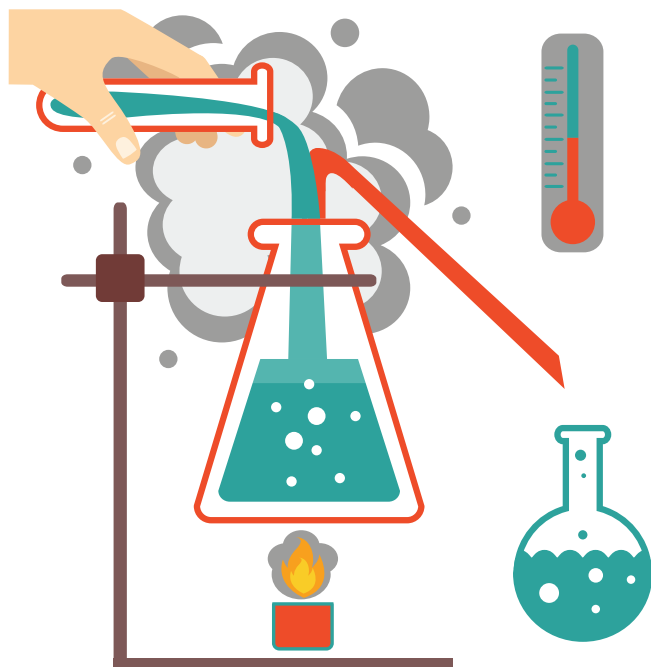


SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

23. 3. 2017



STUDENTSKÁ KONFERENCE **CHEMIE JE ŽIVOT**

Vysoké učení technické v Brně • Fakulta chemická



Sponzory konference jsou společnosti firmy TEVA Czech Industries s.r.o., Precheza a.s. a Optik Instruments, s.r.o.

Zvláštní ceny pro autory příspěvků zahrnujících zajímavé použití chemických analytických postupů věnuje firma Synthon.



Synthon

Studentská odborná konference *Chemie je život 2017*
Sborník konferenčních příspěvků

Editor: Ing. Petr Dzik, Ph.D.

Nakladatel: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno

Vydání: první

Rok vydání: 2017

Náklad: 100 ks

ISBN: 978-80-214-5489-7

Tato publikace neprošla redakční ani jazykovou úpravou

Obsah

Sekce středoškolských studentů Tématický okruh organická, enviromentální a biochemie

Sledování účinků kyseliny β -aminomáselné na rajče.....	10
Aneta Autratová, Anežka Zádňíková	
Stanovení ergotových alkaloidů	11
Jan Bednář	
Stanovení sójových fytoestrogenů v potravinách	12
Lenka Jílková	
Porovnávání metod měření koncentrace proteinů	13
Filip Karásek, Martin Siegl	
Růst enterotoxigenních kmenů <i>Bacillus cereus</i> v kojeneckém mléce	14
Dominika Krčálová	
Výroba a charakterizace bionafty	15
Zdeňka Hartmanová, Jitka Odehnalová	
Mikrobiologická kontaminace kosmetických výrobků	16
Lenka Pavlíková, Terezie Plucarová	
Stanovení obsahu amiloridu a hydrochlorothiazidu.....	17
Klaudie Ramszová	
Stanovení obsahu antioxidantů v zeleném čaji.....	18
Markéta Štejdířová	
Problematika výskytu farmaceutických látek v životním prostředí a možnosti jejich eliminace.....	19
Jan Vespalec	

Sekce středoškolských studentů Tématický okruh anorganická chemie, materiálové vědy a inženýrství

Studium paschenova zákona.....	21
Gabriel Janovský	
Vliv doby krystalizace a teploty při krystalizaci na fotokatalytické účinky TiO ₂ :3 a ZrO ₂ v látkovém poměru	22
Petr Lodňánek	

Závislost chemiluminiscence na reakčných podmímkách	23
Jakub Martikan, Vojtěch Musil	
Struktura nukleových kyselin na površích elektrod.....	24
Dan Prokop	
Validace rentgenového fluorescenčního spektrometru NITON XL3 _i GOLDD+.....	25
Natálie Říhová	
Optimalizace stanovení isoform metalothioneinu pomocí kapilární elektroforézy	26
Alžběta Sedláčková	

*Sekce studentů bakalářských a magisterských studijních programů
Tématický okruh organická, environmentální a biochemie*

Tvorba svetlom indukovaných proteolytických enzýmů vláknitej huby <i>Trichoderma atroviride</i>	28
Bc. Helena Galádová	
Využitie magnetických častíc pre izoláciu DNA zo sušenej papriky.....	39
Bc. Martina Gaňová	
Monitoring psychoaktívnych látok na území Moravy.....	40
Bc. Nikolas Gróf	
Využití magnetických částic při izolaci DNA z rybízových džemů	46
Bc. Aneta Hronová	
Možnosti využití iontových kapalin pro separaci biocidů na bázi halogenovaných organických kyselin z vod.....	47
Barbora Kamenická	
Anaeróbne spracovanie výpalkov z výroby liehu	55
Bc. Dominik Krafčík	
Využití výlisků z výroby vína pro odstraňování mědi z odpadních vod	56
Bc. Jakub Kříkala	
Modifikácie hyaluronanu kyselinou cholovou a využitie týchto derivátov pre nosičové aplikácie	57
Klaudia Kvaková	
Bioresorbovateľné polyuretány s riaditeľnými mechanickými vlastnosťami	62
Bc. Emil Letavaj	
Zařízení pro izolaci DNA magnetickými částicemi.....	63
Bc. Milan Němeček,	
Anaeróbne spracovanie biomasy z výroby penicilínu a jeho kofermentácia s odpadovou biomasou z výroby cystínu	64
Matúš Palguta	

Využití magnetických částic při izolaci DNA z cibule a brokolice	66
Bc. Lucie Ráčková	
Identifikace mikroorganismů v kosmetických výrobcích s obsahem probiotik.....	67
Bc. Denisa Romanovská	
Vplyv vybraných liečiv na rýchlosť odstraňovania organického substrátu.....	68
Bc. Petra Szabová	
Analýza mikrobiálního složení vybraných probiotických výrobků metodou PCR.....	76
Bc. Barbora Tomanová	
Využití neuronových sítí k urychlení cesty biotechnologie Hydal na globální trh.....	77
Martin Vaněk	
Ovplyvnenie molekulovej hmotnosti kyseliny hyaluronovej zmenou fermentačného procesu	78
Monika Wikarská	

*Sekce studentů bakalářských a magisterských studijních programů
Tématický okruh anorganická chemie, materiálové vědy a inženýrství*

Elektrochemická charakterizácia Cu katalyzátorov.....	84
Jana Bodišová	
Příprava a studium reaktivity série N,N' -alkylovaných derivátů DPP pro organickou elektroniku	88
Bc. Martin Cigánek	
Syntéza organických pevno-fázových fluorescenčních barviv na báze para-bis(2-thienyl)phenylenu	100
Bc. Ján Jančík	
Catalyzed Conversion of Lignin.....	112
Anton Lisý	
Vedlejší energetické produkty jako surovinová základna budoucnosti	119
Bc. Michal Marko	
Lehké kompozity na bázi fluidních filtrových popílků.....	126
Jakub Palovčík	
Tvarování hydroxyapatitu na mikro úrovni metodou freeze-casting pro přípravu kostních náhrad	134
Lucie Pejchalová	
Pressureless Sintering of Boron Carbide	135
V. Rákošová	
Výroba metanolu z tuhého komunálního odpadu.....	136
Patrik Šuhaj	

Vliv strukturních a procesních parametrů na vlastnosti polymerních nanokompozitů	137
Bc. Klára Zárbybnická	

*Sekce studentů doktorských studijních programů
Tématický okruh organická, environmentální a biochemie*

Förster Resonance Energy Transfer in Cationic Micelles Using Perylene-Fluorescein as Donor-Acceptor System	139
Zuzana Adamcová	
Preparation and characterization of liposomes as cosmetic delivery systems	144
Jitka Bokrová	
Determination of Lipid Membrane Properties and Influence of Cholesterol	149
Jana Burdíková	
Astaxanthin production by <i>Haematococcus pluvialis</i> under various stress conditions	150
Ing. Dana Byrtusová	
Development of a Micro Method for DNA Isolation Using Magnetic Nanoparticles.....	151
Ing. Lenka Fialová	
Use of terrestrial gastropods in the ecotoxicological research	152
Mgr. Pavel Fojt	
Time-resolved Fluorescence of Prodan in Micellar Solution of Cetyltrimethylammonium Bromide	
Petra Holínková	
The comparison of the concentrations of platinum and palladium in Brno and Moscow	158
Stanislav Ježek	
Development of Materials Based on Hyaluronic Acid's Hydrogels for Myocardial Regeneration.....	159
Lenka Kohutová	
Occurrence of Macrolide Antibiotics in Waste Waters	160
Pavlaína Landová	
Use of Fluorescence and Bacterial Autofluorescence in Biotechnological Processes.....	161
Lucie Müllerová	
Analysis of Black Inkjet Prints by Atomic Force Microscope Infrared-Spectroscopy (AFM-IR) and Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS)	162
Michal Oravec	

High-Throughput Optimization of Red Yeast Cultivation Conditions Using FITR And Raman Spectroscopy.....	163
Marek Rapta	
Development of DGT technique for determination of hazardous metals in food matrixes: Step I – preparation of sorption gel.....	164
Marek Reichstädter	
Comparison of metabolic activity, morphology and potential use of carotenogenic yeasts for production of high value products using fluorescence techniques.....	165
Martin Szotkowski	
Nadzeya Mikheichyk, Ivana Márová	
Removal of Pharmaceuticals by Combinations with Ozone	166
Tereza Švestková	
Artificial sweeteners and their occurrence in the environment	167
Libuše Vítková	
Screening of Yeast Strains for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Waste Paper	168
Miroslava Zichová	

Sekce studentů doktorských studijních programů
Tématický okruh anorganická chemie, materiálové vědy a inženýrství

Morphology study of 2-ethylhexyl acrylate/cellulose acetate propionate microcapsules prepared via solvent evaporation technique	174
Tomáš Arvai	
Mechanochemical treatment of talc.....	185
Jan Bednárek	
Thin Films of Tetravinylsilane Characterized by Spectroscopic Ellispometry	190
Martin Bránecký,	
Possibilities of elimination of ammonia slip from technological water in power plants.....	191
Hajzler Jan, Ing.	
Synthesis of Metallic Nanoparticles by Electrical Discharge in the Liquid.....	192
Jakub Horák	
Screen Printing and Characterization of Thick Layer Electroluminescence Panels	193
Michal Hrabal	
Hydrogels based on cationic polyelectrolytes	194
Sabína Jarábková	

Characterization of colloid particles by excited-state proton transfer with advanced fluorescence techniques	198
Jan Kotouček Miloslav Pekař, Jakub Mondek	
Effect of Solvent in the Deformation Behavior of Hydrogels	204
Eva Kulovaná	
Involvement of photovoltaic panels and heat pumps for family houses and their subsequent regulations to obtain maximum energy self-sufficiency	211
Petr Levek	
Comparison of peroxides for radical induced grafting of maleic anhydride onto polypropylene via reactive extrusion.....	212
Jana Matláková	
Screen Printing of Organic Electrochemical Transistor for real-time cell culture monitoring	213
Lukáš Omasta	
Development of Novel Chiral Biphenyl-Based Bis(thiourea) Organocatalysts for Asymmetric Henry Reaction	214
Jan Otevřel	
The study of aging of writing inks in blue ballpoint pens by GC-MS	215
Silvia Parciová	
Nanoscratch Testing of Thin Films Prepared by Plasma Polymerization from the Vapour Phase of Tetravinylsilane Monomer.....	216
Tomáš Plichta	
Full printed organic electrochemical transistors	217
Stanislav Štríteský, Lukáš Omasta,	
Effect of counterion on rheological properties of hydrogels prepared from hyaluronan and oppositely charged surfactant.....	218
Tomáš Velcer	

Sekce středoškolských studentů

Tématický okruh organická, environmentální a biochemie

Sledování účinků kyseliny β -aminomáselné na rajče

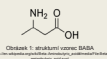
Aneta Autratová, Anežka Žádníková

Střední průmyslová škola chemická, příspěvková organizace, Vranovská 65, 621 00 Brno

anetautratova@seznam.cz, chroaza@gmail.com

ÚVOD

V této práci jsou sledovány účinky kyseliny β -aminomáselné (BABA) na rostlinu rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* cv. Marmadee) z hlediska koncentrace BABA a doby jejího působení. BABA je aminokyselina vyznačující se tím, že se u některých rostlin chová jako elicitor. To znamená, že umí vyvolat podobnou obranu rostlé, jakou vyvolává patogenní organismus a tím posílí celkovou odolnost rostliny vůči celému spektru patogenních organismů. Toho by se v budoucnu možná využívalo pro biodegradabilní postřiky, které by rostlinu přirozenou cestou ochránily před patogenními organismy.



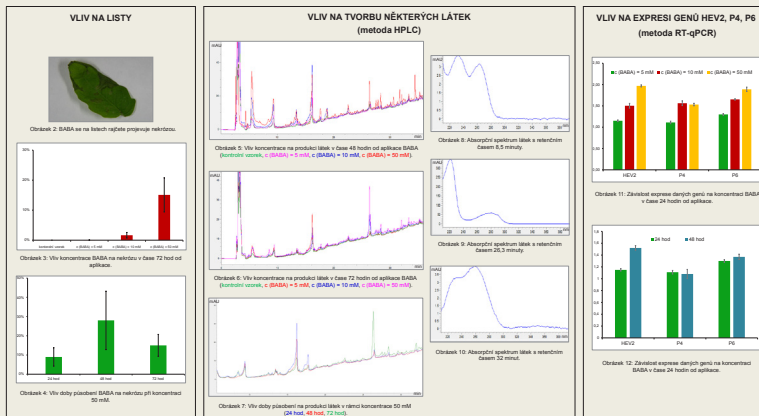
METODIKA

Pro studii byly použity rostliny rajčete (bez květů) *Solanum lycopersicum* cv. Marmadee, které rostly osm týdnů v kontrolovaném prostředí. Tyto rostliny byly ošetřeny postřikem BABA o 5 mM, 10 mM a 50 mM koncentraci jako kontrolní vzorek destilovanou vodou. Každou koncentraci byly ošetřeny dvě náhodně vybrané rostliny. Po 3 dny každých 24 hodin byl prováděn sběr vzorků listů.

Účovali jsme vliv koncentrace BABA a doby jejího působení na:

- listy rajčete,
- tvorbu některých látek (pomocí metody HPLC),
- expresi některých genů, které kódují PR-proteiny (pomocí metody RT-qPCR).

VÝSLEDKY A DISKUSE



ZÁVĚR

Koncentrace BABA a doba jejího působení ovlivnila většinu námi sledovaných faktorů. Výsledky z metody HPLC a RT-qPCR vypovídají o pozitivním vlivu BABA na rajče, tedy o schopnosti vyvolat obrannou reakci a tím posílit jeho odolnost vůči celému spektru. Avšak vyhodnocení přímého vlivu na listy vypovídá o negativním působení této kyseliny, a to o nevýdatném poškození listů rajčete v podobě nekrotických lézí. Tento fakt je zároveň i důvodem, proč BABA nemůže být v praxi aplikována pro zvýšení imunity, a proč je třeba hledat jinou látku s podobně pozitivními vlastnostmi.

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bychom chtěli poděkovat Mgr. Martinu Solanskému a Mgr. Haně Holubové za jejich odborné vedení, cenné rady a výpomoc, kterou nám poskytovali během zpracování naší práce. Také bychom chtěli poděkovat Přírodovědné fakultě Masarykovy univerzity za umožnění používání zařízení, které jsme potřebovaly pro náš výzkum.



Stanovení ergotových alkaloidů

Autor: Jan Bednář¹; Jan.Bednar.96@seznam.cz

¹ Škola: Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, příspěvková organizace

² Pracoviště: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Externí vedoucí a konzultant: Ing. Martina Čumová, Ph.D.²

Školní vedoucí práce a konzultant: Ing. Tomáš Buránek¹



Úvod

Ergotové alkaloidy (EAs) jsou zdraví škodlivé mykotoxiny produkované hubami z rodu *Chesteria*, které parazitují převážně na obilovinách. Na infikovaných květenstvích se objevují sklerecie, které obsahují EAs.

Ob. 1: 1, 2, 3 a 4 - EAs obsahují v ovoci skleroci huby *Chesteria sp.* (rod *Clavaria*, řada *Clavariales*, třída *Basidiomycota*, kmen *Basidiomycota*)

- V jarním období vyvážte ze sklerocierna strmo vlnitější spou, které kontaminují obiloviny v kševněvství.

Ob. 2: 1 a 2 - Krmiva *Chesteria sp.*

- V lidstvu neoprávně zemědělské praxe se mohou sklerecie dostávat do sklizeného obilí a EAs mohou kontaminovat potraviny a krmiva a z toho vysvětlují.

- Ergotové alkaloidy v krmivech a potravinách způsobují zdravotní problémy. Toxické ergotové alkaloidy způsobují pleochrom v poškození funkci centrální nervové soustavy a periferního nervového systému. Symptomy úniku ergotových alkaloidů jsou například nervové poruchy, křeče, nízké problémy a nekontrolované časté tře. Dlouhodobá konzumace ergotových alkaloidů způsobuje eripitaciem, záhd vyvýšenou jsou vřazem, ústky, pšpřem, pšpřem a gangrém.

Ob. 3: 1 a 2 - ERGOTOVÉ ALKALOIDY způsobují eripitaciem

Pracovní postup

Optimalizace metody

Pro extrakci EAs ze skleroci byla nastavená 4 rozpouštědla:

A. roztok 75% acetonitrilu ve vodě
B. roztok 75% acetonitrilu ve vodě a 0,1% HCOOH
C. roztok 75% methanolu ve vodě
D. roztok 50% acetonitrilu ve vodě

Nejpřít vřichová a opakovaností bylo dosáhdno pomocí roztoku B

Validace metody

Validace byla ověřena spřítost, přesnost, nejistota a linearita pro stanovení ergotových alkaloidů ve sklerociích.

Připrava vzorku skleroci a krmiv

Ergotové alkaloidy byly extrahovány z obiloviny pro výrobu krmiv pomocí modifikované metody QUÉCHERS (Quac, Easy, Cheap, Rugged and Safe)

Stanovení ergotových alkaloidů

Analýzy byly stanoveny pomocí ultrarůdné kapalnóv chromatografie ve spřítí a tandemovém hmotnostním spektrometrickém detekci

Ob. 17: Schéma spřítí ultrarůdné kapalnóv chromatografie

Ob. 14: Ergotamine a Ergosin

Výsledky, diskuse a závěr

Modelový roztok EAs v pševě

Ob. 15: Mapa

- Množství ergotových alkaloidů ve sklerociích a různých odhdá ževa v jedné lokalitě - Lapa

- V grafu vidíme jednotlivé koncentrace EAs v 1 g sklerocii

- Různé EAs je od 0,003 do 9,219 mg/kg

- Na odhdá užije je sklerecie vyznačená červenou linkou na 1 gram na kilogram krmiva obsahující obiloviny

Ob. 16: Tabulka výsledků měření

Ob. 17: Tabulka výsledků měření

Ob. 18: Tabulka výsledků měření

Ob. 19: Tabulka výsledků měření

Ob. 20: Tabulka výsledků měření

Ob. 21: Tabulka výsledků měření

Ob. 22: Tabulka výsledků měření

Ob. 23: Tabulka výsledků měření

Ob. 24: Tabulka výsledků měření

Ob. 25: Tabulka výsledků měření

Ob. 26: Tabulka výsledků měření

Ob. 27: Tabulka výsledků měření

Ob. 28: Tabulka výsledků měření

Ob. 29: Tabulka výsledků měření

Ob. 30: Tabulka výsledků měření

Ob. 31: Tabulka výsledků měření

Ob. 32: Tabulka výsledků měření

Ob. 33: Tabulka výsledků měření

Ob. 34: Tabulka výsledků měření

Ob. 35: Tabulka výsledků měření

Ob. 36: Tabulka výsledků měření

Metoda QUÉCHERS

Ob. 1: Připrava vzorku skleroci a krmiv

Ob. 2: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 3: Vyroba jednotlivých částí vzorku

Ob. 4: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 5: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 6: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 7: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 8: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 9: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 10: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 11: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 12: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 13: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 14: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 15: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 16: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 17: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 18: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 19: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 20: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 21: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 22: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 23: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 24: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 25: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 26: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 27: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 28: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 29: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 30: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 31: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 32: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 33: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 34: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 35: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 36: Vložení vzorku do centrifugy

Stanovení EAs ve sklerociích

Ob. 1: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 2: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 3: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 4: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 5: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 6: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 7: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 8: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 9: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 10: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 11: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 12: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 13: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 14: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 15: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 16: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 17: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 18: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 19: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 20: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 21: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 22: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 23: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 24: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 25: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 26: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 27: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 28: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 29: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 30: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 31: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 32: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 33: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 34: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 35: Vložení vzorku do centrifugy

Ob. 36: Vložení vzorku do centrifugy

STANOVENÍ SÓJOVÝCH PHYTOESTROGENŮ V POTRAVINÁCH

Lenka Jílková

Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, příspěvková organizace, Vranovská 65, 614 00 Brno-Husovice, lenka.jilek@email.cz

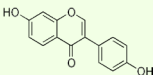
ÚVOD

- Cílem mě práce bylo stanovit obsah fytoestrogenů v mléce a jogurtech, které pocházejí od dojnů ze soukromé farmy v Měšovcích. Speciální pozornost je věnována isoflavanu equolu, který vzniká z daidzeinu působením bakterií trávicího traktu.
- Estrogenní účinky equolu jsou sice výraznější, avšak na celá lidská populace je schopna si sama ve směsí mléka equol vytvořit a pozitivním způsobem tak ovlivnit své zdraví.
- Equol a daidzein byly stanoveny pomocí metody HPLC-MS.

