vlastnosti jsou ovlivněny jen mírně, naopak pozitivní efekt na mechanické vlastnosti xerogelu je velmi dobře patrný. Kompaktnost xerogelu připraveného s vyšším přírůdkem glycerolu je patrná již na první pohled. Xerogel je pružnější a lépe odolává mechanickému namáhání. Daň za zvýšenou pevnost představuje omezení botnací schopnosti xerogelu; rovnovážný obsah vody v gelu po nabotnění diskutovaného xerogelu činil 62 %.

Hydrogelové perly připravené gelací chitosanu jsou předmětem zájmu celé řady autorů, kteří studují především jejich sorpční schopnosti pro potenciální průmyslové využití. Wan Ngh se v [68, 69] věnuje studiu sorpce měďnatých iontů na chitosanových perlách. Kromě toho nás také seznamuje s jednoduchým způsobem přípravy směsných polyelektrolytových perel chitosanu a alginátu. Také směsné hydrogelové perly, připravené gelací chitosanu roztokem HK, nebo sorpcí HK na předem připravené chitosanové perly, představují velmi slibnou materiálovou formu především pro zemědělské a průmyslové aplikace HK.



Obr. 17 Směsné hydrogelové perly chitosanu s HK připravené kapáním roztoku chitosanu do alkalického roztoku HK (vlevo) a jejich xerogelová forma (vpravo)

Perly byly připraveny přikapáváním viskózního roztoku chitosanu v kyselině octové do roztoku o vysoké hodnotě pH. Variací tohoto alkalického roztoku byly připraveny buď čistě chitosanové perly (přikapávání chitosanu do roztoku NaOH) nebo perly směsné (použití roztoku HK v NaOH, Obr. 17); další možností inkorporace HK do hydrogelu je sorpce HK z roztoku (byl použit roztok HK o pH ~ 8,4) na perly čistého chitosanu po dobu 24 hod. Obsah vody v perlách byl nezávisle na způsobu přípravy opět vysoký (~ 96 hm. %). Zajímavé zjištění přinesl příčný řez perlami. Perly, které byly připraveny přikapáváním roztoku chitosanu do alkalického roztoku HK, byly tvořeny bezbarvým málo sesítovaným jádrem, kolem kterého se nacházela úzká, černě zbarvená „krusta“, v níž se nacházely veškeré zreagované HK. Naopak původně čistě chitosanové perly, do nichž byly HK inkorporovány sorpcí, byly v celém průřezu homogenní, ať už se týká barvy nebo tvrdosti, což indikuje konstantní obsah HK a hustotu síťování v celém objemu perly. Narozdíl od směsných hydrogelových forem diskutovaných výše nemá v případě perel přidavek NaCl do gelační směsi žádný patrný účinek na jejich konzistenci ani na sorpční schopnosti. Naproti tomu, přidavek TPP k roztoku HK před gelací vede k přípravě perel, které mají daleko pevnější jádro a naopak síla poutání huminové složky v okrajové vrstvě perly je nižší a dochází k jejímu rychlejšímu luhování do vody. Kombinací perel, připravených různě modifikovanou metodou gelace, je možné získat materiál o vysoké sorpční kapacitě a s uvolňováním HK řízeným podle potřeby dané aplikace.

Také v případě hydrogelových perel je možné lyofilizací získat xerogelovou formu, která má velmi dobrou botnací schopnost. Rovnovážný obsah vody po nabotnění xerogelu byl asi 85 %.

6 ZÁVĚR

Příroda nabízí celou řadu fascinujících materiálů a je úkolem člověka využít poznatků o vlastnostech, chování a možnostech těchto surovin a nalézt jejich co nejefektivnější aplikaci. Celá škála bohatě využitelných vlastností huminových

materiálů je známá už velmi dlouhou dobu. Nezbytnou podmínkou pro jejich velkoplošné použití je jednak objasnění mechanismu jejich účinku v přirozeném prostředí, kromě toho je však také nutné dát této cenné surovině vhodnou aplikační formu.

Předkládaná disertační práce se zaměřuje na oba směry výzkumu huminových látek. Náplní její stěžejní části je návrh a optimalizace jednoduché metodiky pro experimentální studium transportních procesů probíhajících v modelovém médiu obsahující huminovou složku – v huminovém hydrogelu síťovaném fyzikálními silami. Práce prezentuje inovativní přístup k hodnocení kvality huminových látek pomocí objektivních parametrů popisujících difúzní transport sledovaných látek, jako jsou difúzní koeficient nebo koncentrační poměr látky na fázovém rozhraní. Uvedené experimenty jsou obecně použitelné pro pevné vzorky o definovaném tvaru a rozměrech, je tedy možné je aplikovat i v případě imobilizace huminových látek jiným způsobem než jejich gelací. V textu jsou blíže diskutována specifika jednotlivých použitých metod.

Aby bylo možné blíže diskutovat způsob, jakým se na výsledcích difúzních experimentů projevuje interakce mezi difundující látkou a huminovou složkou gelu, byly provedeny také nezávislé experimenty, studující vazbu sledovaného difundujícího iontu s huminovým gelem. Za tímto účelem byla realizována série extrakčních experimentů, které ilustrovaly sílu, jakou jsou jednotlivé frakce sledovaného iontu v hydrogelu poutány. Studovaný hydrogel se z tohoto pohledu projevil jako zajímavý dynamický systém, v němž dochází k nepřetržité relaxaci vazeb mezi reagujícími ionty a vazebnými místy huminové matrice.

Nicméně, práce představuje startovní bod pro další nezbytný výzkum, jehož cílem by měla být především podrobnější specifikace interakcí mezi difundující látkou a difúzním médiem pomocí standardních analytických metod, např. termických, resonančních apod. Korelace mezi výsledky těchto analýz a difúzními charakteristikami stanovenými z transportních experimentů by mohly přinést neocenitelný nástroj pro jednoduché studium interakcí na molekulární úrovni pomocí difúzních technik. Další zájmové pole pro následný výzkum představuje využití difúzních technik při studiu transportních vlastností kompletních přírodních maticí – půd, sedimentů apod., ať už izolovaných, nebo uměle namodelovaných z jejich jednotlivých složek.