TEORIE

DAIDZEIN

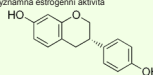
- Sám o sobě nemá zásadní vliv na estrogenní receptory
- Metabolizy: Daidzein - dihydrodaidzein - O-demethylangolénin
- Daidzein - dihydrodaidzein - equol



Obrázek 1: Chemická struktura daidzeinu

EQUOL

- Není klasický fytoestrogen
- dochází až jej vytvořit 25 - 30 % západní populace
- V asijských zemích 50 - 60 % populace
- Dva optické izomery S-(-)equol a R-(+)equol
- Významná estrogenní aktivita



Obrázek 2: Chemická struktura equolu

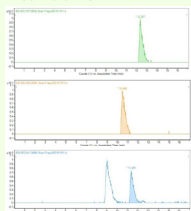
BIOLOGICKÉ MATERIÁLY pro tuto práci pocházely od dojníc ze soukromé farmy v Měšovcích. Krmlivo bylo obohaceno o 40% sójový extrakt po dobu 14 dnů.

- Mléka
- Jogurty po měsíci zrání

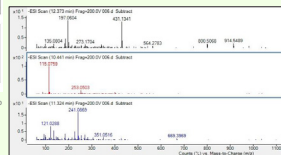
METODIKA

HPLC-MS

- kolona Zorbax Extend - C18 (50 x 2,1 mm; 1,7 µm) s příslušnou předkolonou s filtrem pro zachycení případných nečistot (0,22 µm)
- Rychlost průtoku 0,2 ml/min
- Teplota ovno na 35°C
- Stožení mobilní fáze: gradientová eluce 0,1% kyseliny octové (A) a methanolu (B)
 - 0 min - 75% A, 25% B
 - 6,01 min - 50% A, 50% B
 - 12 min - 0% A, 100% B
- Hmotnostní spektrometr s detektorem doby letu MS-TOF Agilent Technologies 6224
- Vyhodnocování pomocí programu Mass Hunter



Obrázek 3: Extrahované chromatogramy vnitřního standardu 4-HBP, daidzeinu a equolu

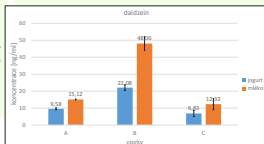


Obrázek 4: Hmotnostní spektra vnitřního standardu 4-HBP, daidzeinu a equolu.

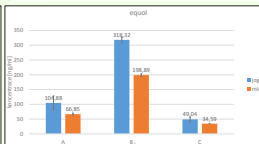
EXPERIMENT

vzorek	daidzein			mléko		
	[ng/ml]	SD	RSD	[ng/ml]	SD	RSD
A	9,58	0,62	6,42	15,12	0,25	1,67
B	22,08	1,70	7,68	48,06	3,96	8,25
C	6,83	1,82	26,60	12,32	3,32	26,97

vzorek	equol			mléko		
	[ng/ml]	SD	RSD	[ng/ml]	SD	RSD
A	104,88	23,78	22,68	66,85	4,10	6,13
B	318,32	9,22	2,90	198,89	4,55	2,29
C	49,04	8,03	16,37	34,59	1,00	2,90



Graf 1: Koncentrace daidzeinu v jogurtech a mlékách



Graf 2: Koncentrace equolu v jogurtech a mlékách

ZÁVĚR

- Obohacení krmliva o sójové fytoestrogeny má vliv na množství equolu a daidzeinu.
- U equolu byl rozdíl koncentrace výrazně vyšší v dokrmované skupině. U daidzeinu nebyl zdaleka tak markantní.
- Fytoestrogeny jsou látky se spoustou blahodárných účinků, ale musíme pamatovat i na možná rizika.

Porovnávání metod měření koncentrace proteinů

Filip Karásek a Martin Siegl

Říšební přípravná škola chemická Brno, Vauxovská 47, Brno - Stanice 414 00



FAKULTA PŘÍRODOVĚDNÁ A MATEMATICKÁ
KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE A ANALYTICKÉ CHEMIE



Úvod

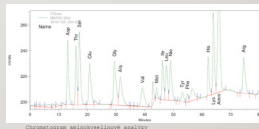
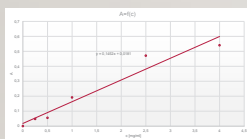
- Cílem této práce je posoudit a zhodnotit metody z hlediska jejich účinnosti, přesnosti, finanční i časové náročnosti, dostupnosti atd.
- Všechna měření byla prováděna na vzorku proteinu MAP2c

Experimenty

- Pro měření koncentrace proteinů jsme použili několik metod různého typu
- Převážná část metod je spektrofotometrických
- Použili jsme také SDS - PAGE, Aminokyselinovou analýzu nebo NMR spektrometrii

Aminokyselinová analýza

- Slouží pro stanovení absolutní koncentrace ve vzorku.
- Principem je reakce s 6M HCl a rozštěpení peptidických vazeb.
- Průchod přes HPLC kolonu.
- Koncentrace stanovena na 1,9 mg/ml (Referenční hodnota)



Bradfordova metoda

- Reakce činidla s proteinem
- Změna barvy z hnědé na modrou.
- Citlivost na arginin a lysin
- $\lambda = 595 \text{ nm}$
- Koncentrace stanovena na 2,6 mg/ml

UV - spektrofotometrie

- Spektrofotometrická metoda
- Excitace n elektronů a následná emise záření.
- $\lambda = 280 \text{ nm}$
- Koncentrace stanovena na 3,2 mg/ml

BCA metoda

- Reakce činidla s proteinem
- Změna barvy z bezbarvé na fialovou
- $\lambda = 750 \text{ nm}$
- Koncentrace stanovena na 1,2 mg/ml

Barva roztoku proteinu a činidla v BCA stanovení



SDS-PAGE

- Separační metoda
- Vazbou SDS na protein a jeho následnou denaturaci získává záporný náboj.
- Při elektroforéze dochází k separaci na základě velikosti a pohyblivosti.
- Koncentrace stanovena na 1,2 mg/ml

NMR spektrometrie

- Obvykle se k měření koncentrace proteinů nevyužívá.
- Principem je vložení zkoumaného vzorku do silného magnetického pole a ozařování radiofrekvenčním zářením.
- Koncentrace stanovena na 0,8 mg/ml

Závěr

- Došli jsme k závěru, že nejvhodnějším postupem je určit koncentraci proteinu pomocí aminokyselinové analýzy a následně vyzkoušet nejběžnější dostupné metody a jejich výsledky porovnat s výsledkem aminokyselinové analýzy.

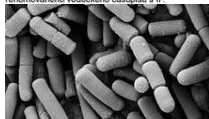
RŮST ENTEROTOXIGENNÍCH KMENŮ B. CEREBUS V KOJENECKÉM MLÉCE

DOMINIKA KRČÁLOVÁ

Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, příspěvková organizace
Vranovská 65, 614 00, Brno – Husovice; škola@spschbr.cz

ÚVOD

Cílem práce bylo sledování růstu a produkce toxinů u kmenů *B. cereus* v obnoveném kojeneckém mléce při různých skladovacích podmínkách. Prezentované výsledky jsou součástí rozsáhlejší studie, jejíž souhrnné výsledky byly zpracovány formou vědecké publikace a zasílány do renomovaného vědeckého časopisu a IP.



Obrázek 1: Bacillus

EXPERIMENT

Nejprve byla připravena sporová suspenze s koncentrací 10^8 .

Sušené kojenecké mléko následně bylo zaočkováno sporovou suspenzí na výchozí konc. 10^1 KTJ/g a 10^3 KTJ/g.

Mléko rozděleno do sterilních lahví po 100 ml a skladováno při teplotách 8, 15 a 24 °C po 48 hodin.

Čubáři pro stanovení počtu *B. cereus* v pravidelných intervalech (0, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 31 a 48 h skladování)

Stanovení počtu – rozřít 0,2 ml na MYP agar, inkubace 30 °C, 24 h

ZÁVĚR

Las konstatoval, že obnovené počáteční kojenecké mléko je vhodným prostředím pro růst *B. cereus*, který se zde při teplotách 15 °C a 24 °C množí a produkuje toxiny.

Detekovatelné množství toxinů vzniká při pomnožení *B. cereus* v obnoveném sušeném mléce řádově na 10^6 KTJ/ml (nehemolytický enterotoxin) či 10^7 KTJ/ml (cereulid, hemolysin).

Pro zajištění bezpečnosti není vhodné kojenecké mléko po obnovení uchovávat při teplotách vyšších než 15 °C.

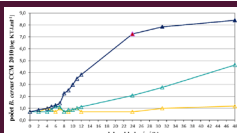
VÝSLEDKY A DISKUSE

Na grafech 1-6 jsou uvedeny růstové křivky testovaných sterilizovaných kmenů *B. cereus* při různých skladovacích teplotách, i s vyznačenou tvorbou toxinů.

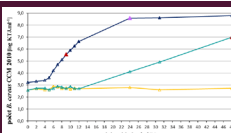
Jak vyplývá z grafů 1 – 6, při teplotě 8 °C, nebyl růst *B. cereus* pozorován, současně nedošlo ani k produkci toxinů.

Při teplotě 15 °C byl růst *B. cereus* výrazně zpomalený, nedošlo k vytvoření kompletního růstové křivky. K produkci detekovatelného množství enterotoxinů došlo pouze u kmenů CCM 2010 a CCM 869.

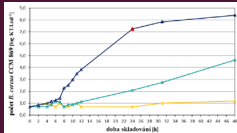
Při teplotě skladování 24 °C došlo ve všech případech během 48 h k vytvoření kompletních růstových křivek.



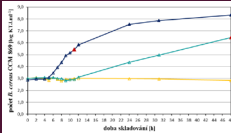
Obrázek 2: Růstová křivka – CCM 2010, 10^1 KTJ/ml



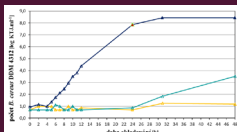
Obrázek 3: Růstová křivka – CCM 2010, 10^3 KTJ/ml



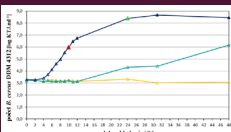
Obrázek 4: Růstová křivka – CCM 869, 10^1 KTJ/ml



Obrázek 5: Růstová křivka – CCM 869, 10^3 KTJ/ml



Obrázek 6: Růstová křivka – DDM 4312, 10^1 KTJ/ml



Obrázek 7: Růstová křivka – DDM 4312, 10^3 KTJ/ml

VÝROBA A CHARAKTERIZACE BIONAFTY

Zdeňka Hartmanová, Jitka Odehnalová

Střední průmyslová škola chemická, Brno, Vranovská 65

zdenuli.h@seznam.cz

ÚVOD

Cílem práce je výroba biopaliva z různých druhů olejů (slunečnicový, řepkový, palmový, kukuřičný, olivový a použitý) a alkoholu (methanol, ethanol, propanol). Následně se zjišťovaly fyzikální a chemické vlastnosti vyrobené bionafty.

EXPERIMENT

Bionafta se vyrábí tzv. transesterifikací. Transesterifikace - výměna alkoholové nebo kyselé části existujícího esteru za jinou.

Na výrobu bionafty se používá:

- olej nebo rostlinný tuk
- alkohol – methanol, ethanol, propanol
- katalyzátor - NaOH (hydroxid sodný) nebo KOH (hydroxid draselný)

Zjištění fyzikálních a chemických vlastností: stanovení čísla kyselosti, měření bodu vzplanutí, stanovení hustoty

VÝSLEDKY A DISKUSE

Stanovení hustoty:

Největší hustota:
propylester z olivového oleje
Nejmenší hustota:
ethylester ze slunečnicového oleje

Stanovení čísla kyselosti:

Největší:
methylester použitého fritovacího oleje
Nejmenší:
methylester slunečnicového oleje

Měření bodu vzplanutí:

methylester olivového oleje - 174,75 °C.

ZÁVĚR

Nejvhodnější palivo: bionafta ze slunečnicového oleje a methanolu

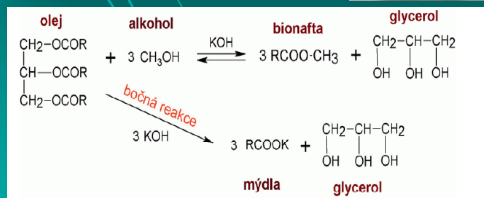
Nejproblematičtější palivo: biopalivo z exotických olejů a z použitého fritovacího oleje

Největší hustota: methylestery
Nejmenší hustota: propylestery
Dle našeho názoru by se v budoucnosti dalo uvažovat o plněm nahrazení ropných paliv biopalivy.

Obr.1: Finální podoba připravených esterů



Rovnice č.1: Výroba bionafty



Mikrobiologická kontaminace kosmetických výrobků

➔ Úvod

Cílem naší práce bylo ověření účinků konzervantů v krémech. Pokud by konzervanty neúčinkovaly správně, došlo by ke kontaminaci, což představuje pro spotřebitele závažné zdravotní riziko. Patogenní mikroorganismy mohou způsobovat ekzémy či záněty.

➔ Polymerázová řetězová reakce

- Opakují se symetrické nebo amplifikační vybraného úseku DNA (denaturace DNA, navázání priméru a smyčka nových řetězců DNA)
- Postup: lyze buněk (ruční či buňkové membrány), izolace DNA, amplifikace v termocyklerech a následné vyhodnocení (elektroforéza či graf na základě měření fluorescence)
- Použitá pro dvě řadě komerčních výrobků (obsahoval K 145)

➔ Výsledky konverční PCR

- Středována přítomnost baktericidní DNA
- Pro výrobek s trvanlivostí do 08/2018 nebyl konzervant vůči dodané kontaminaci dostatečně účinný
- Pro výrobek s trvanlivostí do 06/2018 byl konzervant buď účinnější než konzervant ve vzorku B, nebo došlo v průběhu práce k chybě

Tab. 1: Výsledky elektroforózy

DNA	PK	PK	BT 1%	BT 4%	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
Vzorek	NK	PK	BT 1%	BT 4%	BT 1%	BT 4%	DNA	NK	PK	BT 1%	BT 4%	BT 1%	BT 4%	BT 1%	BT 4%
Intenzita produktu	++	+	+	+	-	-	absent.	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: PK ... pozitivní kontrola (ne smí být přítomná DNA); NK ... negativní kontrola (pouze PCR směs); DNA standard ... komerčně vyráběný standard DNA (jako ochrana vůči chybě (navázání se vzorku)... PCR produkt nebyl detekován; +, ++ ... PCR produkt byl detekován v různé intenzitě; B ... výrobek s trvanlivostí do 08/2018; B ... výrobek s trvanlivostí do 06/2018; % ... množství přikrájený MČ

➔ Schülke Koko test

- Společná v přidání různých koncentrací konzervantů do původně nekonzervovaných vzorků a jejich následné opakované kontaminaci
- Určení doby trvanlivosti výrobku (6 týdnů testu bez kontaminace = trvanlivost 30 měsíců v praxi)
- V tabulce jsou výsledky přepočítané na KT) v gramu krému pomocí vzorce:

$$N = \frac{\sum C}{0,1 \cdot (1 + n_1 + 0,01 \cdot n_2) \cdot 10^{-3}}$$

Tab. 4: Výsledky Schülke Koko testu

	1. týden	1. týden	1. týden	1. týden	1. týden
102.2.2.1	anomni	anomni	anomni	anomni	anomni
102.2.2.2	0.2x10 ⁸	0.2x10 ⁸	0.2x10 ⁸	0.2x10 ⁸	0.2x10 ⁸
102.2.2.3	0	0	0	0	0
102.2.2.4	0	0	0	0	0
102.2.2.5	0	0	0	0	0
102.2.2.6	0	0	0	0	0
102.2.2.7	0	0	0	0	0
102.2.2.8	0	0	0	0	0
102.2.2.9	0	0	0	0	0
102.2.2.10	0	0	0	0	0
102.2.2.11	0	0	0	0	0
102.2.2.12	0	0	0	0	0
102.2.2.13	0	0	0	0	0
102.2.2.14	0	0	0	0	0
102.2.2.15	0	0	0	0	0
102.2.2.16	0	0	0	0	0
102.2.2.17	0	0	0	0	0
102.2.2.18	0	0	0	0	0
102.2.2.19	0	0	0	0	0
102.2.2.20	0	0	0	0	0
102.2.2.21	0	0	0	0	0
102.2.2.22	0	0	0	0	0
102.2.2.23	0	0	0	0	0
102.2.2.24	0	0	0	0	0
102.2.2.25	0	0	0	0	0
102.2.2.26	0	0	0	0	0
102.2.2.27	0	0	0	0	0
102.2.2.28	0	0	0	0	0
102.2.2.29	0	0	0	0	0
102.2.2.30	0	0	0	0	0

Legenda: anomni ... nepoživatelná miska, 0 ... bez kontaminace

➔ Experiment

Zkoumané konzervanty K145 a K702

- Měly by mít stejný účinek proti bakteriím, kvasinám i plísním
- Jsou založeny na chemických reakcích s mikroorganismy

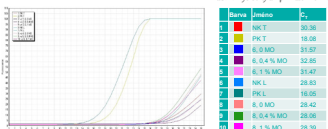
Použité mikroorganismy E. coli a C. glabrata

- Patogenní kmeny E. coli mohou vyvolat průjemová onemocnění
- Kvasinky druhu Candida mohou způsobovat infekce

➔ Výsledky real-time PCR

- Středována přítomnost DNA kvasinek
- Práce s hodnotou C_t - bod kdy je dosaženo nejvyšší možné fluorescence
- Hodnota C_t pro PK 18 a 16 (byla přítomná DNA), u ostatních vzorků větší než 28 (nebyla přítomná DNA)
- Konzervant byl vůči dodané kontaminaci účinný

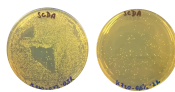
Tab. 2: Výsledky amplifikační křivky



Obr. 1: Graf amplifikační křivky

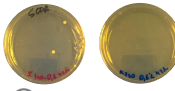
➔ MIC test

- Středována minimální inhibiční koncentrace
- Společná v zaokrouhnutí rozků konzervantů o různých koncentracích



Obr. 2-5: Petriho misky K702

0.6% po různých dobách kontaktu



Tab. 3: Výsledky MIC testu

Účinné	0.6%	1%	1.5%	2%	3%
0.445 0.05%	++++	++++	++	++	++
0.445 0.1%	++++	++++	++	++	++
0.445 0.2%	++++	++++	++	++	++
0.445 0.3%	++++	++++	++	++	++
0.445 0.4%	++++	++++	++	++	++
0.445 0.5%	++++	++++	++	++	++

Legenda: + ... inhibiční kontaminace, 0 ... bez kontaminace

➔ Závěr

V rámci naší práce jsme došli k závěru, že ne vždy je nutné použít do výrobků maximální povolenou koncentraci, protože i menší množství konzervantů je proti případné kontaminaci účinné.

Příčinný účinnost konzervantu K145 jsme ověřili v běžně používaném výrobku. Měl by mít stejný účinek proti bakteriím, kvasinám i plísním. Účinnálok však lépe proti kvasinám.

STANOVENÍ OBSAHU AMILORIDU A HYDROCHLOROTHIAZIDU

Klaudie Ramszová
13ramszoa@spsch.eu

Střední průmyslová škola chemická akademika Heyrovského, Ostrava, příspěvková
Středoškolská 2854/1, Ostrava-Zábřeh, 700 30



Obr.1 Lék Amilorid

ÚVOD

Hlavním cílem mé práce bylo seznámit se s metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie, pomocí níž jsem stanovovala obsah Hydrochlorthiazidu a Amiloridu HCl·2H₂O v přípravku Amilorid Comp.Pharmavit.

TEORETICKÁ ČÁST

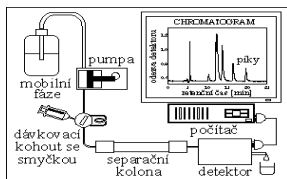
CHARAKTERISTIKA AMILORIDU

- dvě účinné složky (amilorid a hydrochlorthiazid).
- antihypertenzi
- diuretikum(možnouduřad zahnemární hříení tekutina otoků)

HPLC



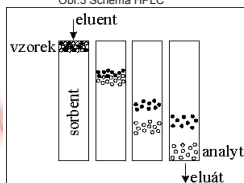
Obr.2 HPLC



Obr.3 Schéma HPLC



Obr.4 Separáční kolona



Obr.5 Separace pomocí HPLC

PRAKTICKÁ ČÁST

Příprava roztoků



Obr.6 Vialky na vzorky

VÝPOČET ÚČINNÉ LÁTKY VE VZORKU:

Hydrochlorthiazid

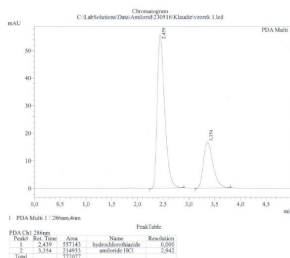
$$X_{H1} = \frac{A_m \cdot B_{st} \cdot C \cdot m}{A_{st} \cdot B_m \cdot 100} = \frac{557143 \cdot 50,1 \cdot 98,6 \cdot 0,2468}{696863 \cdot 2,3284 \cdot 100} = 41,86 \text{ mg/tbl}$$

$$X_H = \frac{x_{H1} + x_{H2} + x_{H3}}{3} = \frac{41,86 + 44,44 + 44,17}{3} = 43,49 \text{ mg/tbl}$$

Amilorid

$$X_{A1} = \frac{A_m \cdot B_{st} \cdot C \cdot m}{A_{st} \cdot B_m \cdot 100 \cdot 2,5} = \frac{214933 \cdot 15,2 \cdot 99,2 \cdot 0,2468}{279520 \cdot 0,23284 \cdot 100 \cdot 2,5} = 4,92 \text{ mg/tbl}$$

$$X_A = \frac{x_{A1} + x_{A2} + x_{A3}}{3} = \frac{4,92 + 5,22 + 5,20}{3} = 5,11 \text{ mg/tbl}$$



Obr.7 Chromatogram vzorku

ZÁVĚR

Při zjišťování obsahu bylo ve vzorcích nalezeno **43,49 mg/tbl** Hydrochlorthiazidu a **5,11 mg/tbl** Amiloridu HCl·2H₂O. Léčivo tedy **splňuje** požadované parametry.

PROBLEMATIKA VÝSKYTU FARMACEUTICKÝCH LÁTEK V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ A MOŽNOSTI JEJICH ELIMINACE



Jan Vespalec¹, Ing. Josef Janků¹,

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.², Ing. Pavlína Landová^{2,3}, Ing. Tereza Švestková^{2,3}

¹Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o. Vranovská 65, 614 00 Brno-Husovice, e-mail: Jan.Vespalec@gmail.com

²Fakulta Chemická, Brno VUT, Purkyňova 118, 612 00 Brno

³Fakulta Stavební, AdMaS centrum, Brno VUT, Purkyňova 139, 612 00 Brno



ÚVOD

- Cílem práce bylo odstranit léčiva z umělé kontaminované vody pomocí pokročilých oxidačních procesů s následným stanovením koncentrací sledovaných analytů.
- Bylo vybráno celkem 11 léčiv ze dvou terapeutických skupin, a to ze skupiny makrolidových a sulfonamidových antibiotik a nesteroidních protizánětlivých léčiv.
- Výsledky této práce by mohly být využity v čistírnách odpadních vod.

EXPERIMENT

- Léčiva byla odstraňována pomocí maloprovazní jednotky využitelné pro aplikaci pokročilých oxidačních procesů, která se nachází ve vědecko-výzkumném centru AdMaS, situovaném v Brně.
- Jednotka disponuje dávkovačem ozonu, peroxidu vodíku a dvěma UV lampami. Tyto části je možné využít samostatně nebo v kombinaci (Obr. 1).
- Odebrané vzorky byly zpracovány metodou extrakce tuhou fází (SPE), která umožňuje zakoncentrování analytů izolovaných z matrice.
- Finální analýza byla provedena metodou kapalinové chromatografie s DAD a hmotnostní detekcí (HPLC-DAD-MS).



Obr. 1: Maloprovazní jednotka v AdMaS centru v Brně [foto J. Vespalec]

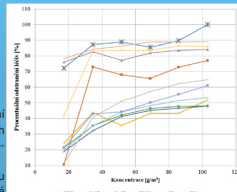
ZÁVĚR

Nelepší metodou na odstranění léčiv se ukázala kombinace ozonu s peroxidem vodíku. Účinnost odstranění vybraných léčiv byla v rozmezí 95 % - 100 % u všech sledovaných látek, kromě ketoprofenu a ibuprofenu. Ketoprofen a ibuprofen byly touto metodou odstraněny z 90 %, avšak až při použití vyšších koncentrací oxidačních činidel. Tento postup odstraňování léčiv by bylo možné použít na ČOV, ať již na komunálních ČOV nebo přímo u těch zdrojů znečištění, které mohou nejvíce kontaminovat odpadní vody. Jsou to například nemocnice nebo veterinární zařízení.

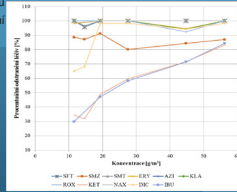
Projekt byl financován z rozpočtu SPŠCH Brno, Vranovská, p. o. (části z rozpočtu fakulty) a z rozpočtu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci ústřední odborné programy „Aktivní program vzdělávání“ (7. a 8. podprogramy projektu SPŠCH-10-136A a SPŠCH-10-137A/2006).

VÝSLEDKY A DISKUSE

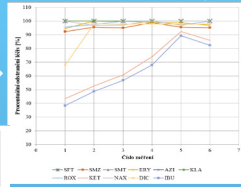
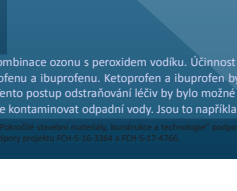
Graf 1: Procentuální účinnost odstranění léčiv pomocí ozonu s peroxidem vodíku o různých koncentracích (číslo měření viz 2.5.1 maloprovazní jednotka a odběr vzorků)



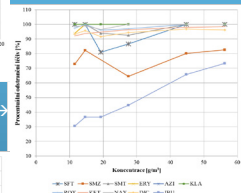
Graf 2: Procentuální účinnost odstranění léčiv pomocí ozonu s UV zářením o různých koncentracích



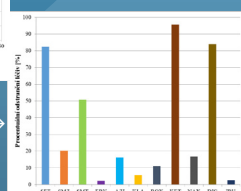
Graf 3: Procentuální účinnost odstranění léčiv pomocí UV záření



Graf 4: Procentuální účinnost odstranění léčiv pomocí ozonu o různých koncentracích



Graf 5: Procentuální účinnost odstranění léčiv pomocí ozonu s UV zářením



Sekce středoškolských studentů

*Tématický okruh anorganická chemie,
materiálové vědy a inženýrství*

Studium Paschenova zákona

Gabriel Janovský

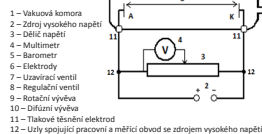
13janovsky@spisch.eu

Střední průmyslová škola chemická akademika Heyrovského, Ostrava, příspěvková organizace

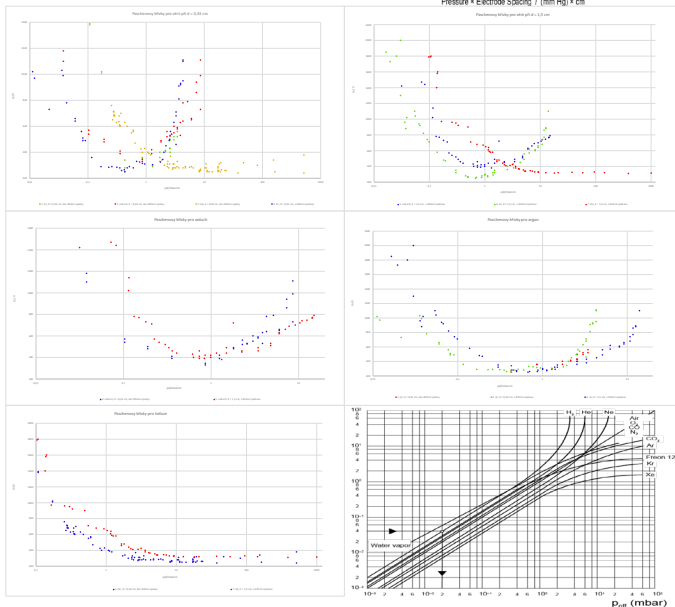
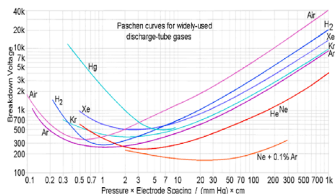
Úvod:

cílem této práce bylo praktické potvrzení Paschenova zákona, případně, po porovnání s jeho oficiální charakteristikou, analýzování odchylek od výsledků odborného měření a odvození či předpoklad jejich příčiny.

Experiment:



- 1 – Vakuová komora
- 2 – Zdroj vysokého napětí
- 3 – Očítč napětí
- 4 – Multimetr
- 5 – Barometr
- 6 – Elektrody
- 7 – Uzavírací ventil
- 8 – Regulační ventil
- 9 – Izotační vývěva
- 10 – Difúzní vývěva
- 11 – Tlakové těsnění elektrod
- 12 – Úzly spojující pracovní a měřicí obvod se zdrojem vysokého napětí



Závěr:

- výstupní grafy splňují jisté charakteristické podmínky
- Paschenův zákon tedy byl potvrzen

Vliv doby krystalizace a teploty při krystalizaci na fotokatalytické účinky TiO₂:3 a ZrO₂ v látkovém poměru

Petr Lodňánek
Ing. Dana Vaňková, Ph.D.

Střední průmyslová škola chemická akademika Heyrovského, příspěvková organizace
Středoškolská 2854/1, Ostrava-Zábřeh, 700 30

Tato ročníková práce se zabývá přípravou směsi TiO₂ a ZrO₂ v látkovém poměru 7:3 pomocí podkritické vody a její fyzikálně-chemickou charakterizací, konkrétně fotokatalytickou aktivitou. Práce je složena z teoretické části, praktické části, výsledků, hodnocení a závěru. V rámci teoretické části jsou popsány vlastnosti Ti, TiO₂, Zr a ZrO₂ a jejich praktické využití. Dále je vysvětlen způsob přípravy těchto oxidů a to hydrolýza titanyl sulfátu a zirkoniumoxonitrátu, princip fotokatalýzy a vysvětlení analytické metody: UV-VIS spektrometrie. Praktická část skýtá postup přípravy směsi oxidů, který byl použit, provedení krystalizace, jak při změně objemu, tak teploty a způsob zjišťování vlivu doby krystalizace a teploty na fotokatalytickou aktivitu dané směsi a zjištění fotokatalytické aktivity oxidací azobarviva AO7

Klíčová slova: TiO₂, ZrO₂, fotokatalytická aktivita



Závislost chemiluminiscence luminolu na reakčních podmínkách



Jakub Martikan, Vojtěch Musil¹⁾

Střední průmyslová škola chemická, Brno, Vranovská, p. o., Vranovská 1364/65, 614 00 Brno

¹⁾vojtamusil@email.cz

MOTIVACE

Luminol je organická látka schopná při oxidaci emitovat světlo. Účelem této práce je zdokonalení současných syntetických postupů pro zvýšení výtěžku a čistoty luminolu. Dále sestavení dostatečně citlivého a přesného přístroje pro měření luminiscence a následné zhodnocení doposud neoprávněné závislosti chemiluminiscence luminolu na reakčních podmínkách.

METODY A INSTRUMENTACE

Syntéza luminolu

- vychází organický substrát – ftalanhydrid
- nitrace, kondenzace hydratazem a redukce
- velké množství rekrystalizací meziproductů
- analýza produktů pomocí koferra bloku a TLC chromatografie



Obrazek 1: Nitrace ftalanhydridu (vlevo) a rozpouštění 3-nitroftalohydrazidu (vpravo)

Instrumentace

- použití části UV/VIS spektrometru Spekál 10
- odstíněná reakční komora vlastní výroby
- AD převodník a software PCLAB2000SE
- přesnost 0,001 V, snímání po 0,01 s
- detektor fotonka v oblasti vlnových délek od 300 nm do 750 nm
- zesilovač až 990×



Obz. 2: Sestavený luminimetr

Oblasti měření:

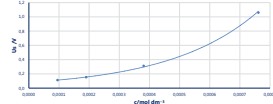
- schopnost různých iontů katalyzovat oxidaci
- závislost na koncentraci luminolu
- závislost na koncentraci katalyzátoru
- závislost na koncentraci oxidačního činidla
- závislost na pH reakční směsi

VÝSLEDKY

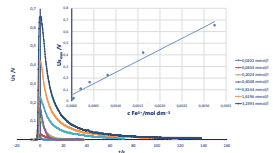
V rámci práce jsme hledali vhodné katalyzátory pro oxidaci luminolu. Dále jsme změřili závislosti chemiluminiscence na koncentracích jednotlivých reaktantů a katalyzátoru. Nejdůležitější výsledky jsou shrnuty v tabulce a grafech níže.

Tabulka 1: Subjektivní hodnocení katalyzátorů.

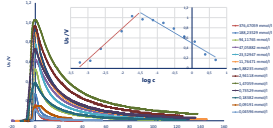
Katalyzátor	Intenzita svítivosti	Délka svítu
Fe ²⁺	výborná	dlouhá
Cu ²⁺	výborná	střední
Cr ³⁺	dobrá	střední
Co ²⁺	dobrá	střední
Pb ²⁺	dobrá	krátká
Ni ²⁺	slabá	krátká
Bi ³⁺	slabá	krátká



Graf 1: Závislost maximální svítivosti na koncentraci luminolu.



Graf 2: Průběh chemiluminiscence s různými koncentracemi katalyzátoru – Fe(III) ve formě [Fe(CN)₆]³⁻



Graf 3: Průběh chemiluminiscence s různými koncentracemi oxidačního činidla.

DISKUSE

Podávalo se nám zvýšit výtěžky a čistotu produktu oproti hodnotám uvedeným v literatuře. Náš výtěžek byl 32,84 %, zatímco [1] uvádí 14,7 % až 25,5 % [2] uvádí 29,5 %. Dále jsme také snížili náklady spojené s preparací oproti komerčně dostupnému luminolu, který stojí 632,8 Kč/g [3]. Bez započítání látkové práce a energií spojených se syntézou vychází jeden gram produktu na 10,11 Kč.

Při měření katalyzátorů jsme vyzkoušeli 20 různých kationtů. U některých byl problém s vysrážením iontu kvůli alkalickému prostředí a tak jsme museli hledat stabilní komplexy. Nadějně katalyzátory a jejich subjektivní hodnocení je uvedeno v Tabulce 1. Subjektivní hodnoty by bylo vhodné potvrdit měřením na sestrojeném luminimetru.

Experimentálně jsme dokázali, že se zvyšujícím se množstvím luminolu v reakční směsi exponenciálně roste hodnota maximální svítivosti i celkové množství emitovaného světla. Tato závislost je znázorněna na Grafu 1.

Při měření závislosti luminiscence na koncentraci katalyzátoru jsme dospěli k neočekávaným výsledkům. Ažkoliv jsme očekávali s větším množstvím katalyzátoru rychlejší reakci a tudíž její dřívější konec, výsledky však potvrdily, že se zvyšuje hodnota maximální svítivosti i doba dosvitu, což je patrné z průběhů reakcí znázorněných v Grafu 2.

Náš výsledky dále prokázaly, že peroxid vodíku jakožto oxidační činidlo v nadbytku negativně ovlivňuje reakci. Ideální koncentrace peroxidu vodíku pro maximální délku a nejvyšší intenzitu svícení je 1,5 mmol dm⁻³. Jednotlivé průběhy emisí a závislost na koncentraci jsou znázorněny na Grafu 3.

ZÁVĚR

Úspěšně jsme modifikovali postupy syntézy luminolu pro vyšší výtěžky a větší čistotu produktu. Sestavili jsme přístroj schopný měření chemiluminiscence. Na základě experimentálních dat jsme určili ideální poměr reaktantů ve směsi. Určili jsme, které ionty jsou vhodné katalyzátory pro tuto reakci.

REFERENCE

- [1] ŠMA, Daniel a Jan SKOŘAL. Chemická luminiscence luminolu a jeho syntéza ze snadno dostupných chemikálií. *Chemické listy*, 2008, 102(1017–1019), 3.
- [2] ŠIMŮNEK, Ondřej. *Chemiluminiscence*. 2007. Praha, 2007.
- [3] <http://www.sigmaldrich.com> (4.3.2017)

Struktura nukleových kyselin na površích elektrod

Dan Prokop

Školitel: doc. RNDr. Miroslav Fojta, CSc.

*Akademie věd České republiky, Biofyzikální ústav,
Královopolská 135, 612 65 Brno
dan.prokop.23tekk@gmail.com*

Nukleové kyseliny jsou zodpovědné za vzhled a funkce všech živých organismů. Poškození DNA nebo změny v její struktuře mohou zapříčinit řadu nemocí, či dokonce nádorové bujení. Pro pochopení a možné odvrácení výše uvedeného je nutné věnovat úsilí výzkumu nukleových kyselin.

Tato práce je zaměřena na rozvoj elektrochemických metod vhodných pro strukturní analýzu nukleových kyselin, zejména v oblasti tzv. nekanonických (alternativních) struktur DNA, především tzv. vlásenek a kvadruplexů.

Cílem tohoto projektu je prozkoumat elektrochemické vlastnosti řetězců nukleových kyselin s využitím metod nevyžadujících externí značení („label-free“ detekce). Studie se zabývá chováním nekanonických struktur DNA na rtuťových elektrodách se záporným potenciálem. Hlavními sledovanými znaky jsou zejména schopnost se adsorbovat a desorbovat na površích elektrod, dále oxidační a redukční pochody nukleových bází.

Získané informace jsou porovnány s chováním kanonických struktur. Bylo zjištěno, že tvorba kvadruplexů silně ovlivňuje přístupnost nukleobází pro redoxní pochody, a složení jednořetězcových konců kvadruplexových struktur má vliv na adsorpčně-desorpční vlastnosti řetězce jako celku. Výsledky jsou přínosem na poli výzkumu bioanalytických metod a DNA nanotechnologií.

Klíčová slova: elektrochemie, lineární voltametrie, AC voltametrie, nukleové kyseliny, nekanonické struktury, G-kvadruplex, label-free detekce

VALIDACE RENTGENOVÉHO FLUORESCENČNÍHO SPEKTROMETRU NITON XL3t GOLDD+

Natalie Říhová

Střední průmyslová škola chemické akademika Heyrovského, Ostrava, p. o.
Středoškolská 1, Ostrava-Zábřeh, natalie.riha@seznam.cz

ÚVOD

Práce je výstupem dvouleté praxe ve Fyzikálně chemické zkušebně VTC. Zabývá se validací programu OCEL-1, vytvořeného pro rentgen-fluorescenční spektrometr NITON XL3t GOLDD+. Program byl vytvořen za účelem správnějšího měření a minimalizace korekci driftu přístroje tzn., že přístroj je schopen vydávat výsledky bližší reálné hodnotě.

EXPERIMENT

- bylo proměřeno 32 vzorků CRM

VYBUZENÍ

- zdroj vyšle RTG paprsek, který dopadá na vzorek
- záření vyrazí z valenční vrstvy atomu elektron
- vzniká díra, atom se nachází v nestabilním stavu

PŘESKOK

- z vyšší energetické hladiny se uvolní další elektron, zaplní vlnikou díru
- při přeskočení elektronů dochází k vyzařování energie hladin elektronů
- energie se vyzařuje formou elektromagnetického záření

DETEKCE

- záření dopadá na detektor a je převedeno do procesoru
- procesor počítá všechna detekovaná záření a přepočítává je na odpovídající koncentraci prvků

KONEČNÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

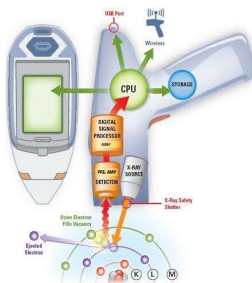
- přifazení tabulkových hodnot CRM k naměřeným hodnotám
- zhodnocení výsledků statistickým software QC Expert

ZÁVĚR

Cílem práce byla validace programu OCEL-1, vytvořeného pracovníky FCHZ, pomocí ED XRF NITON XL3t GOLDD+. Bylo zjištěno, že nastavení přístroje není ideální – uspokojivých výsledků měření dosáhl pouze titan.

MOŽNOSTI DO BUDOUCNA

- opětovné přeměření nevyhovujících prvků
- přepoččet parametrů prog. OCEL-1
- použití parametru inverzní rovnice



Obr. 1: ED XRF NITON XL3t GOLDD+ - schéma

VÝSLEDKY ŘEŠENÍ

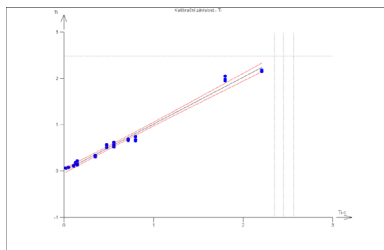
Na 32 vzorcích CRM byly naměřeny koncentrace 18 prvků.

Výstupem měření jsou protokoly a grafy.

- poskytují souhrnné informace o každém měřeném CRM

Z PROTOKOLŮ LZE VYČÍST

- je-li model vyhovující
- hodnota a významnost absolutního členu
- hodnota směrnice (jak moc se přibližuje 1)
- průměrné absolutní reziduum
- korelační koeficient
- minima a maxima naměřených i certifikovaných hodnot



Graf. 1: Kalibrační závislost Ti

Vhodnost použitého modelu*	Významnost absolutního členu**	Validace směrnice**	Hodnota absolutního členu	Hodnota směrnice	Vypočítaná směrodatná odchylka slepého signálu	Průměrné absolutní reziduum	Korelační koeficient	Minimum	Maximum
Ti	1	1	0,0008273	1,01186	0,077146861	0,056150409	0,993907	0,02	2,21

Tab. 1: Protokol Ti

Optimalizace stanovení isoformem metalothioneinu pomocí kapilární elektroforézy

Alžběta Sedláčková

Střední průmyslová škola chemická, Vranovská 65, 614 00 Brno,
skola@spschbr.cz

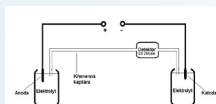


ÚVOD

Cílem práce bylo optimalizovat jednotlivé isoformy metalothioneinu pomocí kapilární elektroforézy.

Byly stanoveny jednotlivé lidské a králičí isoformy MT v různých separačních podmínkách, v odlišných elektrolytech a ředidlech. Byla zkoumána jejich absorbance a mobilita. Metoda byla aplikována na klinické vzorky lidské krevní plazmy.

EXPERIMENT



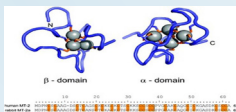
Optimalizace podmínek měření

- separační napětí – 20 kV
- dávkovací tlak – 50 mbar
- doba působení dávkovacího tlaku – 5 s
- celková délka kapiláry – 56,5 cm
- efektivní délka kapiláry – 44 cm
- vlnová délka – 214 nm

Volba vhodného elektrolytu

- 20 mM borát sodný – pH 9
- 70 mM fosfatový pufr – pH 7

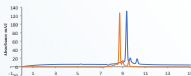
- Byl sledován vliv elektrolytů a rozpuštědel vzorku MT (metalothioneinu) o koncentraci 0,1 mg/ml na výšku, tvar signálu, nebo změnu elektroosmotického toku.
- Byl sledován vliv změny výše vedených separačních podmínek na migrační čas, absorbanci a tvar signálu.
- Byly stanoveny králičí isoformy MT-1 a MT-2 v odlišných ředidlech.
- Byl sledován vliv denaturace králičího MT.
- Byly stanoveny lidské isoformy MT-1, MT-2 a MT-3 v různých ředidlech.
- Metoda detekce MT byla aplikována na klinické vzorky krevní plazmy zdravého a onkologicky nemocného člověka.



CAJENI, A. et al. Reactivity of an antineoplastic superoxide-dismutase compound with metallothionein-2: relevance to the mechanism of action. *Bioelectrics* 2008, 17, 5, s. 436-441.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Porovnání absorbance králičí MT-1 při ředění milil-Q vodou a použití fosfatového pufru se vzorkem, pro jehož detekci byl použit fosfatový pufr jako rozpuštědlo i jako elektrolyt.