Poslední část práce se věnuje problematice nalezení vhodné aplikační formy huminových látek. Je v ní představeno několik metod směsné gelace huminových kyselin prostřednictvím jejich reakce s chitosanem. Připravené materiály nabízejí celou řadu výhod oproti tradičním koloidním formám huminových látek. Definování transportních vlastností vzniklých gelů pomocí uvedené difúzní metodiky představuje vhodný rámec pro navazující výzkum.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Khairy, A.H.: *Acta Medica Empirica*, 1981, vol. 11, pp. 898.
- [2] Ghabbour, E. A. a kol. Isolation of humic acid from the brown alga *Pilayella littoralis*. *J. Appl. Phycol.* 1994, vol. 6, no. 5 – 6, pp. 459 – 468
- [3] Radwan, A. a kol.: Isolation of humic acid from the brown algae *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria saccharina* and the marine angiosperm *Zostera marina*. *J. Appl. Phycol.*, 1996, vol. 8, no. 6, pp. 553 – 562
- [4] Piccolo, A., Humus and Soil Conservation. In *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Ed. A. Piccolo, Elsevier, Amsterdam, 1996. pp. 225-264
- [5] Stevenson, F. J.: *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2nd ed., New York: Wiley–Interscience Publ., USA 1982.
- [6] Weber, J.: *Definition of soil organic matter, Humintech*. [online] poslední úprava 24. 10. 2004, citováno: 20. 12. 2007. Dostupné z <http://www.humintech.com/001/>
- [7] Peña- Méndez, E. M., Havel, J. a Patočka, J.: Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment and biomedicine. *J. Appl. Biomed.* 3 (2005), 13-24
- [8] Klöcking, R. a Helbig, B.: Medical Aspects and Applications of Humic Substances. In *Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications*. Ed. A. Steinbüchel a R. H. Marchessault, pp. 1 – 17, Willey –VCH Verlach, Weinheim, 2005.
- [9] Lotosh, T.D.: Experimental bases and prospects for the use of humic acid preparations from peat in medicine and agricultural production. (v ruštině). *Naucn. Dokl. Vyss. Skoly. Biol. Nauki*, 1991, vol. 10, pp. 91 – 103.
- [10] Žbánková P., Klučáková M.: Lignitic Humic Acid as Aid in Soil Remediation. In *Proc. 8th International Conference on Environment and Mineral Processing*. Part I (Ed. P. Fečko, V. Čablík), pp. 263-8, VŠB-TU Ostrava, Ostrava 2004. ISBN 80-248-0559-6.
- [11] Kocabagli, N. a kol.: The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poult. Sci.*, 2002, vol. 81, pp. 227 – 230.
- [12] Schmeide, K. a kol.: Uranium(IV) sorption onto phyllite and selected minerals in the presence of humic acid. *Radiochim. Acta*, 2000, vol. 88, pp. 723 – 728.
- [13] Poerschmann, J. a kol.: Complexation–flocculation of organic contaminants by the application of oxyhumolite-based humic organic matter. *Chemosphere*, 2008, vol. 70, no. 7, pp. 1228 – 1237.
- [14] Ohlenbusch, G. a kol.: Sorption of phenols to dissolved organic matter investigated by solid phase microextraction. *Sci. Total. Environ.*, 2000, vol. 253, no. 1, pp. 63-74
- [15] Davies, G. a Ghabbour, E.A. (Ed.) *Humic substances, structures, properties and uses*. The RSC, Cambridge, 1999.
- [16] Sein, L. T. Jr., Varnum, J. M., Jansen, S. A.: Conformation Modeling of a New Building Block of Humic Acid: Approaches to the Lowest Energy Conformer, *Environ. Sci. Technol.*, 1999, vol. 33, pp. 546-552.
- [17] Brye, K. R., Steele, K. F.: Soil and Water Contamination by Heavy Metals. In *Water Encyclopedia*, Volumes 1-5. Eds. J Lehr, J. Keeley, J. Lehr, pp. 275-282. John Wiley & Sons. 2005.

- [18] Klučáková, M., Pekař, M.: New Model for Equilibrium Sorption of Metal Ions on Solid Humic Acids. *Colloids Surf., A*, 2006, vol. 286, no. 1 – 3, pp. 126 – 133.
- [19] Koopal, L. K. a kol.: Ion binding to natural organic matter: General considerations and the NICA–Donnan model. *Colloids Surf., A*, 2005, vol. 265, no. 1 – 3, pp. 40 – 54.
- [20] Benedetti, M. F. a kol.: Metal Ion Binding to Humic Substances: Application of the Non-Ideal Competitive Adsorption Model. *Environ. Sci Technol.*, 1995, vol. 29, pp. 446 – 457
- [21] Klučáková, M., Kaláb, M., Pekař, M., Lapčík, L.: Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. II. Complexation of Cu(II) Ions with Humic Acid Extracted from Lignite. *J. Polym. Mater.*, 2002, vol. 19, no. 3, pp. 287–294.
- [22] Martyniuk, H., Wieckowska, J.: Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. *Fuel Process. Technol.*, 2003, vol. 84, pp. 23 – 36
- [23] Klavins, M., Eglite, L., Zicmanis, A.: Immobilized humic substances as sorbents. *Chemosphere*, 2006, vol. 62, pp. 1500 – 1506.
- [24] Klučáková, M., Pekař, M.: Lignitic Humic Acids: Natural Active Immobilization System for Heavy Metals. In *Proc. 8th International Conference on Environment and Mineral Processing. Part I*. Ed. P. Fečko, V. Čablík, pp. 273–7, VŠB–TU Ostrava, Ostrava 2004. ISBN 80–248–0558–8.
- [25] Kyziol, J., Twardowska, I., Schmitt–Kopplin, Ph.: The role of humic substances in chromium sorption onto natural organic matter (peat). *Chemosphere*, 2006, vol. 63, pp. 1974–1982.
- [26] Groenflaten, L. K.; Steinnes, E.: Comparison of Four Different Extraction Methods to Assess Plant Availability of Some Metals in Organic Forest Soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2005, vol. 36, pp. 2699 – 2718.
- [27] Hiraide, M.; Hommi, H. a Kawaguchi, H.: Diethyldithiocarbamate (DDTC) extraction of copper(II) and iron(III) associated with humic substances in water. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1992, vol. 342, pp. 387 – 390.
- [28] Siqueria, R. N. B. a kol.: Extracao selectiva de cadmio, chumbo, cobre e zinco pre-adsorvidos po acidos humicos. (v portugalštině) *Quimica nova*, 1989, vol. 12, no. 1, pp. 9 – 13.
- [29] Tessier, A. a kol. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.*, 1979, vol. 51, pp. 844 – 850.
- [30] Zeien, H.; Bruemer, G. W. Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Böden. *Berichte aus der Oekologischen Forschung* 6 (1991) 62 – 91.
- [31] Hseu, Zeng Yei a kol. Effects of chemical amendments on the HCl-extractability and the sequential extraction of Cu and Zn in a contaminated rice-growing soil. *Food Science and Agricultural Chemistry*, 2003, vol. 5, no. 2, pp. 66 – 71.
- [32] Wang, X., Chen, Y., Wu, Y.: Diffusion of Eu(III) in compacted bentonite—effect of pH, solution concentration and humic acid. *Appl. Radiat. Isot.*, 2004, vol. 60, pp. 963 – 969.
- [33] Wold S., Eriksen T.: Diffusion of humic colloids in compacted bentonite. *Phys. Chem. Earth*, 2007, vol. 32, pp. 477 – 484.
- [34] Lead, J.R., Starchev, K. a Wilkinson, K. J.: Diffusion Coefficients of Humic Substances in Agarose Gel and in Water. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, vol. 37, pp. 482–487.