Obr. 13: elektroforegram MT-1 - rabbit o koncentraci 0,1 mg/ml ředěný milil-Q vodou, elektrolyt fosfatový pufr, pH 7, dávkovací tlak 50 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

Obr. 14: elektroforegram MT-1 rabbit 1. o koncentraci 0,1 mg/ml ředěný fosfatovým pufrům, elektrolyt fosfatový pufr, pH 7, dávkovací tlak 50,30,10 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

Porovnání králičí ho MT před a po denaturaci – sledování stability MT

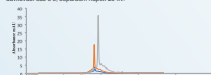


Obr. 17: elektroforegram MT-1 - rabbit před a po denaturaci, o koncentraci 0,1 mg/ml - ředěný milil-Q vodou, elektrolyt fosfatový pufr, pH 7, dávkovací tlak 50 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

Porovnání lidských isoform MT-1, MT-2 a MT-3 při ředění milil-Q vodou a použití fosfatového pufru jako elektrolytu



Obr. 18: elektroforegram MT human 1. o koncentraci 0,1 mg/ml ředěný milil-Q vodou, elektrolyt fosfatový pufr, dávkovací tlak 50,30,10 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.



Obr. 19: elektroforegram MT human 2. o koncentraci 0,1 mg/ml ředěný milil-Q vodou, elektrolyt fosfatový pufr, dávkovací tlak 50,30,10 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

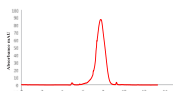


Obr. 20: elektroforegram MT human 3. o koncentraci 0,1 mg/ml ředěný milil-Q vodou, elektrolyt fosfatový pufr, dávkovací tlak 50,30,10 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

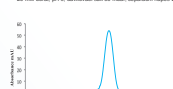
Detekce MT v klinických vzorcích

Příprava vzorků krevní plazmy

10 μ l krevní plazmy + 90 μ l milil-Q vody \rightarrow denaturace \rightarrow centrifugace \rightarrow detekce supernatantem

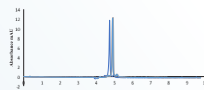


Obr. 21: elektroforegram vzorku krevní plazmy onkologicky nemocného člověka, 1. vlnový piket v porovnání 1,1 s milil-Q vodou, elektrolyt 20 mM borat, pH 9, dávkovací tlak 50 mbar, separační napětí 20 kV.



Obr. 22: elektroforegram vzorku krevní plazmy onkologicky nemocného člověka, 1. vlnový piket v porovnání 1,1 s milil-Q vodou, elektrolyt 20 mM borat, pH 9, dávkovací tlak 50 mbar, separační napětí 20 kV.

Při aplikaci stejných podmínek a elektrolytů je MT detekován v migračním čase 4,9 min. Ve stejný čas je v případě onkologicky nemocného pacienta detekován minoritní záznam.



Obr. 23: elektroforegram MT standardu o koncentraci 0,1 mg/ml ředěného milil-Q vodou, elektrolyt 20 mM borat, pH 9, dávkovací tlak 50 mbar, dávkovací čas 5 s, separační napětí 20 kV.

ZÁVĚR

- nejvyšší absorbance majoritního záznamu MT \rightarrow kombinace fosfatového pufru jako elektrolytu a milil-Q jako rozpuštědla
- detekce minoritních záznamů \rightarrow fosfatový pufr jako rozpuštědlo i elektrolyt
- největší mobilita \rightarrow MT-1, nejmenší – MT-3 (pravděpodobně díky většímu množství AMK ve struktuře)
- stabilita MT – 1/4 původního vzorku
- detekce majoritního signálu s krátkým intervalem výskytu v klinických vzorcích – krátký interval výskytu tohoto piketu může být důsledkem silnějšího elektroosmotického toku, který unáší částice v kapiláře stejnou rychlostí, vystředěný piket také může nasvědčovat tomu, že termolabilní proteiny mohou mít podobnou mobilitu.
- detekce minoritního signálu v klinických vzorcích s migračním časem odpovídajícím výskytu MT za stejných podmínek

*Sekce studentů bakalářských a magisterských
studijních programů*

Tématický okruh organická, environmentální a biochemie

Tvorba svetlom indukovaných proteolytických enzýmov vláknitej huby *Trichoderma atroviride*

Bc. Helena Galádová

Ing. Matej Maťaľa PhD., doc. Ing. Martin Šimkovič PhD.

Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie
Radlinského 9, 81237 Bratislava, Slovenská republika
galadova.helena@gmail.com

1 Úvod

Trichoderma atroviride je mykoparazitická vláknitá huba, ktorá sa bežne vyskytuje v prírode, hlavne na koreňových častiach stromov a rastlín. V priebehu svojho vývoja produkuje hydrolytické enzýmy, vrátane proteolytických enzýmov, ktoré sú nevyhnutné pre ich prežitie. Proteázy štiepia peptidovú väzbu v polypeptidových reťazcoch na kratšie peptidové reťazce. *Trichoderma sp.* využívajú proteázy v mykoparazitizme na prienik cez bunkovú stenu hostiteľa, kde následne degradujú intracelulárny obsah, ktorý využívajú vo svoj prospech¹. Jedným z environmentálnych faktorov, ktorý prispieva ku tvorbe proteolytických enzýmov, je svetlom indukovaná konidiácia². Kmene z rodu *Trichoderma* našli uplatnenie v rôznych oblastiach, ako je poľnohospodárstvo, pivovarníctvo, kožiarstvo alebo farmaceutický priemysel³.

Táto práca sa venuje fenoménu svetlom indukovanej tvorby nízkomolekulových a vysokomolekulových proteolytických enzýmov *Trichoderma atroviride*. Súčasťou projektu je komparatívna analýza proteolytického profilu kmeňov *T. atroviride* a charakterizácia katalytických vlastností detegovaných proteáz. Posledná časť sa venuje štúdiu štruktúry proteáz hmotnostnou spektrometriou.

2 Metodika práce a metódy

2.1 Modelové mikroorganizmy

Ako modelové mikroorganizmy sa použili:

- *Trichoderma atroviride* CCM F-534, zbierka mikroorganizmov, Univerzita T. G. Masaryka, Brno, Česká republika

- *Trichoderma atroviride* LU132 od Dr. J. Steyert, Bio-Protection Research Centre, Lincoln University, Nový Zéland.
- *Trichoderma atroviride* IMI 206040 od Dr. M. Schmoll, Austrian Institute of Technology GmbH, Viedeň, Rakúsko

2.2 Kultivácia mikroskopických kultúr

Konidiálna suspenzia, použitá na očkovanie sa pripravila z 2-týždňových kultúr vyrastených na povrchu stuženého Czapek-Doxovho (CzD) média (za cirkadiálnych podmienok a teploty 25°C). Suspenzia o koncentrácii $1 \cdot 10^9$ konidií/mL a s obsahom 25% glycerolu sa až do použitia uskladnila pri -20°C. Kultúry použité na homogenizáciu, sa pripravili rôznou dĺžkou kultivácie (2, 3, 4, 5 a 7 dní) húb na celofánových diskoch umiestnených na povrchu stuženého CzD média, za tmy (kontrola) alebo za konštantného osvetlenia (lampou FL 1301-8, 8W, vo vzdialenosti 20 cm od svetelného zdroja).

2.3 Homogenizácia

Homogenizácia povrchovej kultúry sa uskutočnila roztrianím mycélia zmrazeného tekutým dusíkom. Po odparení dusíka sa bielkoviny z homogenizovanej biomasy extrahovali tlmivým roztokom (Tris-HCl, pH 7,4). Po odstránení bunkových zvyškov odstreďovaním sa homogenáty s 20% glycerolom uskladnili pri teplote -20 °C.

2.4 Meranie bielkovín

Koncentrácia bielkovín sa stanovila prostredníctvom Bradfordovej metódy⁴ s využitím hovädzieho sérového albumínu ako štandardu.

2.5 Stanovenie proteolytickej aktivity (PA)

Proteolytická aktivita sa stanovila prostredníctvom viacerých metód, pomocou chromogénneho substrátu azokazeínu a želatínovou zymografiou.

- **Stanovenie aktivity pomocou chromogénneho substrátu-** spektrofotometrické meranie sa uskutočnilo v prítomnosti azokazeínu. Do eppendorfky sa pridalo 400 μ l azokazeínu (0,25% azokazeín, 100 mM Tris-HCl pH 7,4) a 100 μ l vzorky a inkubovalo po dobu 4 hod pri 37 °C. Následne sa reakcia zastavila pridaním 10 % TCA a suspenzia sa scentrifugovala (90 s, 13 400 ot/min). Takto pripravený supernatant sa preniesol do kyvety, zmiešal sa s 320 μ l 1M NaOH a zmerala sa absorbancia pri 440 nm oproti vode. Neenzýmová hydrolyza substrátu sa zhodnotila rovnako, ako pri sledovaní proteolytickej aktivity, ale vzorka sa k zmesi pridala až po prídavku TCA. Proteolytická aktivita (PA) sa vyjadřila ako zmena absorbancie pri 440 nm v priebehu 1 min a prepočítaná na 1 mg bielkovín. Merania sa uskutočnili v dvoch nezávislých experimentoch v paralelných meraniach, prezentované výsledky predstavujú aritmetický priemer z 1 experimentu a sú vyjadrené ako aritmetický priemer +/- odhad smerodajnej odchýlky.

- **Elektroforéza na polyakrylamidovom géli (PAGE)**- použil sa 10% polyakrylamidový gél. Vzorky pripravené na SDS-PAGE sa spracovali štandardným postupom podľa Laemmliho metódy⁵. Na separáciu bielkov sa do gélu nadávkovalo 50 µg. Elektroforéza bežala 1 hod pri 28 mA v prítomnosti SDS. Detekcia proteínových pásov v géli sa uskutočnila pomocou farbenia s Commasie brilliant blue R-250 (CBB R-250).
- **Želatínová zymografia**- zymografia sa uskutočnila za rovnakých podmienok ako SDS elektroforéza s malými obmenami. Zymografický gél, okrem polyakrylamidu, obsahoval navyše prídavok substrátu, 0,2 % (w/v) želatíny. Aby sa zachovala natívnosť proteolytických enzýmov, vzorky určené na zymografiu sa zmiešali s modifikovaným elektroforetickým tlmivým roztokom, ktorý neobsahoval redukujúce látky (β-merkaptotetanolu), navyše samotné vzorky pred nadávkovaním do gélu neboli tepelne denaturované. Po rozpustení v elektroforetickom tlmivom roztoku sa vzorky odstredili (2 min, pri 14000 x g) a naniesli na gél spoločne s molekulovými štandardmi. Elektroforéza bežala 1 a ½ hod pri 28 mA pri 4 °C. Po skončení elektroforézy sa z gélu odstránilo SDS inkubáciou v 20 mM Tris-HCl tlmivom roztoku (pH 7,5) s 2,5 % Triton X-100 na trepačke v troch 20 min intervaloch. Detekcia PA sa uskutočnila inkubáciou gélu pri 37 °C v roztoku s nasledovným zložením: 40 mM Tris-HCl (pH 7,4), 20 mM NaCl a 5 mM CaCl₂ po dobu 4 hod. Vizualizácia zón reprezentujúcich PA sa uskutočnila s farbičkou CBB R-250.
- **Želatínová zymografia vrstvením**- pri tejto technike sa vychádzalo z štandardného polyakrylamidového gélu bez zabudovanej želatíny. Po prebehnutí elektroforézy na SDS-PAGE za podmienok popísaných vyššie sa z gélu najprv odstránil SDS a potom sa prítomnosť proteolytickej aktivity detegovala prevrstvením gélu s rozdelenými bielkovinami čerstvou vrstvou polyakrylamidového gélu s kopolymerizovanou 0,2 % želatínou. Vzniknutý sendvič sa zalial inkubačným roztokom (40 mM Tris-HCl (pH 7,4), 20 mM NaCl a 5 mM CaCl₂) a inkuboval 16 hod pri 37 °C. Detekcia proteínových pásov v géli sa uskutočnila pomocou CBB G-250.

2.7 Charakterizácia citlivosti proteáz na inhibítory

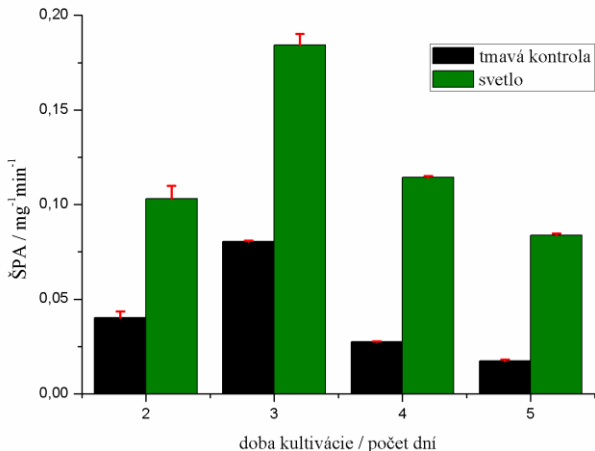
Na tieto experimenty sa využil samotný zymogram s rozdelnými proteázami, ktorý sa po skončení elektroforézy a odstránení SDS inkuboval (za podmienok popísaných pre želatínovú zymografiu) v prítomnosti štandardných inhibítorov proteáz: 1 mM PMSF (inhibitor proteáz serínového typu), 1 mM pCMB (inhibitor proteáz cysteínového typu), 1 mM EDTA (inhibitor metaloproteáz) a 1 µM pepstatin A (inhibitor proteáz aspartátového typu). Nasledovala inkubácia pri 37 °C po dobu 4 hodín a potom sa gély zafarbili a odfarbili ako je to popísané vyššie.

3 Výsledky práce

3.1 Porovnanie tvorby proteolytických enzýmov u kmeňov *T. atroviride* počas povrchovej kultivácie za rôznych svetelných podmienok

- Sledovanie zmien v úrovni proteolytickej aktivity myceliálnych homogenátov húb sledovaných pomocou chromogénneho substrátu, azokazeínu

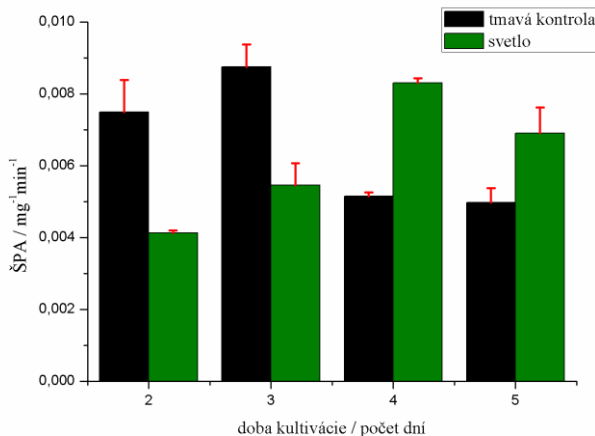
Primárnym cieľom bolo zistiť, či svetlo ovplyvňuje syntézu proteáz u húb z rodu *Trichoderma* a porovnať či dochádza k zmene v produkcii proteáz troch prírodných izolátov *T. atroviride* (F-534, LU132 a IMI 206040) počas ich vývoja a vo vzťahu k rozdielnym svetelným podmienkam. Za týmto účelom sa sledovala špecifická proteolytická aktivita (ŠPA) v homogenátoch mycelií získaných v rôznom štádiu vývoja (po 2, 3, 4 a 5 dňoch kultivácie) a kultivovaných za tmy (tento režim slúžil ako kontrola) a za nepretržitého svetla. V priebehu kultivácie F-534 za tmy sa zistilo, že úroveň ŠPA sa menila nepatrne. Najvyššia ŠPA bola zaznamenaná počas 3. dňa kultivácie a ďalšou kultiváciou došlo k poklesu proteolytickej aktivity (Obr. 1). Kultivácia huby za svetla viedla k výraznému zvýšeniu celkovej ŠPA v porovnaní s tmavou kontrolou počas celej povrchovej kultivácie. Najvyššia ŠPA sa zaznamenala na 3. deň kultivácie, potom nasledoval postupný pokles proteolytickej aktivity.



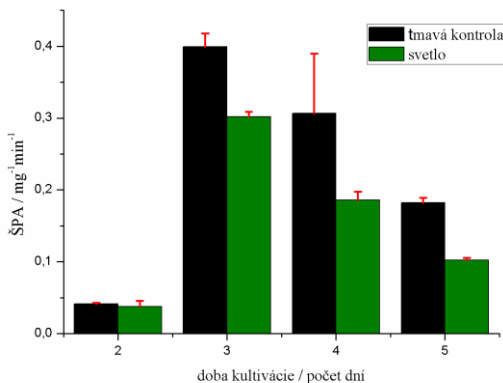
Obrázok 1: Závislosť špecifickej proteolytickej aktivity od doby povrchovej kultivácie *Trichoderma atroviride* F-534. Povrchová kultivácia prebiehala za tmy (kontrola) a za svetla

Kultivácia IMI206040 odhalila komplexnejšiu závislosť medzi ŠPA a dobou kultivácie. Ukázalo sa, že v počiatkových fázach rastu (po 2 a 3 dni) je úroveň ŠPA v myceliálnych homogenátoch takmer dvojnásobne vyššia v tmavej kontrole v porovnaní

s kultúrou vyrastenu za svetla (Obr. 2). Tento trend sa ďalšou kultiváciou zmenil a už na 4. a 5. deň kultivácie sa pozorovalo zvýšenie ŠPA v mycéliách exponovaných na svetlo a ku poklesu aktivity v tmavých kultúrach.



Obrázok 2: Závislosť špecifickej proteolytickej aktivity od doby povrchovej kultivácie *Trichoderma atroviride* IMI 2060400. Kultivácia prebiehala za tmy (kontrola) a za svetla.



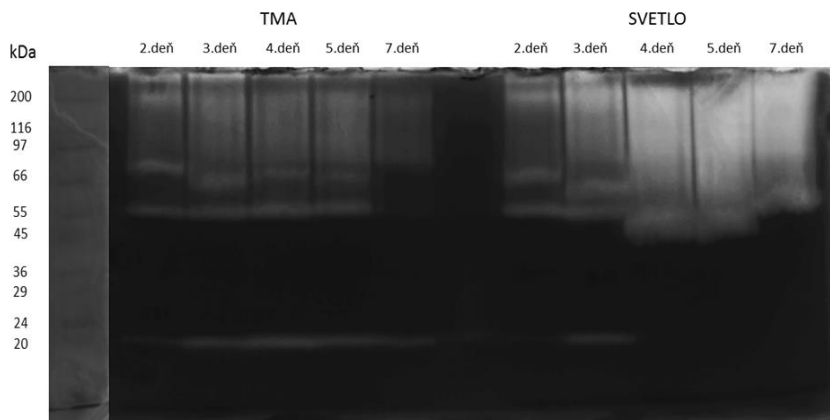
Obrázok 3: Závislosť špecifickej proteolytickej aktivity od doby povrchovej kultivácie *Trichoderma atroviride* LU132 a korelovanie s rôznymi svetelnými podmienkami (tmou a svetlom).

Prekvapujúco, stimulačný účinok svetla na produkciu proteolytickej aktivity chýbal v prípade kultivácie LU132 (Obr. 3), hoci samotná tvorba charakteristických konidiálnych

prstencov indukovaná svetlom sa u kmeňa pozorovala (výsledok nie je prezentovaný). Porovnanie ŠPA v homogenátoch mycélia kultivovaného za svetla a za tmy ukazuje, že v ranných štádiách rastu kultúry bola úroveň celkovej proteolytickej aktivity nízka a takmer rovnaká pre oba sledované svetelné režimy. Až ďalšia kultivácia viedla k vzrastu celkovej intenzity ŠPA, hoci vyššia aktivita sa zaznamenala v mycéliu kultivovaného za tmy.

- **Sledovanie zmien proteolytického profilu želatínovou zymografiou:**

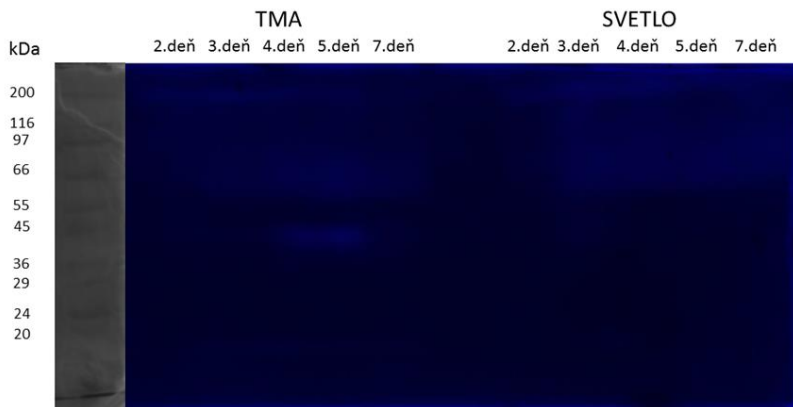
Získané výsledky indikujú, že svetlo počas vývoja kmeňov *T. atroviride* nejakým spôsobom reguluje syntézu proteáz, hoci táto regulácia sa medzi jednotlivými kmeňmi v rámci druhu *T. atroviride* zásadne líši. Ďalším čiastkovým cieľom bola komparatívna analýza proteolytického profilu študovaných kmeňov *T. atroviride* a charakterizácia katalytických vlastností detegovaných proteáz.



Obrázok 4: Zymografická analýza proteolytickej aktivity v homogenátoch z mycélia *T. atroviride* F-534 zozbieraného počas rôznych rastových fáz a kultivovaného za tmy (kontrola) resp. za svetla. Na analýzu sa použilo 50 µg bielkovín.

Na tento účel sa využila elektromigračná technika, zymografia. Zymografia využíva jednak schopnosť hydrolytických enzýmov odolávať denaturačnému účinku SDS a zároveň po jeho odstránení umožňuje aj na základe prítomnosti peptidového substrátu zabudovaného v štruktúre polyakrylamidového gélu detegovať proteolytickú aktivitu enzýmov. My sme sa zamerali na zmeny proteolytického profilu F-534 kultivovaného za odlišných svetelných podmienok. V tmavej kontrole sa objavilo niekoľko pásov PA, predstavujúcich prevažne vysokomolekulové enzýmy. Výrazný je aj pás nízkomolekulovej proteázy prítomnej v priebehu celej kultivácie tmavej kultúry. Prekvapujúco, tento pás sa pozoroval iba v počiatočných fázach rastu v mycéliu exponovaného na svetlo, v neskorších fázach rastu sa z profilu proteáz úplne vytratil. Vzhľadom k tomu, že elektroforéza je semikvantitatívna metóda, už na prvý pohľad sú viditeľné jasné rozdiely v intenzite detegovaných PA medzi tmavou kontrolou a kultúrou

exponovanou na svetlo. Zvýšenie PA vysokomolekulových proteolytických enzýmov v neskorších fázach rastu huby za svetla je najzreteľnejšou zmenou v porovnaní s tmavou kultúrou.