- [35] Chang, M. L. a kol.: Diffusion of Volatile Organic Compounds in Pressed. Humic Acid Discs. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, vol. 31, pp. 2307-2312.
- [36] Klavins, M., Eglite, L.: Immobilisation of humic substances. *Colloids Surf., A*, 2002, vol. 203, pp. 47 – 54.
- [37] Barbot, C. a kol. Characterization of a humic gel synthesized from an activated epoxy silica gel. *Radiochim. Acta*, 2002, vol. 90, no. 4, pp. 211 – 218.
- [38] Santosa, S. J. a kol. Synthesis and utilization of chitin–humic acid hybrid as sorbent for Cr(III). *Surf. Sci.*, 2007, vol. 601, no. 22, pp. 5148 – 5154.
- [39] Li Shanxiang, Chao Bing: Study on the modification of humic acid by graft polymerization with carbamide. *J. Fuel Chem. Technol.*, 1995, vol. 23, pp. 266 – 271.
- [40] Karpouk, L., Perminova, I. a kol.: Synthesis of Alkoxysilylated Humic Derivatives with Different Modification Rate Capable of Self-Adhering to Mineral Surfaces. In *Proc. 14th Meeting of International Humic Substances Society. From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances. Part I.*, Ed. I. Perminova a N. Kulikova, s. 521 – 524. Leninskie Gory 1-3 Moscow: Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 2008. ISBN: 80-248-0786-6.
- [41] Seki, H. a Suzuki, A.: Kinetic Study of Lead Adsorption to Composite Biopolymer Adsorbent *J. Colloid Interface Sci.*, 1999, vol. 211, pp. 375 – 379.
- [42] Ruvalcaba- Martínez, A. a kol.: Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels *Carbohydr. Polym.*, 2007, vol. 67, no. 4, pp. 586 – 589.
- [43] Teixeira, M. A. a kol.: Assessment of chitosan gels for the controlled release of agrochemicals. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1990, vol. 29, pp. 1205 – 1209.
- [44] Kofuji, K. a kol.: Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan *Eur. Polym. J.*, 2005, vol. 41, pp. 2784 – 2791.
- [45] Yan, W.L. a Bai, R.: dsorption of lead and humic acid on chitosan hydrogel beads. *Water Res.*, 2005, vol. 39, pp. 688 – 698.
- [46] Wan Ngah, W.S., Hanafiah, M.A.K.M., Yong, S.S.: Adsorption of humic acid from aqueous solutions on crosslinked chitosan-epichlorhydrin beads: Kinetics and isotherm studies. *Colloids Surf., B*, 2008, vol. 65, pp. 18 – 24.
- [47] Wang, S. G. a kol.: Chitosan hydrogel beads for fulvic acid adsorption: Behaviors and mechanisms. *Chem. Eng. J.*, 2008, vol. 142, no. 3, 239 – 247.
- [48] Kristl, J. a kol. Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers. *Int. J. Pharm*, 1993, vol.. 99, pp. 13 – 19.
- [49] Rayment, P., Butler, M. F.: Investigation of ionically crosslinked chitosan and chitosan-bovine serum albumin beads for novel gastrointestinal functionality. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2008, vol. 108, no. 5, pp. 2876 – 2885.
- [50] Montembault, A., Viton, C., Domard, A.: Rheometric Study of the Gelation of Chitosan in Aqueous Solution without Cross-Linking Agent. *Biomacromolecules*, 2005, vol. 6, pp. 653 – 662.
- [51] Piccolo, A., Conte, P., a kol.: Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substances. *Eur. J. Soil Sci.*, 1999, vol. 50, no. 4, pp. 687-694.