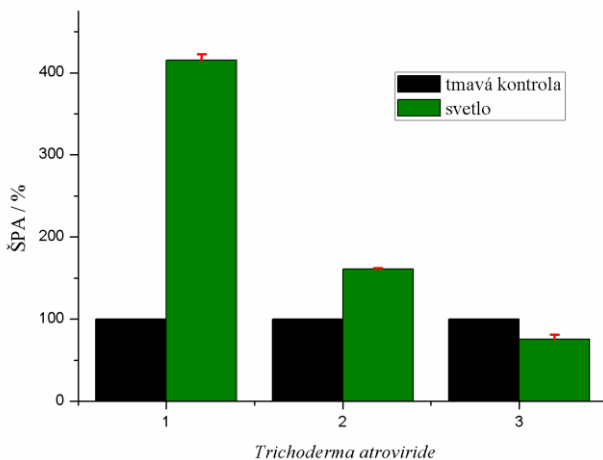
Obrázok 5: Zymografická detekcia profilu proteolytickej aktivity v tmavej kontrole a svetlom indukovanej konidiácii kmeňu *Trichoderma atroviride* F-534 založená na technike prevrstvenia polyakrylamidového gélu s rozdelenými bielkovinami s gélom obsahujúcim 0,2% želatínu. NA analýzu sa použilo 50 µg bielkovín.

Aby sa vylúčila možnosť, že sa proteolytické enzýmy počas elektroforézy neviažu na substrát zabudovaný v polyakrylamidovom gély, čo by spôsobilo ich obmedzenú pohyblivosť cez gél počas zymografie a viedlo k vzniku falošných pásov proteolytickej aktivity (zóny PA by nekorešpondovali s ich skutočnou molekulovou hmotnosťou), využila sa aj zymografická metóda založená na detekcii PA v štandardnom polyakrylamidovom gély bez proteínového substrátu, čo by vylúčilo akúkoľvek väzbu proteáz na substrát. V tejto metóde sa prítomnosť PA detegovala až po skončení elektroforézy bielkovín prevrstvením polyakrylamidu s čerstvou vrstvou gélu so substrátom. Hoci pásy PA na takto získanom zymograme nie sú ostré a majú skôr difúzny charakter (čo čiastočne komplikuje detekciu), je z nich na prvý pohľad jasné, podobne ako v prípade výsledkov z klasickej zymografie, že dominujú vysokomolekulové enzýmy, ktorých intenzita po osvetlení je zreteľne vyššia. Naopak, prítomnosť nízkomolekulových proteolytických enzýmov prevláda v tmavej kontrole, pričom ich tvorba sa v prítomnosti svetla skôr potláča.

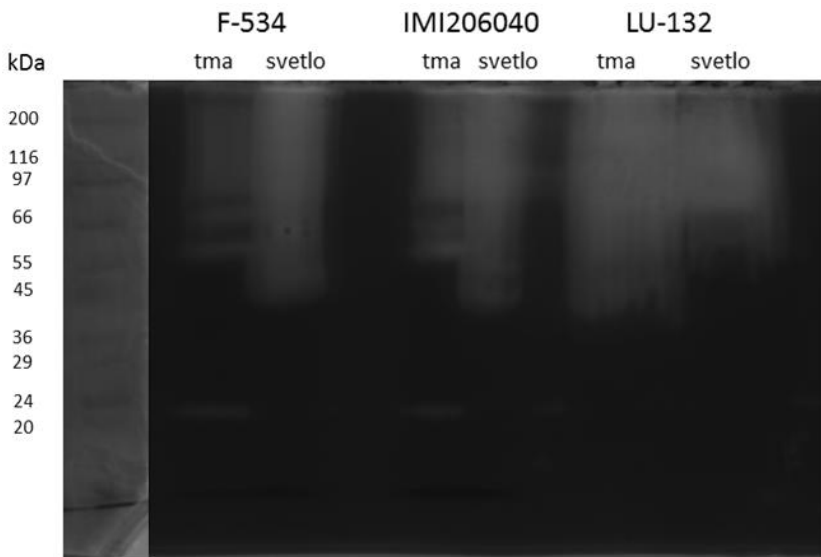
3.2 Porovnanie profilov proteolytických enzýmov kmeňov *T. atroviride* počas povrchovej kultivácie za rôznych svetelných podmienok

Meranie zmien intenzity ŠPA s azokazeínom ukázalo, že účinok svetla na syntézu proteáz počas vývoja kmeňov *T. atroviride* nie je uniformný, ale sa líši (Obr. 6). Porovnaním ŠPA pre študované kmene *T. atroviride* sa ukázalo, že kmeň F-534

najcitlivejšie reaguje na svetlo vo vzťahu ku syntéze proteáz, s čím veľmi dobre koreluje aj výsledok zymografie (obr. 7). Stimulačný účinok svetla na intenzitu ŠPA sa pozoroval aj v prípade kmeňa IMI206040, hoci v oveľa menšej miere ako u kmeňa F-534. Stimulačný efekt svetla na aktivitu prevažne vysokomolekulových proteolytických enzýmov sa u IMI 206040 prejavil aj na zymograme. Hodnotenie ŠPA na základe azokazeínu v prípade kmeňa LU132 odhalilo, že svetlo má skôr opačný účinok na celkovú ŠPA, ako u predchádzajúcich kmeňov, a tlmí celkovú ŠPA. Rovnaké rozdiely medzi profilom proteolytických aktivít získaných z mycélia LU132 kultivovaného za tmy a svetla sa pozorovali aj na zymograme. Kde boli rozdiely v intenzite PA v tmavej kultúre oproti svetlej kultúre oveľa výraznejšie.



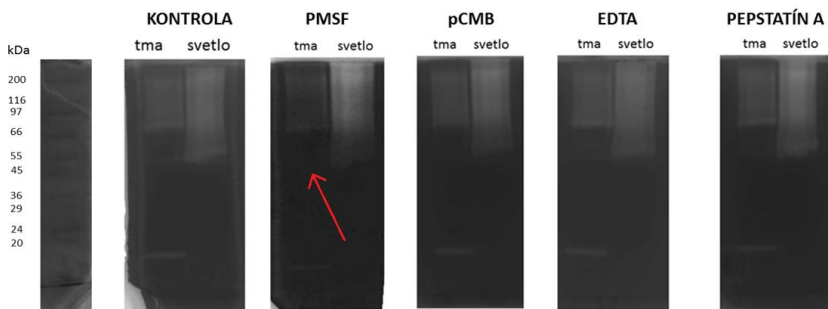
Obrázok 6: Porovnanie celkovej špecifickej proteolytickej aktivity homogénátov pripravených z povrchového mycélia kmeňov *Trichoderma atroviride* F-534 (1), IMI206040 (2) a LU132 (3). ŠPA je vyjadrená v %, ako percento z kontroly (tmavá kontrola je považovaná za 100% ŠPA). Na porovnanie sa použili ŠPA získané pre 4. dňové kultúry.



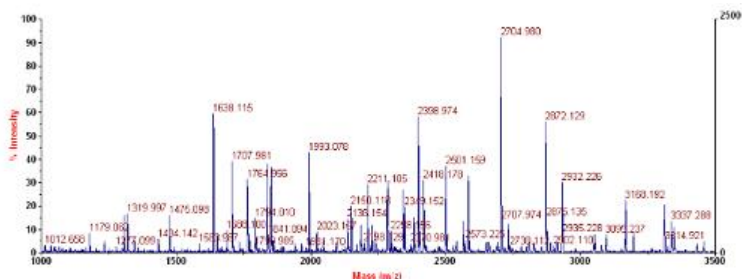
Obrázok 7: Zymografická analýza PA homogenátov pripravených z rôznych kmeňov *Trichoderma atroviride* (F-534, IMI206040, LU-132) kultivovaných za tmy alebo svetla.

3.3 Charakterizácia typu proteolytických enzýmov

Našou snahou bolo charakterizovať aj katalytický typ proteáz, ktoré sa prednostne tvoria počas kultivácie *T. atroviride* F-534 za svetla a za tmy. Na tento experiment sa využilo viacero známych inhibítorov proteáz, (PMSF, pCMB, EDTA a pepstatin A) a sledoval sa ich účinok na PA pomocou zymografie. Hoci sa určité rozdiely v intenzite PA na zymografickom gély medzi kontrolou a gélymi vystavenými pôsobeniu týchto inhibítorov pozorovali, iba v prípade PMSF došlo ku kompletnej inhibícii PA. Tento typ proteázy prítomný v tmavej kontrole patrí medzi proteázy serínového typu. V ostatných prípadoch pôsobenia inhibítorov nedošlo ku výraznejším zmenám v intenzite PA. Na základe získaných výsledkov zymografie sa zdá, že proteolytický profil získaný pre myceliálne homogenáty F-534, sa z veľkej časti formuje už počas samotnej elektroforetickej separácie, kedy inhibítory ešte neboli prítomné. Preto ich účinok, počas inkubácie s gélom nemá výrazný vplyv na PA enzýmov inkorporovaných v polyakrylamidovom gély. Identifikáciu vybraných bielkovinových pásov, ktoré na zymograme komigrovali s PA, sme sa pokúsili identifikovať pomocou hmotnostnej spektrometrie technikou peptidového mapovania a čiastočnou sekvenciou. Analýza hmotnostných spektier bielkovinových vzoriek momentálne prebieha.



Obrázok 8: Porovnanie účinku inhibítorov proteáz na proteolytickú aktivitu homogenátov *T. atroviride* F-534 detegovanú želatínovou zymografiou. Nasledovné inhibítory boli testované PMSF- inhibítor serínových proteáz (1 mM), pCMB- inhibítor cysteínových proteáz (1 mM), EDTA- inhibítor metaloproteáz (1 mM) a pepstatín A- inhibítor aspartátových proteáz (1 μ M). Červenou šípkou je vyznačené miesto inhibovaného pásu.



Obrázok 9: Hmotnostné spektrum bielkovinového pásu vyrezaného z polyakrylamidového gélu (po elektroforéze homogenátu mycélia *T. atroviride* F-534 kultivovaného za svetla) a komigrujúceho s pásom PA na zymograme. Bielkovina bola štiepená s trypsinom a analyzovaná MALDI-TOF.

4 Záver

Sledovaním proteolytickej aktivity a zymografickou analýzou homogenátov pripravených z mycélia *T. atroviride* (F-534 a IMI206040) v rôznych vývojových štádiách rastu a kultivovaných za rôznych svetelných podmienok sme zistili, že svetlo indukujú tvorbu vysokomolekulových proteolytických enzýmov, ktoré sa za tmy produkujú v obmedzenej miere. Výnimkou bol kmeň *T. atroviride* LU132, v prípade ktorého svetlo malo skôr opačný účinok, čo indikuje, že účinok svetla na produkciu proteáz nie je univerzálny a aj v rámci tohto druhu existujú značné rozdiely. Napriek tomu, že citlivosť myceliálnych homogenátov na inhibítory proteáz boli nepatrné, zo zmien intenzity

proteolytickej aktivity na zymografickom gély je zrejmé, že *T. atroviride* produkuje viacero typov proteáz, ktoré sa líšia v závislosti od svetelného režimu.

5 Literatúra

1. Kullnig C., a kol.: Enzyme diffusion from *Trichoderma atroviride* (= *T. harzianum* P1) to *Rhizoctonia solani* is a prerequisite for, triggering of *Trichoderma ech42* gene expression before mycoparasitic contact. *Appl. Environ. Microbiol.*, *Appl Environ Microbiol.* 2000 May. **66**(5): p. 2232-4.
2. Tisch D., Schmoll M.: Light regulation of metabolic pathways in fungi, *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2010 Feb. **85**(5): p. 1259–1277
3. SCHUSTER, A., SCHMOLL, M., *Biology and biotechnology of Trichoderma*, *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2010. **87**, p. 787–799
4. Bradford, M.M., *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*. *Analytical Biochemistry*, 1976. **72**: p. 248-252.
5. Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970. **227**(5259): p. 680-685.

Podakovanie

Táto práca vznikla s podporou projektu APVV-0719-12.

Využitie magnetických častíc pre izoláciu DNA zo sušenej papriky

Bc. Martina Gaňová
RNDr. Aleš Kovařík, CSc., doc. RNDr. Alena Španová, CSc.,
doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká Republika
xcganova@fch.vut.cz

Izolácia DNA z rastlinného pletiva v požadovanej kvalite je veľmi komplikovaná, hlavne z dôvodu prítomnosti látok, ktoré môžu interferovať pri amplifikácii DNA. Týmito látkami sú hlavne polyfenoly, polysacharidy, proteíny a rôzne farbivá. Chemická rôznorodosť takýchto látok môže mať významný vplyv na výťažok a kvalitu DNA pri použití jedného izolačného postupu. Hlavným cieľom práce bolo vyhodnotiť použitie jedného izolačného protokolu u príbuzných matric na kvalitu izolovanej DNA ako aj zhodnotenie vplyvu inhibítorov izolovaných spolu s nukleovou kyselinou na jej amplifikáciu v polymerázovej reťazovej reakcii (PCR).

DNA bola izolovaná z troch potravinárskych produktov papriky (*Capsicum annuum*): sušená paprika sladká, sušená paprika pikantná a žitavská paprika sladká. V prvej fáze bolo pletivo homogenizované s použitím lyzačného roztoku s cetyl trimetyl amónium bromidom (CTAB). Následne bola DNA purifikovaná pomocou reverzibilnej adsorbcie na magnetické nosiče. Celkom bolo testovaných šesť rôzne modifikovaných nosičov. Koncentrácia a čistota získanej DNA bola stanovená spektrofotometricky meraním absorpcie roztoku DNA v TE pufré. Kvalita rastlinnej DNA bola overená amplifikáciou v PCR. Boli použité priméry špecifické pre rastlinnú ribozomálnu DNA (rDNA). Priméry F_18S a R_5,8S amplifikovali úseky intragenového transkribovaného medzerníku (ITS1) o dĺžke 700 bp. Prítomnosť a správna veľkosť produktov PCR bola dokázaná agarózovou gélovou elektroforézou.

Bolo zistené, že použitou mikrometódou je možné izolovať DNA odpovedajúcej čistoty, ktorá je vhodná pre genetickú analýzu pomocou PCR. Boli zistené rozdiely medzi magnetickými nosičmi, ktoré boli testované pre izoláciu DNA.

Kľúčové slová: paprika, izolácia DNA, magnetické častice, PCR

Monitoring psychoaktívnych látok na území Moravy

Bc. Nikolas Gróf
doc. Ing. Tomáš Mackuřák, PhD.

*Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
oddelenie environmentálneho inžinierstva
Radlinského 9, 812 37 Bratislava
nikolas.grof@gamil.com*

1 Úvod

Vplyvom rôznych faktorov (pH, prítomnosť rôznych mikroorganizmov, oxidačno redukčný potenciál, teplota, zdržná doba) sa rozloží v kanalizácii len malá časť liečiv a drog. Na čistiarniach odpadových vôd sa na mechanickom stupni odstraňujú tuhé nečistoty, piesok a tuky. Následne sa odpadová voda čistí biologicky. Na biologickom stupni sa odstraňujú amoniak, fosforečnany, dusičnany, cukry, tuky a bielkoviny s vysokou účinnosťou. V súčasnej dobe je na biologickom stupni veľký problém odstrániť mikropolutanty (pesticídy, liečivá, drogy a iné látky)¹. Vody obsahujúce mikropolutanty môžu kontaminovať vodný ekosystém, v ktorom sa mikropolutanty môžu akumulovať v bunkách živočíchoch².

Droga je akákoľvek látka, upravená surovina nerastného, rastlinného alebo živočíšneho pôvodu, ktorá je, po vstupe do živého organizmu, schopná zmeniť jednu alebo viac jeho funkcií. Podľa tejto definície možno za drogy považovať všetky prírodné, polosyntetické a syntetické látky, ktoré akýmkoľvek spôsobom vpravené do organizmu môžu za určitých okolností vyvolať chorobný stav - závislosť, psychickú alebo fyzickú tým, že účinkujú priamo alebo nepriamo na centrálny nervový systém³.

2 Experimentálna časť

2.1 Odber vzoriek a ich analýza

Odber vzoriek na monitoring a spotrebu vybraných piatich psychoaktívnych látok prebiehala na 3 čistiarniach odpadových vôd (ČOV) situovaných na území Českej republiky. Vzorky boli odoberané na prítoku na čistiareň pomocou automatického odberového zariadenia (24-hodinové zlievané vzorky v čase od 7:00 do 7:00). Odber vzoriek a ich analyzovanie prebiehalo od júla do septembra 2014. Získane vzorky boli v prvom kroku zamrazené na teplotu -4°C a následne prevezené do laboratória. V ďalšom kroku boli vzorky analyzované pomocou prístroja LC – MS/MS.

Analýza vzoriek: k 10 ml homogenizovanej a filtrovanej (filter GFC, 0,45 μm) vzorke boli pridané izotopovo značné interné štandardy. Takto predupravené vzorky boli analyzované v systéme SPE HPLC v tandeme s hybridným quadrupolovaným (Orbitrap) – ultra citlivým hmotnostným spektrometrom. Tento postup umožňuje kvantitatívne analyzovať vybrané psychoaktívne látky resp. ich metabolity v odpadových vodách vo veľmi nízkych koncentráciách (jednotky či desiatky ng l^{-1})



Obrazok 1. Orbitrap – Thermo Fisher

2.2 Výsledky a diskusia

Grafy č. 1 - 6 popisujú časový priebeh zmeny množstva látok kotinín, amfetamín, MDA, metamfetamín, kokaín a THC – COOH v odpadových vodách. Najvyššie hodnoty látky kotinín boli detegované na ČOV Zubří, kde zaťaženia na 1 000 obyvateľov sa pohybovali v rozmedzí od 1 100 do 1 900 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹. Najnižšie hodnoty boli namerané v ČOV Valašské Medziříčí (od 420 do 980 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹).

Pre látky amfetamín a metamfetamín bolo počas celého týždňa zaznamenané približne rovnaké množstvo zaťaženia. Najvyššie zaťaženie bolo namerané v pondelok na ČOV Zubří pre látku amfetamín 23 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹ a pre metamfetamín 264 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹. Naopak najnižšie zaťaženie bolo detegované na ČOV Valašské Medziříčí v stredu pre látku amfetamín 9 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹ a pre metamfetamín 168 mg d^{-1} 1 000 obyvateľov⁻¹.

Látka MDA bola zistená iba u dvoch z troch sledovaných ČOV t.j. ČOV Valašské Medziříčí a ČOV Zubří. Zaťaženia sa počas celého týždňa výrazne nezmenilo. Zlom nastal

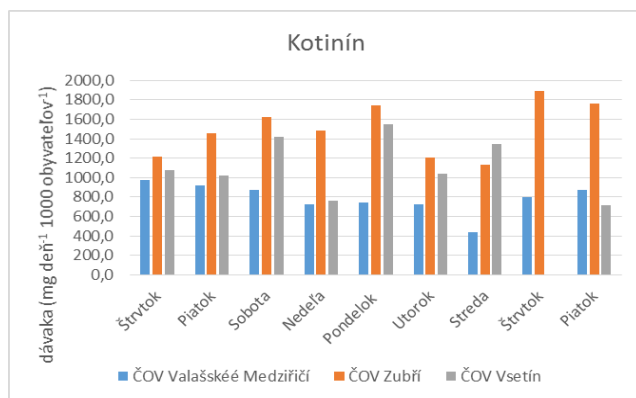
v nedeľu, kedy zaťaženie nadobudlo hodnotu $8,3 \text{ mg d}^{-1} 1000 \text{ obyvateľov}^{-1}$. V tento deň v okolí ČOV Valašské Medziříčí prebiehal festival s názvom Guláš Fest.

Látka kokaín sa vyskytovala počas celého týždňa iba v ČOV Valašské Medziříčí a ČOV Vsetín. V niektoré dni zaťaženie látky kokaín bolo pod detekčným limitom.

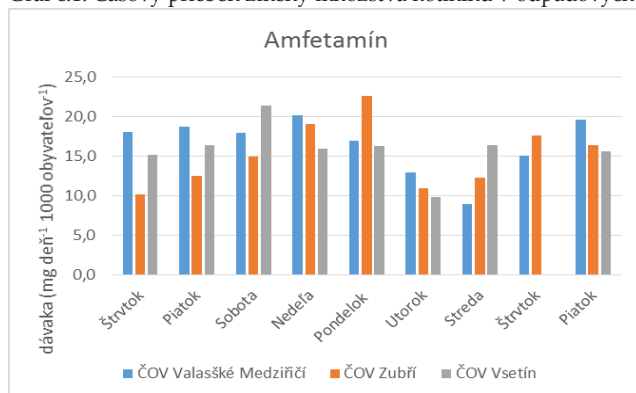
Látka THC – COOH bola počas celého týždňa nameraná v rozmedzí od 18 do 68 $\text{mg d}^{-1} 1000 \text{ obyvateľov}^{-1}$, najvyššia dávka bola detegovaná v stredu na ČOV Vsetín.

V dňoch od 18.7.2014 do 20.7.2017 prebiehal v okolí ČOV Valašské Medziříčí festival s názvom Guláš Fest. Počas týchto dní v prítoku na ČOV nebolo zaznamenané zvýšene množstvo látok kotinín, amfetamín kokaín a THC – COOH. Naopak zvýšenému zaťaženiu došlo v prípade látok metamfetamín a MDA.

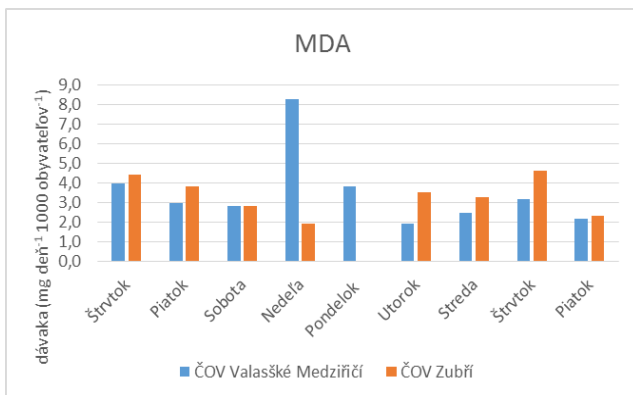
V okolí ČOV Zubří v dňoch 16. - 18.8.2014 prebiehal festival Vadlaalfest. Počas festivalu nastalo zvýšenie výskytu látok ako amfetamín, metamfetamín a THC – COOH.