- [52] Klučáková, M., Pelikán, P., Lapčík, L., Lapčíková, B., Kučerík, J., Kaláb, M.: Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. I. Properties and Reactivity of Humic and Fulvic Acids. *J. Polym. Mater.*, 2000, vol. 17, no. 4, p. 337-356.
- [53] Klučáková, M., Pekař, M.: Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. III. Study of Complexation of Cu^{2+} Ions with Humic Acid in Sols. *J. Polym. Mater.*, 2003, vol. 20, no. 2, pp.145-154.
- [54] Klučáková, M., Pekař, M.: Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. IV. Study of Interactions of Cu^{2+} Ions with Humic Gels and Final Comparison, *J. Polym. Mater.*, 2003, vol. 20, no. 2, pp. 155-162.
- [55] Cranck, J.: *The Mathematics of Diffusion*, 2nd ed. Oxford: Claredon Press 1975.
- [56] Ritger, P. L., Peppas, N. A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control. Release*, 1987, vol. 5, no. 1, pp. 23 – 36.
- [57] Potter, K., McFarland, E. W.: Ion transport studies in calcium alginate gels by magnetic resonance microscopy. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 1996, vol. 6, pp. 323 – 331.
- [58] Scally, S., Davison, W., Zhang, H.: Diffusion coefficients of metals and metal complexes in hydrogels used in diffusive gradients in thin films. *Anal. Chim. Acta*, 2006, 2006, vol. 558, pp. 222 – 229.
- [59] Lide, D.R., 1995. *Handbook of chemistry and physics*. 76th Edn., CRC Press, New York.
- [60] Eversole, W. G., Doughty, E. W.: The Diffusion Coefficient and Apparent Radius of the Cupric Ion in Silica Gels. *J. Phys. Chem.*, 1936, vol. 40, pp. 55 – 60.
- [61] Garmo A., Røyset O., Steinnes E., Flaten T. P.: Performance Study of Diffusive Gradients in Thin Films for 55 Elements. *Anal. Chem.*, 2003, vol. 75, pp. 3573 – 3580.
- [62] Cussler, E.L. *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems*, Cambridge University Press, Cambridge, 1984, pp. 132 – 143.
- [63] Brown, J. B.: The constitution of cupric chloride in aqueous solution *Transactions of the royal society of New Zeland*, 1948, vol. 77, no. 1, pp. 19 – 23.
- [64] Janes, K.A., Calvo, P., Alonso, M.J.: Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, vol. 47, pp. 83 – 97.
- [65] Srinivasa, P.C. Ramesh, M.N. Tharanathan, R.N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 2007, vol. 21, no. 7, pp. 1113 – 1122.
- [66] Avella a kol.: Addition of glycerol plasticizer to seaweeds derived alginates: Influence of microstructure on chemical–physical properties. *Carbohydr. Polym.*, 2007, vol. 69, pp. 503 – 511.
- [67] Kaminski, W. a kol. Interactions of metal ions sorbed on chitosan beads. *Desalination*, 2008, vol. 218, pp. 281 – 286.
- [68] Wan Ngah, W.S., Fatinathan, S.: Adsorption of Cu(II) ions in aqueous solution using chitosan beads, chitosan–GLA beads and chitosan–alginate beads. *Chem. Eng. J.*, 2008, vol. 143, no. 1 – 3, pp. 62 – 72.
- [69] Wan Ngah, W.S., Endud, C.S., Mayanar, R.: Removal of copper(II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads. *React. Funct. Polym.*, 2002, vol. 50, pp. 181 – 190.

8 AUTOROVO CV

Jméno:

Ing. Petr Sedláček

Datum narození:

9. 8. 1983

E-mail:

sedlacek-p@fch.vutbr.cz

Vzdělání:

1994 – 2001 Gymnázium Tišnov

2001 – 2006 magisterské studium, Fakulta chemická, VUT Brno, prezenční forma

obor Fyzikální a spotřební chemie

diplomová práce: Difúze kovových iontů v huminových gelech

vedoucí: doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

2006 – 2009 postgraduální studium, Fakulta chemická, VUT Brno, prezenční forma, obor Fyzikální chemie

disertační práce: Hydrogely huminových kyselin - experimentální model i aplikační forma

školitel: doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

Řešený grant:

Studium difúzních procesů v huminovém gelu - praktické úlohy (FRVŠ1759/2008), MŠMT ČR

Certifikáty:

Kurz interpretace vibračních spekter, Praha (2008)

Kurz měření vibračních spekter, Praha (2009)

Pedagogická praxe:

Praktikum z fyzikální chemie, FCH VUT v Brně (2007 – 2008)

9 SEZNAM PUBLIKACÍ

Článek v impaktovaném odborném časopise

Sedláček, P., Klučáková, M.: Simple diffusion method applied in evaluation of metal transport in model humic matrices. *Geoderma*, 2009. ISSN 0016-7061. Accepted for publication. DOI: 10.1016/j.geoderma.2009.07.002

Sedláček, P., Klučáková, M.: Diffusion experiments as a new approach to the evaluation of copper transport in humics-containing systems. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 2009. ISSN 0010-0765. Accepted for publication.

Kapitola v knize

Klučáková, M., Sedláček, P., Ondruch, P. Preparation and Characterization of New Application Forms of Humic Acids. In *Recent Research Developments in Materials Science*. 8. Kerala, Research Signpost. 2009. pp. 59 - 80. ISBN 978-81-308-0353-1.

Příspěvek ve sborníku z mezinárodní konference

Klučáková, M., Sedláček, P., Pilný, O. Rozpustnost huminových kyselin ve vodných roztocích. *ChemZi*. Tatranské Matliare. 2005. pp. 133 - 133. ISBN 1336-7242.

Klučáková, M., Sedláček, P. Possibilities of modelling of metal ions transport in nature. In *The Seventh European Meeting on Environmental Chemistry EMEC7*. Brno, Brno University of Technology. 2006. pp. 104 - 104. ISBN 80-214-3320-5.

Sedláček, P. Study of the copper(II) ions nonstationary diffusion in humic gel. In *Sborník soutěže Studentské tvůrčí činnosti Student 2006 a doktorské soutěže O cenu děkana 2005 a 2006*. Brno, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. 2006. pp. 223 - 227. ISBN 80-214-3321-3.

Sedláček, P., Klučáková, M. Determination of diffusion coefficient of copper ions in humic gels. In *Chemie a společnost*. Brno, Vysoké učení technické v Brně. 2007. pp. 1 - 5. ISBN 978-80-214-3555-1.

Sedláček, P., Krpatová, L., Klučáková, M. Extrakce měďnatých iontů z gelu huminových kyselin. *ChemZi*. 2007. 3(1). pp. 76 - 77. ISSN 1336-7242.