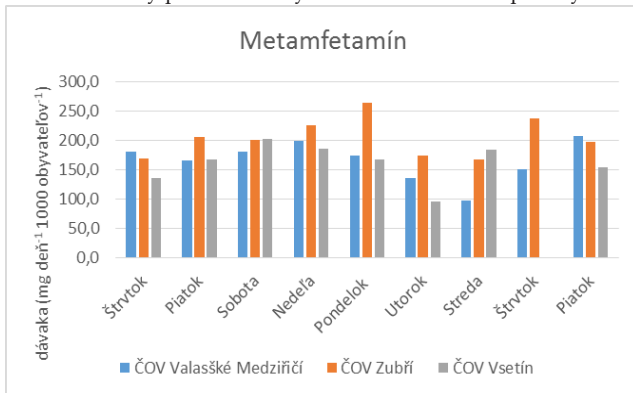
Graf č.1: Časový priebeh zmeny množstva kotinínu v odpadových vodách



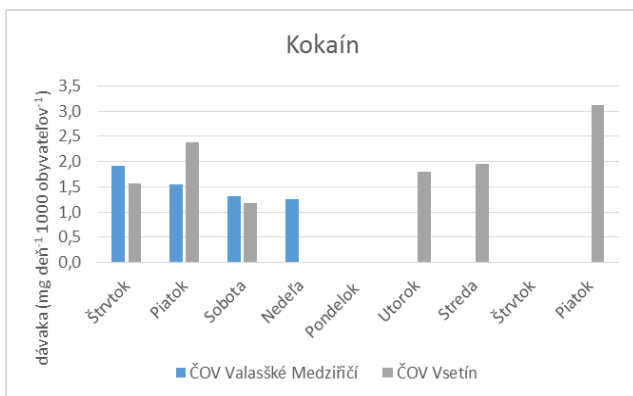
Graf č.2: Časový priebeh zmeny množstva amfetamínu v odpadových vodách



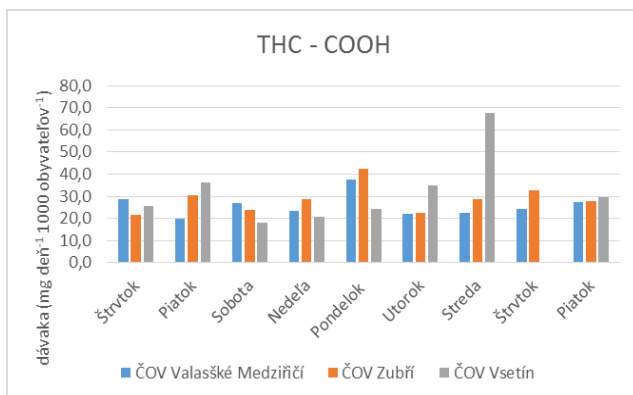
Graf č.3: Časový priebeh zmeny množstva MDA v odpadových vodách



Graf č.4: Časový priebeh zmeny množstva metamfetamínu v odpadových vodách



Graf č.5: Časový priebeh zmeny množstva kokaínu v odpadových vodách



Graf č.6: Časový priebeh zmeny množstva THC – COOH v odpadových vodách

4 Záver

Táto práca sa zaoberá monitoringom vybraných druhov drog na prítoku ČOV na území Moravy. Vzorky sa odoberali z troch ČOV - ČOV Valašské Medziříčí, ČOV Zubří a ČOV Vsetín. Odber vzoriek prebiehal pomocou kontinuálneho odberového zariadenia každých 30 minút počas 24 hodín. Analýza vzoriek sa uskutočňovala prístrojom LC – MS/MS.

Práca sa zaoberala sledovaním psychoaktívnych látok ako: kotinín, amfetamín, MDA, metamfetamín, kokaín a THC – COOH. Zo všetkých detegovaných látok najvyššie zaťaženie bolo zistené u látky kotinín, kde sa jej množstvo pohybovalo v rozmedzí od 420 do 1 900 mg d⁻¹ 1 000 obyvateľov⁻¹. Najnižšie bolo detegované pre látku kokaín, kedy jej množstvo v niektorých dňoch bolo pod hranicou detekcie. Tento fakt môže mať za následok to, že kokaín patrí medzi najdrahšie drogy⁴.

Z výsledkov vyplýva, že počas festivalu Guláš Fest bola najviac využívaná látka metamfetamín v tesnom závесе za ňou je látka MDA. V priebehu festivalu Vandaalfest bolo zistené najväčšie zaťaženie látkou metamfetamín. Značný nárast zaznamenali aj látky amfetamín a THC – COOH. Na základe týchto výsledkov si dovoľujeme tvrdiť, že metamfetamín je tzv. víkendovou - festivalovou drogou.

5 Literatúra

1. BISESI, J. H. et al. Effects of the antidepressant venlafaxine on fish brain serotonin and predation behavior. In: Aquatic Toxicology. 148, 2014, s. 130 - 138.
2. LI, W. et al. Occurrence of antibiotics in water, sediments, aquatic plants, and animals from Baiyangdian Lake in North China. In: Chemosphere. 89 (11), 2012, s. 1307 - 1315.
3. Drogový informačný portál
<http://www.infodrogy.sk/ActiveWeb/SlovníkPojmov/d/#D>. Citované 5.3.2017

4. Drogový informačný portál
<http://www.infodrogy.sk/narodnasprava/index.cfm?module=ActiveWeb&page=Webpage&s=05partA103>. Citované 5.3.2017

Využití magnetických částic při izolaci DNA z rybízových džemů

Bc. Aneta Hronová

RNDr. Aleš Kovařík, CSc., doc. RNDr. Alena Španová, CSc.,

doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00, Brno, Česká republika
xchronova@fch.vutbr.cz*

Při identifikaci falšovaných potravin se v poslední době začínají uplatňovat metody založené na genetické analýze. Podmínkou úspěšné analýzy je dostupnost kvalitní DNA. Izolace DNA z tepelně zpracovaných výrobků rostlinného původu je však velmi komplikovaný proces. Hlavním problémem je skutečnost, že rostlinné tkáně obsahují velké množství látek, které nepříznivě ovlivňují kvalitu a amplifikovatelnost DNA v polymerázové řetězové reakci (PCR). Jedná se především o polyfenoly, polysacharidy a proteiny. Z tohoto důvodu je nutné tyto látky ze vzorku odstranit nebo alespoň snížit jejich množství. Další překážkou při izolaci DNA je její degradace, ke které dochází během přípravy a během tepelného zpracování potravinového výrobku.

Cílem práce byla izolace DNA za pomoci magnetických částic z tepelně zpracovaných potravinových výrobků (džemů) vhodná pro PCR a další analýzy. Pro analýzu byly vybrány rybízové džemy, které byly připraveny různými postupy (přítomnost či nepřítomnost ztužovačích přípravků). Džemy byly za chladu homogenizovány různými postupy a získané homogenáty byly následně použity pro izolaci DNA magnetickými částicemi. Byly provedeny dva typy homogenizace – plastový kopist a stomacher. K homogenátu byl přidán lyzační roztok, který ze vzorku odstraňuje polysacharidy a polyfenoly. Jedná se o komplexní roztok obsahující cetyl trimetyl amonium bromid (CTAB) s přísadkou merkaptoethanolu. Dále byl testován vliv chloroform-oktanolu a izopropanolu na deproteinizaci vzorku. Po odstředění komplexů CTAB s proteiny, polyfenoly a polysacharidy byla hrubá frakce DNA purifikována vazbou na magnetické částice. Byly testovány dva druhy magnetických nosičů: mikročástice poly(hydroxyethylmethakrylát-co-glycidylmethakrylát) P(HEMA-co-GMA) a nanočástice oxidů železa pokryté poly(L-lysinem).

Izolovaná DNA byla podrobena spektrofotometrické analýze, kde byla zjišťována její koncentrace a stupeň kontaminace polyfenoly a proteiny. Poté byla testována amplifikovatelnost DNA v reakci PCR. Pro amplifikaci byly využity primery specifické pro rostlinnou ribosomální DNA (dvojice primerů 18S_for a 5.8S_rev amplifikující podoblast ITS1). Produkty PCR s očekávanou délkou 700 bp byly detekovány agarózovou gelovou elektroforézou. V práci bylo prokázáno, že z džemů lze pomocí testovaných magnetických nosičů izolovat DNA v dostatečné kvalitě vhodné pro PCR.

Klíčová slova: izolace DNA, magnetické mikročástice, magnetické nanočástice, PCR

Možnosti využití iontových kapalin pro separaci biocidů na bázi halogenovaných organických kyselin z vod

Barbora Kamenická

Tomáš Weidlich

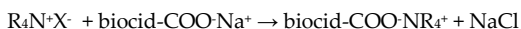
Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Studentská 95, Pardubice 532 10

st38856@student.upce.cz

1 Úvod

Jedním z parametrů, kterým se hodnotí míra znečištění povrchových a podzemních vod, je souhrnný parametr AOX (adsorbovatelné organické halogeny), který posuzuje koncentraci halogenovaných organických sloučenin přítomných ve vodách. Výskyt halogenovaných organických sloučenin ve vodách je obvykle výsledkem lidské činnosti. Nevýhodou látek typu AOX je jejich špatná biologická odbouratelnost a často i významná biologická aktivita. Jedním ze zdrojů AOX ve vodách je aplikace biocidů v zemědělství. Biocidy jsou prostředky určené k hubení rostlinných a živočišných škůdců. Použití biocidů jsou vystaveny všechny složky biosféry – vzduch, voda, půda, rostliny a živočichové¹. Mezi běžně používané biocidní (herbicidní) přípravky patří látky na bázi halogenovaných organických kyselin, jako jsou Picloram nebo Clopyralid. Picloram (4-amino-3,5,6-trichlorpyridin-2-karboxylová kyselina) je systémový herbicid používaný především pro regulaci růstu dřevin². Clopyralid (kyselina 3,6-dichlorpyridin-2-karboxylová) je selektivní herbicid používaný pro kontrolu růstu širokolistých plevelů, zejména bodláků a jetelovin. Clopyralid je známý pro svou schopnost přetrvávat v odumřelých rostlinách a kompostu³. Přítomnost pesticidů v povrchových a podzemních vodách je důsledkem nárůstu aplikace těchto chemikálií při zemědělských činnostech. Tento fakt přispěl k vývoji mnoha technologií použitelných k nápravě nebo prevenci přítomnosti pesticidů ve vodách^{1,4}. Jedna z možných metod použitelných pro odstraňování halogenovaných organických kyselin a jejich solí z vod je použití iontové výměny. Mohou být použity kapalné iontoměniče, tzv. iontové kapaliny⁵, což jsou organické soli (např. některé kvartérní amoniové soli $R_4N^+X^-$), jejichž bod tání se pohybuje pod teplotou 100 °C. Mezi typické vlastnosti iontových kapalin lze zařadit mimo jiné velmi nízkou tenzi par a nehořlavost, takže při jejich aplikaci nedochází k unikům těkavých organických látek do ovzduší ani nehrozí požární rizika. Iontové kapaliny mají schopnost výměny aniontu, při které dochází ke změnám jejich fyzikálních a chemických vlastností⁶.



Při výměně aniontu použité iontové kapaliny (obvykle halogenidu) za

halogenovaný organický anion dochází k poklesu polarity doprovázeného poklesem rozpustnosti vznikajícího iontového páru ve vodě, čehož lze využít pro snadnou separaci halogenovaných organických kyselin a jejich solí z vodných roztoků⁷. Pro dosažení maximálního účinku separace iontových párů halogenovaných organických kyselin s iontovými kapalinami lze aplikaci iontových kapalin kombinovat s koagulací a flokulací s použitím levných železitých nebo hlinitých solí. Ty zlepšují separovatelnost vznikajícího iontového páru, který je sorbován na vločky vznikajícího $\text{Fe}(\text{OH})_3$ nebo $\text{Al}(\text{OH})_3$, což umožňuje snadnou separaci vznikajících iontových párů sedimentací⁷.

Běžně používanou technologií k odstraňování organických halogenovaných znečišťujících látek z vod je adsorpce na aktivní uhlí. Samotné adsorpce na aktivní uhlí lze proto využít i pro separaci biocidních látek na bázi halogenovaných organických kyselin z vod⁸. Nevýhodou aktivního uhlí je jeho malá polarita, proto je účinnost sorpce halogenovaných organických kyselin ovlivňována hodnotou pH vod natékajících do procesu sorpce, přičemž optimální pro adsorpci je pH v oblasti 2-3, při vyšších hodnotách pH velmi výrazně klesá účinnost sorpce. Tuto nevýhodu lze eliminovat tvorbou iontových párů biocid- COO-NR_4^+ , které mají výrazně nižší polaritu než původní sůl halogenované organické kyseliny (biocid- COO-Na^+), takže jsou účinně sorbovány i na aktivní uhlí v širokém rozsahu pH.

2 Experimentální část

Cílem práce bylo ověření schopnosti odstranění Picloramu (4-amino-3,5,6-trichlorpyridin-2-karboxylová kyselina) a Clopyralidu (kyselina 3,6-dichlorpyridin-2-karboxylová) z vodných roztoků pomocí iontových kapalin jako je například Aliquat 336, benzalkonium chlorid, dilauryldimethylamonium bromid, didecyldimethylamonium bromid, alkyldimethylbenzylkonium chlorid nebo cetyltrimethylamonium bromid. Bylo testováno využití těchto iontových kapalin spolu s aktivním uhlím nebo křemelinou. Byly též provedeny experimenty využívající kombinaci působení iontové kapaliny a anorganického koagulantu jako je síran železitý nebo hlinitý. Pro porovnání byly provedeny i experimenty, kdy byla separace biocidních látek z vod testována bez iontových kapalin pomocí aktivního uhlí. Účinnost jednotlivých procesů separace těchto dvou herbicidů byla hodnocena na základě stanovení parametru AOX ve vodných vzorcích.

2.1 Chemikálie a materiál

Byly použity tyto chemikálie a materiál: práškové aktivní uhlí Silcarbon CW 20, granulované aktivní uhlí Hydraffin CC 8x30, křemelina, hydroxid sodný (pecičkový), Aliquat 336, benzalkonium chlorid (BAC), dilauryldimethylamonium bromid (DDAB), didecyldimethylamonium bromid (DDAB), alkyldimethylbenzylkonium chloridu (ADBAC), cetyltrimethylamonium bromid (CTAB), síran železitý, síran hlinitý, Picloram, Clopyralid (přípravek Lontrel).

2.2 Laboratorní potřeby

Ke stanovení parametru AOX ve vodách před a po separaci biocidů byl použit analyzátor AOX Multi X 2500 (Analytic Jena AG). Dále bylo použito běžné laboratorní vybavení: elektromagnetické míchadlo, Starfish nástavec, baňky, kádinky, pipety,

odměrné válce, odměrné baňky, analytické váhy, filtrační papír, nálevky, Erlenmeyerovy baňky, skleněné lahvičky se zábrusem, chloralkalciové trubice plněné granulovaným aktivním uhlím.

2.3 Separace Picloramu

Pro provedení jednotlivých technik separace Picloramu z vod byl použit zásobní roztok 0,1 mM Picloramu rozpuštěného v 0,5 mM vodném roztoku NaOH. Do litrové odměrné baňky bylo předloženo 0,49 g Picloramu a přidáno 0,48 g pecičkového NaOH. Dále bylo přidáno 800 ml demineralizované vody a po rozpuštění látek na vodní lázni při 70 °C byla baňka doplněna vodou po rysku. Z tohoto připraveného roztoku Picloramu bylo odebráno 30 ml a k tomu bylo přidáno 30 ml vody. V takto zředěném roztoku byl stanoven parametr AOX pro porovnání účinnosti jednotlivých metod (viz tab. 1, experiment 0).

Sorpce na aktivní uhlí

Byly provedeny dva experimenty s použitím samotného práškového nebo granulovaného aktivního uhlí:

Do první 250ml kulaté baňky s míchadélkem byly naváženy 2 g práškového aktivního uhlí a následně přidáno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH a 50 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 60 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 1).

Do druhé 250ml kulaté baňky s míchadélkem byly naváženy 2 g granulovaného aktivního uhlí a následně přidáno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH a 50 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 68 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 2).

Aplikace iontových kapalin s následnou adsorpcí na aktivní uhlí

Byly provedeny tři experimenty aplikace iontových kapalin (dilauryldimethylamonium bromidu, Aliquatu 336 a benzalkonium chloridu) s následnou adsorpcí na práškové či granulované aktivní uhlí:

Do první 250ml kulaté baňky s míchadélkem byly naváženy 2 g práškového aktivního uhlí a následně přidáno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH, 20 ml 5mM roztoku dilauryldimethylamonium bromidu a 30 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 65 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 3).

Do druhé 250ml kulaté baňky s míchadélkem byly naváženy 2 g práškového aktivního uhlí a 0,08 g Aliquatu 336. Následně bylo přidáno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH a 50 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 63 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 4).

Do třetí 250ml kulaté baňky s míchadélkem byly naváženy 2 g granulovaného aktivního uhlí a následně přidáno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH, 0,3 ml 80mM roztoku benzalkonium chloridu a 50 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 70 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 5).

Aplikace směsi iontových kapalin v kombinaci se síranem železitým

Do 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 50 ml zásobního roztoku 0,1 mmol Picloramu rozpuštěného v 0,5 mmol NaOH. Následně bylo do baňky přidáno 0,5 ml 10mM směsného vodného roztoku Aliquatu s 100mM benzalkonium chloridem rozpuštěným v 0,4M roztoku síranu železitého. Dále bylo do reakční směsi přidáno 49,5 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 75 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 1, experiment 6).

2.4 Separace Clopyralidu

Pro provedení jednotlivých technik separace Clopyralidu z vod byl použit zásobní roztok 0,1 mmol Clopyralidu (10mM roztok přípravku Lontrel). U tohoto roztoku Clopyralidu byl stanoven parametr AOX pro porovnání účinnosti jednotlivých metod (viz tab. 2, experiment 0).

Aplikace koagulantů v kombinaci s aktivním uhlím

Byly provedeny čtyři experimenty aplikace koagulantů (síran hlinitý či železitý) s následnou adsorcí na práškové aktivní uhlí:

Do první 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml 0,4 M vodného roztoku $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 4,2. Proto bylo pH upraveno 1,6 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 8,8. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 75 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 1).

Do druhé 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 2 ml 0,4M vodného roztoku $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 3,3. Proto bylo pH upraveno 2,7 ml 10% roztoku

NaOH na hodnotu pH 10,1. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 65 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 2).

Do třetí 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml vodného roztoku 0,4M $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 4,18. Proto bylo pH upraveno 1 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 6,08. Dále bylo k reakční směsi naváženo 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 68 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 3).

Do čtvrté 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 2 ml vodného roztoku 0,4M $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 3,99. Proto bylo pH upraveno 1,55 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 5,11. Dále bylo k reakční směsi naváženo 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 65 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 4).

Aplikace iontových kapalin v kombinaci s křemelinou

Byly provedeny tři experimenty využívající křemelinu spolu s iontovými kapalinami (Aliquat 336, benzalkonium chlorid nebo cetyltrimethylamonium bromid):

Do první 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel. Dále bylo do baňky přidáno 0,45 g Aliquatu 336, 2,1 g křemeliny a 90 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 61 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 5).

Do druhé 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml roztoku 10 mM roztoku přípravku Lontrel. Dále bylo do baňky přidáno 1,98 g křemeliny, 0,2 ml směsného vodného roztoku 0,4 M benzalkonium chloridu s 0,1 M Aliquatem 336 a 90 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 65 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 6).

Do třetí 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel. Dále bylo do baňky přidáno 2 g křemeliny, 0,6 ml směsného vodného roztoku 0,1 M cetyltrimethylamonium bromidu s 0,05 M Aliquatem 336 a 90 ml demineralizované vody. Tato reakční směs byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 71 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný

filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 7).

Aplikace iontových kapalin v kombinaci s koagulanty a následnou adsorpcí na aktivní uhlí

Byly provedeny čtyři porovnávací experimenty využití iontových kapalin v kombinaci s koagulanty a následnou adsorpcí na práškové aktivní uhlí:

Do první 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml roztoku obsahujícího 0,05 mol $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (tj. 0,2M roztok) a 0,025 mol alkyldimethylbenzylamonium chloridu (tj. 0,1M roztok). V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 4,18. Proto bylo pH upraveno 1,4 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 5,7. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí, přidán 1 ml 0,4M roztoku $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 66 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 8).

Do druhé 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml roztoku obsahujícího 0,05 mol $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (tj. 0,2M roztok) a 0,025 mol alkyldimethylbenzylamonium chloridu (tj. 0,1M roztok). V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 4,27. Proto bylo pH upraveno 0,5 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 5,04. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 62 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 9).

Do třetí 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml 10mM směšného vodného roztoku Aliquatu s 100 mM benzalkonium chloridem rozpuštěným v 0,4M roztoku $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 3,09. Proto bylo pH upraveno 3,2 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 6,38. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí. Tato reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 68 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 10).

Do čtvrté 250ml kulaté baňky s míchadélkem bylo odměřeno 10 ml roztoku 10 mM roztoku přípravku Lontrel a 1 ml roztoku $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. V této reakční směsi byla změřena hodnota pH, která činila 1,9. Proto bylo pH upraveno 2,7 ml 10% roztoku NaOH na hodnotu pH 6,2. Dále byl k reakční směsi přidán 1 ml 0,05M roztoku didicyldimethylamonium bromidu rozpuštěného v 0,4M roztoku $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Dále byl k reakční směsi navážen 1 g práškového aktivního uhlí. Reakční směs byla doplněna demineralizovanou vodou na objem 100 ml a byla míchána na elektromagnetickém míchadle po dobu 68 minut při 400 otáčkách. Následně byla zfiltrována přes skládaný

filtr. V získaném vodném filtrátu bylo provedeno stanovení parametru AOX (viz tab. 2, experiment 11).