Sedláček, P., Klučáková, M. Function of humic acids in heavy metal transport in nature. In *11th Conference on Environment and Mineral Processing. Part II*. Ostrava, VŠB-TU Ostrava. 2007. pp. 265 - 270. ISBN 978-80-248-1278-6.

Sedláček, P., Klučáková, M. Humic Gel as a Model Medium for Study of Metal Pollutants Transport. In *VII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků. Sborník příspěvků*. Brno, PřF MU Brno. 2007. pp. 115 - 116. ISBN 978-80-210-4235-3.

Sedláček, P., Klučáková, M. Modeling of metal pollutant transport in natural humic environments. In *European Congress of Chemical Engineering - 6 EFCE Event Number 669 Conference CD*. Copenhagen, Technical University of Denmark. 2007. pp. 1 - 8. ISBN 978-87-91435-57-9.

Sedláček, P., Klučáková, M. Modeling of metal pollutant transport in natural humic environments. In *ECCE-6 Book of Abstracts. Volume 1*. Copenhagen, Technical University of Denmark. 2007. pp. 995 - 996. ISBN 978-87-91435-56-0.

Sedláček, P., Klučáková, M., Malenovská, M. Diffusivity of Cu^{2+} in the humic gel. In *Proc. 14th Meeting of International Humic Substances Society. From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances. Part I*. Leninskíe Gory 1-3 Moscow, Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. 2008. pp. 465 - 468. ISBN 80-248-0786-6.

Sedláček, P., Klučáková, M., Ondruch, P. New Colloidal Systems made of Humic Acids. In *4th Meeting on Chemistry and Life. Book of Abstracts*. Brno University of Technology, Faculty of Chemistry. 2008. pp. 6.18 (1 p.). ISBN 978-80-214-3715-9.

Sedláček, P., Klučáková, M., Ondruch, P. New Colloidal Systems Made of Humic Acids. *Chemické listy*. 2008. 102(15). pp. s1115 (2 p.). ISSN 1213-7103.

Sedláček, P., Klučáková, M., Ondruch, P., Chytil, M. Preparation of Mixed Chitosan/Humic Acids Hydrogels. In *12th Conference on Environment and Mineral Processing, Part II*. 150. VŠB - Technical University of Ostrava, Publishing services department. 2008. pp. 137 - 142. ISBN 978-80-248-1776-7.

Sedláček, P., Klučáková, M., Malenovská, M. Simple Laboratory Methods for a Determination of the Effective Diffusion Coefficient in a Humic Gel. In *VIII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků. Sborník příspěvků*. Brno, Přírodovědecká Fakulta MU Brno. 2008. pp. 87 - 174. ISBN 978-80-210-4525-5.

Sedláček, P., Klučáková, M., Bušinová, P. The use of humic gel in the simulation of pollutants transport in soils. In *Proceedings of the 9th Conference on Protection and Restoration of the Environment. Protection 2008*. 2008. (8 p.).

Sedláček, P., Klučáková, M. Combination of Laboratory Techniques and Computer Simulation in modeling Pollutants' Transport in Nature. In *13th Conference on Environment and Mineral Processing. Part III*. Ostrava, Czech Republic, VŠB - Technical University of Ostrava. 2009. pp. 121 - 126. ISBN 978-80-248-1996-9.

10 ABSTRACT

The thesis deals with a utilization of hydrogels made of humic acids in both basic and applied research of this valuable natural material. The attention is paid to an interaction between the humic gel and cupric ions as the model heavy metal. The main experimental part focuses on an optimization of simple laboratory diffusion methods which serve as an innovative tool for modeling pollutants' transport in natural humic environments. Various techniques were used in order to determine a diffusion coefficient of cupric ions in humic gel; the value is closely linked with the studied interaction between solid content of the gel and the diffusing species. Consequently, the diffusivity can be used as a standard parameter for basic reactivity mapping studies concerning humic substances. The final part of the thesis deals with a preparation of mixed reversible hydrogels formed by a reaction between humic acids and chitosan. These materials represent a suitable colloidal form for humic acids' industrial and agricultural applications.