3 Výsledky

Všechna získaná data ze stanovení parametru AOX před a po separaci Picloramu a Clopyralidu z vod jsou uvedena v následujících tabulkách 1 a 2.

Tabulka 1: Výsledné hodnoty měřeného parametru AOX při separaci Picloramu

Číslo experimentu	Odstraňovaný biocid+použitá činidla	AOX [mg/l]
0	Zásobní roztok Picloramu	63,7
1	Picloram + práškové AU	3,11
2	Picloram + granulované AU	52,9
3	Picloram + práškové AU + DDAB	8,73
4	Picloram + práškové AU + Aliquat 336	8,46
5	Picloram + granulované AU + BAC	29,2
6	Picloram + roztok Aliquatu s BAC rozp. v $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	0,08

Tabulka 2: Výsledné hodnoty měřeného parametru AOX při separaci Clopyralidu

Číslo experimentu	Odstraňovaný biocid+použitá činidla	AOX [mg/l]
0	Zásobní roztok Lontrelu	81,3
1	Lontrel + 1 ml $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	8,15
2	Lontrel + 2 ml $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	1,45
3	Lontrel + 1 ml $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	5,89
4	Lontrel + 2 ml $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	1,12
5	Lontrel + Aliquat 336 + křemelina	13,30
6	Lontrel + BAC s Aliquatem + křemelina	66,28
7	Lontrel + CTAB s Aliquatem + křemelina	61,78
8	Lontrel + roztok ADBAC s $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + 1 ml $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ práškové AU	1,15
9	Lontrel + roztok ADBAC s $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	1,73
10	Lontrel + Aliquat s BAC rozp. v $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	36,1
11	Lontrel + DDAB rozp. v $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + práškové AU	1,79

4 Závěry

Jako neúčinnější separace Picloramu z vodného roztoku se dle výsledků jeví použití směsného vodného roztoku Aliquatu a benzalkonium chloridu spolu s použitím koagulantu $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a aktivního uhlí. V tomto případě byl parametr AOX snížen o 99,8 %. Naopak nejméně účinná byla separace Picloramu adsorpcí na granulované aktivní uhlí. Zde bylo za použitých podmínek dosaženo pouze 17% účinnosti. Dle předpokladu mělo použití práškového uhlí za srovnatelných podmínek výrazně lepší sorpční efekt. Jako relativně efektivní se jeví přídavek Aliquatu 336 nebo dilauryldimethylamonium bromidu v kombinaci s práškovým aktivním uhlím.

U Clopyralidu byla neefektivnější separace s využitím iontové kapaliny alkyldimethylbenzylkonium chloridu s přídavkem koagulantu síranu hlinitého a práškového aktivního uhlí. Nejméně účinné metody snížení parametru AOX u vodného roztoku Clopyralidu byly s použitím křemeliny v roli levného polárního sorbentu.

Prokázali jsme, že pro odstraňování biocidů na bázi halogenovaných kyselin z vod je možné použít i levné, běžně komerčně dostupné iontové kapaliny, jaké byly použity v této studii. Při použití směsných roztoků iontových kapalin s anorganickými koagulanty, někdy též s přídavkem malého množství práškového aktivního uhlí, lze dosáhnout velmi vysoké účinnosti odstranění biocidů z vod, což umožňuje výrazně snížit spotřebu poměrně drahého aktivního uhlí pro účinné vyčištění vod kontaminovaných chlorovanými pyridinkarboxylovými kyselinami.

5 Literatura

1. BOVEY, R. W., et al. Organic chemicals in the environment. *Journal Environment Quality*, 1991, 20:528-531.
2. CHEBI: 34922 – Picloram. Dostupné z: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/chebiOntology.do?chebiId=CHEBI:34922>
3. CHEBI:62961 – Clopyralid. Dostupné z: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/chebiOntology.do?chebiId=CHEBI:62961>
4. PAVLOVIC, I., et al. Adsorption of acidic pesticides 2, 4-D, Clopyralid and Picloram. *Applied Clay Science*, 2005, 30.2: 125-133.
5. WEIDLICH, T., STOČES, M., ŠVANCARA, I. Possibilities and Limitations of Ionic Liquids in Electrochemical and Electroanalytical Measurements. *Sensing in Electroanalysis* Vol. 5, p. 33-56, Univerzita Pardubice, Pardubice, 2010, ISBN: 978-80-7395-348-5
6. HANUSEK, J. Iontové kapaliny—nový směr v “zelené” chemii. *Chemické Listy*, 2005, 99.263-294.
7. MARTINKOVÁ, J., WEIDLICH, T. Způsob srážení barviv z vodných roztoků. CZ20120359 (2013)
8. PAVONI, B., et al. Assessment of organic chlorinated compound removal from aqueous matrices by adsorption on activated carbon. *Water research*, 2006, 40.19: 3571-3579.

Anaeróbne spracovanie výpalkov z výroby liehu

*Bc. Dominik Krafcík
Prof. Ing. Miroslav Hutňan, CSc.*

*Slovenská technická univerzita v Bratislave
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie
Oddelenie environmentálneho inžinierstva
Radlinského 9, 812 37 Bratislava
dominik.krafcik@gmail.com*

Práca sa zaoberá spracovaním výpalkov pri výrobe liehu v anaeróbnom prostredí. Žiadaným produktom je bioplyn, ktorého hlavné zložky sú metán a oxid uhličitý. Jeho spaľovanie prispieva k vylepšeniu ekonomickej bilancie liehovaru.

Výpočtová časť sa zaoberá návrhom anaeróbného reaktora pre konkrétny liehovar, ktorý spracováva vedľajší produkt pri výrobe liehu - výpalky. Výpočet zahŕňa objem a rozmery reaktora, množstvo vzniknutého bioplynu, výpočet tepelných strát a tepla potrebného na ohrev substrátu, energetické využitie bioplynu na výrobu vysokotlakovej pary a alternatívne riešenie využitia – spracovanie v kogeneračnej jednotke a jej návrh. V práci je taktiež opísané možné nakladanie s kalovou vodou a sú vyzdvihnuté výhody jej využitia ako hnojiva. V závere sú porovnávané energetické výťažky 3 spôsobov spracovania kukurice – pri priamej výrobe bioplynu z kukurice, pri výrobe liehu z kukurice a pri kombinácii výroby liehu z kukurice so spracovaním výpalkov.

Kľúčové slová: bioplyn, anaeróbne spracovanie, výpalky

Využití výlisků z výroby vína pro odstraňování mědi z odpadních vod

Bc. Jakub Křikala

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká Republika
xckrikala@fch.vut.cz

S rozvojem těžkého průmyslu se v posledních letech stále více zvyšuje riziko znečištění životního prostředí tzv. těžkými kovy, které na rozdíl od dalších polutantů nejsou biodegradabilní a zůstávají dlouhou dobu v životním prostředí. K znečištění životního prostředí kovy nejčastěji dochází prostřednictvím odpadních průmyslových vod, které jsou špatně vyčištěny nebo přímo vypouštěny do povrchových vod.

Mezi obvyklé způsoby odstraňování kovů z odpadních vod patří zejména srážení, elektrolyza, iontová výměna a adsorpce na aktivním uhlí. Tyto metody jsou však v průmyslovém měřítku po technické i ekonomické stránce velmi náročné, proto se pozornost začíná obracet na možné využití biomasy z potravinářského průmyslu jako levně dostupného adsorbentu. Jen vinné révy se ročně sklídí přes 60 milionů tun, z čehož je asi 80 % využito na výrobu vína, při které vzniká kolem 9 milionů tun výlisků, jejichž chemická struktura je bohatá na různorodé funkční skupiny, které mohou vázat kovové ionty. Odpadní biomasa z potravinářského průmyslu se tak může stát dobrou alternativou místo finančně nákladných syntetických adsorbentů používaných k čištění odpadních vod.

Měď je důležitým biogenním prvkem nezbytným jednak pro krvetvorbu a také tvoří součást koenzymů. Přestože měď nepatří mezi významně toxické prvky, tak při dlouhodobé expozici může dojít k akutní otravě měďnatými ionty, která může vyústit až v cirhózu jater. Vysoký obsah mědi v organismu může taktéž působit jako inhibitor enzymatických reakcí. Nejvíce mědi obsahují odpadní vody ze slévárenského a galvanického průmyslu.

V této práci bylo ověřováno potenciální využití výlisků z výroby vína jako snadno dostupného přírodního adsorbentu pro odstraňování mědi z odpadních vod. I po vylisování moštu obsahují zbylé matoliny vysoký podíl organických kyselin, cukrů a zejména polyfenolických látek, jejichž chemická struktura umožňuje adsorpci kovových iontů z vodných roztoků. Přítomnost a charakter funkčních skupin odpovědných za adsorpci byly zjištěny pomocí IČ spektrometrie. V rámci experimentu byla porovnána adsorpce mědi na matoliny průtokovou a vsádkovou metodou, přičemž bylo nejprve stanoveno optimální pH vodného roztoku mědi. Adsorpce vsádkovou metodou byla provedena s roztoky mědi o různých počátečních koncentracích, u kterých byl navíc sledován také vliv kontaktního času na adsorpční kapacitu použitého materiálu. Nejvíce mědi bylo na výlisky adsorbováno v rozmezí pH 3 – 4 a při vsádkové metodě byly provedeny adsorpční experimenty s kontaktními časy 30, 60 a 90 minut. Maximální adsorpční kapacity byly vypočítány z Langmuirova modelu adsorpční izotermy a při stanoveném pH zásobních roztoků mědi činily 0,260 4 mg.g⁻¹ Cu při průtokové metodě a 1,246 2 mg.g⁻¹ Cu po 30 minutách adsorpce vsádkovou metodou. Výsledky práce potvrdily dobrý adsorpční potenciál výlisků pro odstraňování mědi z odpadních vod. Adsorpční kapacita materiálu by se dala ještě navýšit další optimalizací metody nebo chemickým ošetřením adsorbentu.

Klíčová slova: kovy, měď, odpadní voda, výlisky, Langmuirova izoterma

Modifikácie hyaluronanu kyselinou cholovou a využitie týchto derivátov v nosičových aplikáciách

Kludia Kvaková

Gloria Huerta-Angeles, Vladimír Velebný

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie
Purkyňova 461/118, 612 00 Brno, Česká republika
xckvakova@fch.vut.cz*

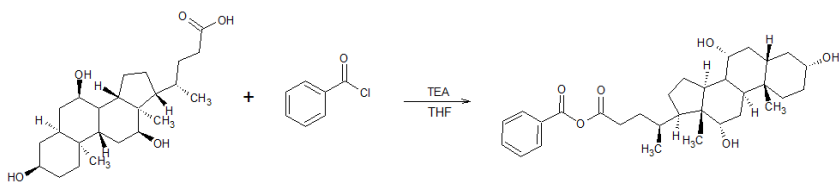
1 Úvod

Za fyziologických podmienok (pH 7,4) kyselina hyalurónová existuje vo forme polyaniónu označovaného ako hyaluronan¹. V štruktúre hyaluronanu je prítomných viacero funkčných skupín (-OH, -COOH), má unikátne biologické vlastnosti, je biokompatibilný a biodegradabilný². Pomocou chemických modifikácií sa dá pripraviť z natívneho hyaluronanu vhodnejší materiál pre ďalšie aplikácie¹. Zaujímavé sú deriváty hyaluronanu založené na esterifikácii hydroxylových skupín. Karboxylové skupiny zostávajú nezmenené, a preto sú vzniknuté deriváty amfifilné. Amfifilné polyméry sú schopné agregovať vo vode v dôsledku pôsobenia hydrofóbných interakcií. Keď sú vo vode rozpustené, vytvárajú hydrofóbné domény, ktoré sú schopné rozpúšťať hydrofóbné liečivá³. Kyselina cholová je jednou zo žľčových kyselín. Vykazuje dvojaký charakter, v jej štruktúre sa nachádzajú hydrofóbné uhľovodíkové skupiny a hydrofilné hydroxylové skupiny. Medzi jej vlastnosti taktiež patrí amfifilita, chiralita, biokompatibilita a chemická stabilita steroidného jadra⁴. Využitie silno hydrofobizovaného hyaluronanu pre prípravu nosičov nepolárnych látok vo vodnom prostredí je zaujímavou aplikáciou⁵.

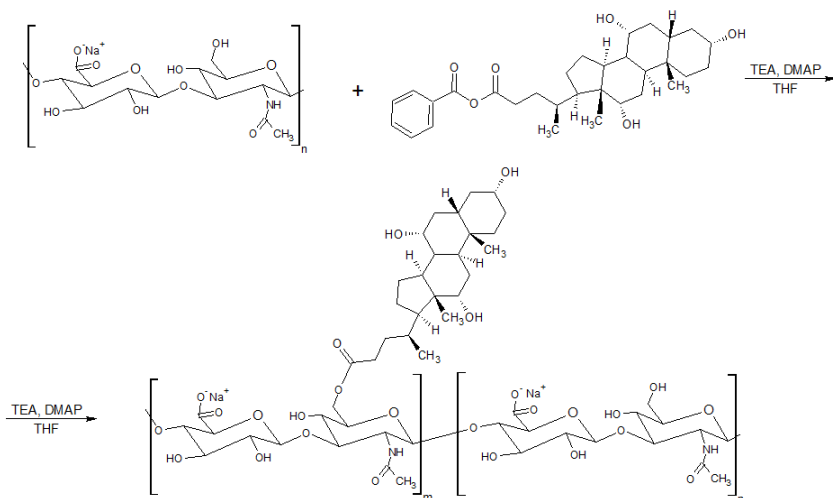
2 Experimentálna časť

2.1 Metódy

Cholát kyseliny hyalurónovej bol pripravený dvojkrokovou syntézou. V prvom kroku došlo k aktivácii kyseliny cholovej pomocou benzoylchloridu a trietylamínu (Obrázok 1). Aktivovaná kyselina bola pridaná k vodnému roztoku kyseliny hyalurónovej v prítomnosti trietylamínu a katalyzátoru 4-(dimetylamino)-pyridín v tetrahydrofuráne (Obrázok 2).



Obrázok 1: Aktivácia kyseliny cholovej



Obrázok 2: Vznik cholátu kyseliny hyalurónovej

Pripravené deriváty boli rozpustené v D₂O. Vzniknuté roztoky boli následne charakterizované pomocou ¹H NMR. Roztoky derivátov v D₂O boli charakterizované aj metódami HSQC (Heteronuclear single quantum coherence) a COSY (Correlation spectroscopy). V prípade DOSY (Diffusion ordered spectroscopy) boli deriváty rozpustené v zmesi D₂O a D₂PA (BRUKER Avance™ III 500 MHz).

Deriváty boli následne charakterizované pomocou infračervenej spektroskopie (Thermo Scientific Instruments NICOLET 6700 FT-IR).

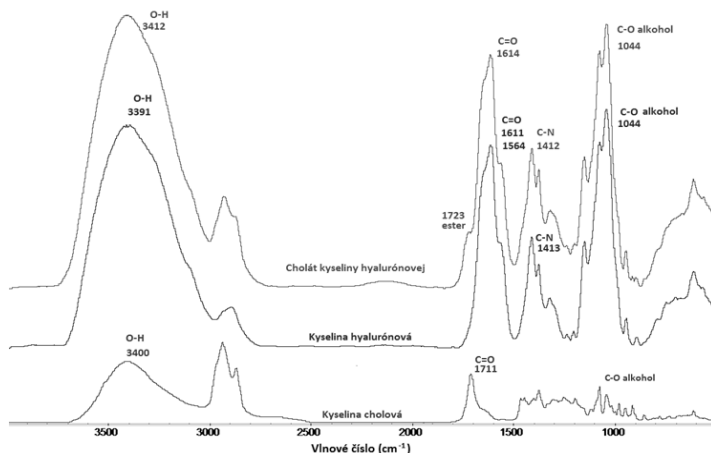
Kyselina hyalurónová a derivát boli rozpustené vo fyziologickom roztoku. Vzniknuté 5% roztoky boli podrobené reologickej analýze. (Malvern Kinexus Pro®).

Metódou SEC-MALLS (Size exclusion chromatography with multi-angle laser light scattering) bola zistená molekulová hmotnosť kyseliny hyalurónovej a derivátu. (Agilentdegasser Model G 1379A)

Metódou HPLC (High-performance liquid chromatography) bolo stanovené množstvo naviazanej aktívnej látky na vhodné pripravené deriváty (UPLC Aquity waters s PDA detektorom a Waters Aquity UPC2, SFC s PDA detektorom).

2.2 Výsledky a diskusia

Hydrofobizácia kyseliny hyalurónovej bola uskutočnená kyselinou cholovou za vzniku esteru, ktorý bol identifikovaný pomocou infračervenej spektrometrie. Infračervené spektrum derivátu obsahuje veľa charakteristických signálov hyaluronanu. Okrem nich je pre derivát charakteristický pík pri vlnovom čísle 1723 cm^{-1} , ktorý odpovedá esterovej skupine. Prítomnosť píku potvrdzuje vytvorenie kovalentnej esterovej väzby medzi kyselinou cholovou a kyselinou hyalurónovou (Obrázok 3).



Obrázok 3: FT-IR spektrum kyseliny hyalurónovej, kyseliny cholovej a cholátu kyseliny hyalurónovej

V prípade vzniknutých derivátov bola skúmaná miera naviazania substituentu v závislosti na použiteľnom ekvivalente kyseliny cholovej. Výsledné stupne substitúcie boli stanovené z ^1H NMR spektier. Stupeň substitúcie sa zvyšuje s ekvivalentom kyseliny cholovej použitej na modifikáciu kyseliny hyalurónovej.

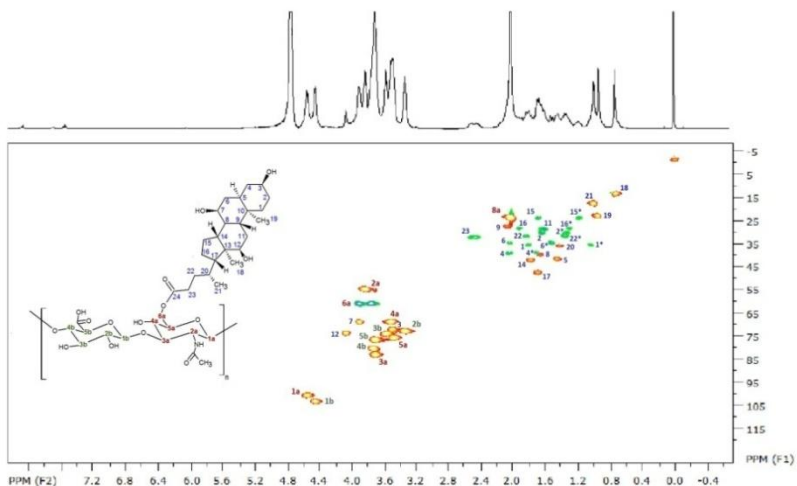
Podľa HSQC spektra (Obrázok 4) je možné odlišiť skupiny s nepárnym počtom vodíkov (CH_3 , CH) od skupín s počtom párnym (CH_2). HSQC spektrum bolo použité na priradenie všetkých protónových rezonancií esterifikovaného derivátu.

Vytvorenie väzby medzi kyselinou cholovou a kyselinou hyalurónovou bolo potvrdené aj pomocou DOSY experimentu. DOSY experiment ukazuje podobné difúzne správanie pre všetky signály, z čoho vyplýva, že všetky signály ^1H NMR spektra v tejto oblasti patria jednému štruktúrálnemu komplexu (cholát kyseliny hyalurónovej).

Z COSY spektier je možné priradiť signály v oblasti δ 4,35 - 4,65 ppm, ktoré odpovedajú anomérnym vodíkom hyaluronanu.

Výsledky SEC-MALLS analýzy ukazujú, že molekulová hmotnosť derivátu bola podobná alebo väčšia v porovnaní s molekulovou hmotnosťou východiskovej kyseliny hyalurónovej, čo znamená, že po modifikácii nedošlo k degradácii.

Z meraní viskozity vyplýva, že pripravený derivát mal taktiež vyššiu viskozitu vzhľadom ku kyseline hyalurónovej, a teda dochádza k jeho agregácii vo fyziologickom prostredí.



Obrázok 4: HSQC spektrum cholátu kyseliny hyaluronovej

Derivát je schopný naviazať viac ako dvojnásobné množstvo koenzýmu Q10 v porovnaní s kurkumínom. Rozdielnu rozpustnosť koenzýmu Q10 a kurkumínu vo vode v porovnaní s rozpustnosťou ich komplexov s pripraveným derivátom taktiež vo vode znázorňuje Obrázok 5. Tento experiment potvrdil predpoklad, že dochádza k enkapsulácii hydrofóbných látok amfifilným derivátom, v dôsledku čoho sú komplexy vo vode dobre rozpustné, aj keď samotné látky sa vo vode nerozpúšťajú. Pomocou HPLC boli zistené enkapsulované množstvá kurkumínu a koenzýmu Q10, výsledky chromatografickej analýzy uvádza Tabuľka 1.



Obrázok 5: Rozpustnosť koenzýmu Q10 a kurkumínu vo vode (vľavo), rozpustnosť komplexu derivátu s enkapsulovaným koenzýmom Q10 a kurkumínom (vpravo)

Tabuľka 1: Porovnanie enkapsulačnej účinnosti

Názov derivátu	hm. % koenzým Q10	Názov derivátu	hm. % kurkumín
KV-07-CoQ10	10,65	KV-07-Cur	3,28
KV-10-CoQ10	10,83	KV-10-Cur	4,27

3 Závěry

V rámci tejto práce bola kyselina hyalurónová esterifikovaná kyselinou cholovou so stupňom substitúcie do 25 %. Deriváty boli charakterizované pomocou ^1H NMR spektier. Ich štruktúra bola potvrdená pomocou 2D NMR analýzy (HSQC, DOSY, COSY) a infračervenej spektroskopie. Pripravený derivát mal v dôsledku agregácie očividne vyššiu molekulovú hmotnosť ako vstupná kyselina hyalurónová a bol tiež viskóznejší.

Hydrofobizovaný cholát kyseliny hyalurónovej bol použitý ako vstupná látka v oblasti nosičových aplikácií. Pripravený derivát bol schopný viazať koenzým Q10 a kurkumín do nanoagregátov.

4 Literatúra

1. CHOI, Ki Young, Gurusamy SARAVANAKUMAR, Jae Hyung PARK a Kinam PARK. Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: Interfacial interactions with proteins in cancer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2012, **99**, 82-94. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2011.10.029. ISSN 09277765.
2. VAF AEI, Seyed Yaser, Motahareh ESMAEILI, Mohsen AMINI, Fatemeh ATYABI, Seyed Naser OSTAD a Rassoul DINARVAND. Self assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential carrier for targeting the inflamed intestinal mucosa. *Carbohydrate Polymers*. 2016, **144**, 371-381. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.01.026. ISSN 01448617.
3. HUERTA-ANGELES, Gloria, Martin BOBEK, Eva PŘÍKOPOVÁ, Daniela ŠMEJKALOVÁ a Vladimír VELEBNÝ. Novel synthetic method for the preparation of amphiphilic hyaluronan by means of aliphatic aromatic anhydrides. *Carbohydrate Polymers*. 2014, **111**, 883-891. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.035. ISSN 01448617.
4. HU, Meng-Xin, Ji-Nian LI, Shi-Lin ZHANG, Liang LI a Zhi-Kang XU. Hydrophilic modification of PVDF microfiltration membranes by adsorption of facial amphiphile cholic acid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014, **123**, 809-813. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.10.019. ISSN 09277765.
5. VELEBNÝ, Vladimír. *Hyaluronan – biopolymer pro tkáňové inženýrství*. Brno, 2012. Vysoké učení technické v Brně.

Bioresorbovateľné polyuretány s riaditeľnými mechanickými vlastnosťami

*Bc. Emil Letavaj
Ing. Vojtěch Kupka, Ph.D.*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů
Purkyňova 118, 612 00, Brno
xcletavaj@fch.vut.cz*

Elastické polyuretánové (PUR) filmy boli pripravené reaktívnym liatím v jednom kroku bez použitia organických rozpúšťadiel. Neprítomnosť rozpúšťadiel predstavuje veľkú výhodu z dôvodu ich toxicity a následného odstraňovania z výsledného produktu. Ďalšou výhodou tejto techniky je možnosť prípravy komplikovaných tvarov. Syntéza PUR prebiehala pod inertnou atmosférou polyadičnou reakciou z hydrofobného poly-(ϵ -kaprolaktónu) (PCL) a hydrofilného poly(etylénglykolu) (PEG) spoločne s hexametylén diizokyanátom (HDI). Práca pod inertnou atmosférou bola nutná z dôvodu vedľajšej reakcie izokyanátu so vzdušnou vlhkosťou, ktorá zapríčiňuje vznik poréznych filmov namiesto spojitéch. Štruktúra pripravených filmov bola charakterizovaná pomocou diferenčnej kompenzačnej kalorimetrie (DSC) a rentgenovej difrakcie (XRD), mechanické vlastnosti potom pomocou ťahových skúšok. Polyuretánové filmy pripravené iba z PEGu a HDI vykazovali krehké chovanie ($\epsilon \approx 40 \pm 8 \%$), zatiaľ čo vzorky s vyšším obsahom PCL boli ťažné a elastické ($\epsilon \approx 270 \pm 10 \%$). Príčinou týchto vlastností bola rozdielna schopnosť PCL kryštalizovať v štruktúre polyuretánovej siete. Pripravené PUR filmy by mohli byť vďaka svojim elastickým vlastnostiam využité v biomedicíne ako napr. cieвне štepý.

Kľúčové slová: polyuretán, elastomér, biomedicína.

Zařízení pro izolaci DNA magnetickými částicemi

*Bc. Milan Němeček,
RNDr. Hanniel Dubský, CSc., Doc. RNDr. Alena Španová, CSc.,
Doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká Republika
xcnemecek@fch.vutbr.cz*

S rozvojem molekulárně biologických metod se zvyšuje zájem o nové postupy izolace DNA o vysoké kvalitě. Izolace DNA se provádí z hrubých lyzátů buněk mnoha technikami např. fenolovou extrakcí, vysolováním nebo adsorpcí na pevnou fázi. Klasická izolace DNA, jakou je fenolová extrakce je poměrně složitá a časově náročná. Z toho důvodu byly vyvinuty nové alternativní metody izolace DNA využívající reverzní imobilizaci DNA na pevnou fázi. Velmi rozšířené je používání magnetických nosičů, které umožňují izolovat DNA ve vysoké kvalitě přímo z hrubých lyzátů buněk komplexních vzorků.

Současná metoda adsorpce DNA na povrch magnetických částic neposkytuje v některých případech při analýze komplexních vzorků (např. potravin) dostatečně čistou DNA. Část inhibitorů polymerázové řetězové reakce (PCR) se zřejmě adsorbují na stěny zkumavky a v následném kroku eluce DNA dochází k jejich uvolnění do roztoku a následnému ovlivnění kvality DNA (např. snížení citlivosti amplifikace v PCR).

Principem vyvíjeného postupu je konstrukce zařízení, které využívá přenos magnetických částic paramagnetickou jehlou z jedné Eppendorfovy zkumavky do druhé, ve které probíhá další zpracování vzorku. Přenosem pomocí jehly se zabráňuje přenosu kontaminujících nečistot. Navržené zařízení umožňuje realizovat výše uvedený postup. Funkčnost zařízení byla ověřena při izolaci plasmidové pUC19 DNA.

Klíčová slova: izolace DNA, magnetické částice, zařízení pro přenos částic

Anaeróbne spracovanie biomasy z výroby penicilínu a jeho kofermentácia s odpadovou biomasou z výroby cystínu

Matúš Palguta

Juan José Chávez-Fuentes, Miroslav Hutňan

*FCHPT STU Oddelenie environmentálneho inžinierstva
Radlinského 9,821 37 Bratislava
matuspalguta@gmail.com*

Práca sa zaoberá anaeróbnym spracovaním dvoch odpadových materiálov, a to penicilínového mycélia, ktoré je vedľajším produktom v procese výroby penicilínu a odpadovej biomasy, vznikajúcej pri produkcii L-Cystínu ako potravinárskeho aditíva. Penicilínové mycélium má vysokú hodnotu CHSK, tiež obsah dusíka a celkovú sušinu na úrovni 22 až 25 %. Biomasa z výroby cystínu obsahuje nadmerné koncentrácie organických látok, síranov a dusíka.

Prvá časť práce je primárne venovaná samostatnému anaeróbnemu spracovávaniu penicilínového mycélia v miešanom reaktore v objemom 6 litrov pri mezofilných podmienkach (37°C) a jeho vplyvu na celý proces. Úvodných 28 dní bolo zaťaženie reaktora 0,5 g SŽ.l-1 .d-1. Špecifická produkcia bioplynu (ŠPB) sa pohybovala v rozmedzí 420 až 560 l.kgSŽ-1. Koncentrácie voľného amoniaku nepresiahla v tejto fáze hodnotu 28 mg.l-1 a koncentrácia S2- bola maximálne 3,75 mg.l-1.

Druhá časť začala zvýšením zaťaženia reaktoru na 1 g SŽ.l-1 .d-1 v 29. dni experimentu. Táto zmena so sebou priniesla výrazný pokles špecifickej produkcie bioplynu až na hodnotu 260 l.kgVS-1. V období okolo 55. dňa sa reaktor pomaly adaptoval na podmienky, ŠPB sa začala zvyšovať na hodnoty v intervale 500 až 700 l.kg.SŽ-1.

V tretej časti, v 86. dni, sa pristúpilo ku kofermentácii penicilínového mycélia a biomasy z výroby cystínu v pomere 9:1. Zaťaženie reaktora sa udržiavalo stále na hodnote 1 g SŽ.l-1 .d-1 . Počas nasledujúceho obdobia výsledky sledovaných parametrov ukázali, že biomasa z výroby cystínu nemá pozitívny vplyv na proces. Výrazne začala stúpať koncentrácia sulfidov (10 - 74 mg.l-1) a voľného amoniaku (145 - 319 mg.l-1) v reaktore, čo má za následok postupnú inhibíciu mikroorganizmov, čo je možné vidieť na kontinuálne rastúcej hodnote CHSK, dosahujúcej koncentráciu až 10 000 mg.l-1 . Ku koncu tejto fázy tento ukazovateľ postupne klesal. V ukazovateli ŠPB je možné vidieť, ako robilo mikroorganizmom problém pridanie nového substrátu, a to tak, že ukazovateľ klesol z hodnôt približne 600 l.kgSŽ-1 na 250 l.kgSŽ-1 v 150. dni. Od tohto dňa bol trend tohto ukazovateľa rastúci a dosahujúci cca 700 l.kgSŽ-1 . V bioplyne však výrazne stúpla koncentrácia sulfánu na hodnotu približne 5000 ppm a obsah metánu sa udržiaval tesne nad hodnotou 58 %. Napriek tomu v mnohých ukazovateľoch bolo vidieť zlepšenie a postupné vyrovnávanie sa so zaťažením.

V poslednej fáze v 200. dni sa pomer kofermentácie zmenil z 9:1 na 8:2 (penicilínové mycélium k cystínu), pričom zaťaženie zostalo na 1 g SŽ.l-1 .d-1. V nasledujúcich deväťdesiatich dňoch výkon reaktora poklesol približne na polovicu a väčšina ukazovateľov sa začala zhoršovať, niektoré až na kritické hodnoty. Produkcia bioplynu sa dostala z hodnôt v oblasti 550 l.kgSŽ-1 na hodnoty 310 l.kgSŽ-1. Ukazovateľ CHSK jednoznačne dokazuje inhibíciu v procesoch fermentácie keďže zo 6 000 mg.l-1 stúpila až na 30 000 mg.l-1. Taktiež sa zvýšilo množstvo dusíka a síry v reaktore. Prejavilo sa to v zložení bioplynu, ktorý v sebe obsahoval už iba približne 30 % CH₄ a 20 000 ppm H₂S.

Napriek problémom sa dá povedať, že odpadové materiály sú pomerne ľahko degradovateľné pomocou anaeróbnej digestie. Pri samostatnom spracovávaní mycélia bola konverzia CHSK na bioplyn rovná priemerne 56 %, kde najvyššia hodnota konverzia bola až 89 %. V období kofermentácie bol priemerný stupeň premeny na úrovni 67 %. Organické látky, ktoré sa nepremenili na bioplyn, sa odvádzali v podobe odoberaného kalu, alebo sa akumulovali v reaktore alebo boli spotrebované na tvorbu nových mikroorganizmov. Z poslednej časti práce vyplýva, že pri vyššom obsahu cystínu pridávaného do procesu nastáva inhibícia mikroorganizmov a nie je možné jeho kontinuálne spracovávanie bez zabezpečenia potrebných opatrení potlačujúcich inhibíciu.

Využití magnetických částic při izolaci DNA z cibule a brokolice

Bc. Lucie Ráčková

RNDr. Aleš Kovařík, CSc., doc. RNDr. Alena Španová, CSc.,

doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,

*Ústav chemie potravin a biotechnologií Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká republika
xcrackoval@fch.vutbr.cz*

V současné době se řeší problémy autenticity potravin. Jedním ze způsobů analýzy falšování jsou metody založené na analýze DNA, které se používají k detekci určitých druhů. Izolace rostlinné DNA bývá komplikovaná, z důvodu obsahu celé řady různých metabolitů, jako jsou polyfenoly, polysacharidy či proteiny, které můžou inhibovat v polymerázové řetězové reakci (PCR).

V této práci byla ověřována mikrometoda izolace rostlinné DNA z cibule, brokolice a potravinového výrobku (francouzská rostlinná pomazánka) v kvalitě vhodné pro konvenční PCR. Mikrometoda umožňuje izolaci pomocí magnetických nosičů z hrubých lyzátů, získaných přímou homogenizací rostlinných tkání. Byly porovnávány různé způsoby homogenizace a zpracování homogenátů. De-proteinace probíhala v lyzačním pufru s obsahem cetyl trimetyl amonium bromidu (CTAB). Poté byl testován vliv organických extrakčních činidel na následné purifikační kroky: vzorky byly rozděleny na část bez přídavku chloroform-oktanolu, s přídavkem chloroform-oktanolu a s přídavkem chloroform-oktanolu a isopropanolu. Následně byla DNA purifikována reverzibilní adsorpcí na magnetické nosiče (testovány celkem čtyři různé typy matrice). U izolovaných vzorků DNA bylo provedeno spektrofotometrické stanovení koncentrace a čistoty. Poté jsme testovali amplifikovatelnost DNA v reakci PCR. Byly použity specifické primery pro rostlinnou ribosomální DNA (rDNA). Podoblast ITS1 byla amplifikována primery 18S_for a 5,8S_rev poskytující specifický produkt délky 700 bp. Podoblast genu 26S rDNA byla amplifikována primery 26S_for a 26S_rev s předpokládanou velikostí produktu odpovídající 220 bp. Produkty PCR byly detekovány agarózovou gelovou elektroforézou pomocí fluorescenčního interkalátoru ethidium bromidu.

Byly prokázány rozdíly ve výtěžku a kvalitě DNA v závislosti na způsobu homogenizace, zpracování homogenátů a použitých magnetických nosičů. Navržený postup byl testován pro izolaci kvalitní amplifikovatelné DNA z potravinových produktů obsahující rostlinný materiál.

Klíčová slova: Izolace rostlinné DNA, mikrometoda, magnetické nosiče, PCR

Identifikace mikroorganismů v kosmetických výrobcích s obsahem probiotik

Bc. Denisa Romanovská

Ing. Štěpánka Trachtová, Ph.D., Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká Republika
xcromanovska@fch.vut.cz

Probiotické výrobky jsou nedílnou součástí současného trhu. Mezi nové výrobky obsahující přidané probiotické kultury se mimo jiné řadí také kosmetické výrobky.

Práce se zabývá izolací bakteriální DNA z kosmetických výrobků Ryor, Yoghurt of Bulgaria, FeminaMed a Lactovit Activit, a to v kvalitě vhodné pro amplifikaci v PCR. DNA byla izolována metodou fenolové extrakce a magnetickými nosiči. Další část práce se zabývá testy na schopnost přežití bakterií v prostředí prezervačních látek, které jsou v kosmetických výrobcích obsaženy. Pro tyto testy byly použity sbírkové kmeny bakterií rodu *Lactobacillus*. Přítomnost bakterií rodu *Lactobacillus* byla prokázána rodově specifickou PCR a byla provedena optimalizace druhově specifické PCR pro identifikaci *Lactobacillus pentosus*.

Bylo prokázáno, že kosmetické výrobky jsou z hlediska matrice obtížně zpracovatelné vzorky obsahující látky, které mohou komplikovat izolaci DNA nebo inhibovat samotnou PCR. Bylo také prokázáno, že DNA izolovaná z výrobků magnetickými nosiči i fenolovou extrakcí je vhodná pro amplifikaci v PCR specifických pro rod *Lactobacillus* a pro probiotické druhy.

Klíčová slova: probiotika, kosmetické výrobky, izolace DNA, PCR

Vplyv vybraných liečiv na rýchlosť odstraňovania organického substrátu

Bc. Petra Szabová

Ing. Lucia Ivanová, prof. Ing. Igor Bodík, PhD.

*Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Oddelenie environmentálneho inžinierstva
Radlinského 9, 812 37 Bratislava
petaszabova@gmail.com*

1 Úvod

Farmaceutický priemysel ročne produkuje tisícky ton liečiv pre ľudí a zvieratá¹ v dôsledku objavovania nových chorôb, zlepšovania kvality života, ako aj starnutím populácie. Výskyt takýchto látok vo vodnom ekosystéme môže negatívne ovplyvniť život zvierat a vodných rastlín².

Mnoho vedeckých prác upozornilo na to, že odtok z čistiarne odpadových vôd (ČOV) je jeden z hlavných zdrojov analgetík, antidepresívnych látok, antibiotík a rôznych druhov rezistentných baktérií v životnom prostredí³. ČOV pozostáva z primárneho čistenia založeného na fyzikálno-chemickom odstraňovaní látok a sekundárneho čistenia s biologickým reaktorom s aktivovaným kalom a má obmedzenú kapacitu odstraňovania liečiv z odpadových vôd. K hlavným mechanizmom odstraňovania mikropolutantov v systémoch s aktivovaným kalom patria biodegradácia, sorpcia na kal a vyprchávanie⁴.

V literatúre sú popísané dva hlavné spôsoby biologickej degradácie mikropolutantov. Podstatou prvého spôsobu je priamy biologický rozklad mikropolutantov frakciou biomasy, ktorá je schopná ich degradácie. Prítomnosť mikropolutantov v odpadovej vode podporuje udržiavať a vyvíjať špecifickú biomasu. V tejto fáze dochádza k vstupu mikropolutantov do bunky, čo následne vedie k afinite zlúčeniny s bakteriálnymi enzýmami. Druhou alternatívou je biologický rozklad mikropolutantov počas rozkladu makropolutantov. Ľahko rozložiteľný organický substrát v podobe CHSK (chemickej spotreby kyseliny) alebo amoniaku môže slúžiť ako ko-substrát a je zdrojom energie a uhlíka pre biomasu⁵.

Cieľom práce bolo definovať vplyv vybraných mikropolutantov na rýchlosť odstraňovania organického znečistenia v procesoch čistenia odpadových vôd. V laboratórnych podmienkach boli dlhodobo sledované dva modely aktivácie. Do prvého reaktora bol dávkovany ľahko rozložiteľný organický substrát, makronutrienty (dusík a fosfor) a liečivá napr. ibuprofen, amoxicilín, cetirizín, diklofenak o rôznej koncentrácii. Do druhého referenčného reaktora bol dávkovany len ľahko rozložiteľný organický substrát a makronutrienty. Na zistenie vplyvu liečiv na rýchlosť odstraňovania organického substrátu boli uskutočnené respirometrické merania.

2 Experimentálna časť

2.1 Prevádzka laboratórnych modelov

V laboratórnych podmienkach boli dlhodobo sledované dva modely aktivácie s cieľom posúdenia vplyvu liečiv na odstraňovanie organického znečistenia, ktoré bolo realizované pomocou respirometrických testov s adaptovaným kalom (AK) a neadaptovaným kalom (NK) na sledované liečivá. Na realizáciu modelov bol použitý kal z ČOV Devínska Nová Ves. Kal bol rozdelený do dvoch laboratórnych modelov o objeme 1 liter.

Po dobu 69 dní prebiehala adaptácia kalu, pričom počas tejto doby boli reaktory raz denne obsluhované. Obsluha začínala odobraním prebytočného kalu, kvôli zachovaniu veku kalu 20 dní. Po odobraní prebytočného kalu bola aerácia modelov zastavená, po 30 minútovej sedimentácii bola odobraná vyčistená voda a následne pridaný nový substrát v objeme 400 ml. Substrát obsahoval 700-750 mg l⁻¹ CHSK (metanol), 50 mg l⁻¹ N-NH₄ a 10 mg l⁻¹ P_{celk}. Počas obsluhy bolo denne merané pH v oboch modeloch a dvakrát týždenne sa realizovali testy na zistenie CHSK, N-NH₄ a N-NO₃ v odtoku. Dvakrát do mesiaca sa uskutočňovali testy na fosfor a sušinu v reaktoroch.

V 70. deň experimentu sa do jedného reaktoru začali pridávať vybrané liečivá o koncentracii 0,5 mg l⁻¹. Súčasne došlo aj k navýšeniu koncentrácie CHSK a P_{celk} v substráte pre oba reaktory. Substrát určený pre NK (R1) mal koncentráciu CHSK v rozmedzí 1 400 - 1 500 mg l⁻¹. Substrát pre AK (R2) mal koncentráciu 1 500 - 1 600 mg l⁻¹. Rozdiel v koncentráciách CHSK bol spôsobený pridanými liečivami (cetirizín, ibuprofen, amoxicilín), nakoľko zásobné roztoky liečiv boli zarobené z tabletovej formy, kde sa okrem účinnej látky nachádzali aj pomocné látky, ktoré pomáhajú udržať tvar v tabletovej forme a vo väčšine prípadov sa jedná o látky na báze sacharidov. Koncentrácia celkového fosforu bola navýšená na 20 mg l⁻¹. Ďalších 16 dní prebiehala adaptácia kalu. V 86. deň boli uskutočnené prvé respirometrické merania. Následne bola navýšená koncentrácia liečiv v substráte pre R2 z 0,5 mg l⁻¹ na 2,5 mg l⁻¹. CHSK substrátu vzrástla na 1 700 - 1 800 mg l⁻¹. V 100. deň experimentu boli uskutočnené ďalšie respirometrické merania a tiež došlo k ďalšiemu navýšeniu koncentrácie liečiv v substráte pre AK na 10 mg l⁻¹. Substrát s liečivami obsahoval 2 300 - 2 400 mg l⁻¹ CHSK. V 106. deň bolo uskutočnené posledné respirometrické meranie.

2.2 Respirometrické meranie

Respirometrické meranie bolo uskutočňované s kalom z dlhodobo prevádzkovaných modelov aktivácie, ktorého cieľom bolo zistiť vplyv liečiv na rýchlosť odstraňovania ľahko rozložiteľného organického substrátu. Merania boli realizované s adaptovaným a neadaptovaným kalom na liečivá v 120 ml respirometrickej cele. Použité substráty sa zhodovali so substrátmi používanými na dennú obsluhu reaktorov a ich presné zloženie je uvedené v tabuľke 1. Oba typy substrátu (bez liečiv a s liečivami) boli testované pre oba

typy kalov. Kvôli zabráneniu nežiaduceho priebehu nitrifikácie bola do respirometrických cely pridaná alylthiomočovina o koncentrácii 5 mg l⁻¹

Tab.1 Zloženie substrátu respirometrických meraní

Typ substrátu	Označenie substrátu	CHSK (mg l ⁻¹)	N-NH ₄ (mg l ⁻¹)	P _{celk} (mg l ⁻¹)
bez liečiv	A	1440	50	20
0,5 mg l ⁻¹ liečiv	B	1580	50	20
2,5 mg l ⁻¹ liečiv	C	1710	50	20
10 mg l ⁻¹ liečiv	D	2390	50	20

Na základe nameraných rýchlostí odstraňovania substrátu boli pre jednotlivé merania vypočítané biokinetické parametre: saturačná konštanta K_s a maximálna špecifická rýchlosť odstraňovania substrátu r_{x,max}, po linearizácii Monodovej rovnice:

$$r_x = r_{x,max} \frac{S}{K_S + S}$$

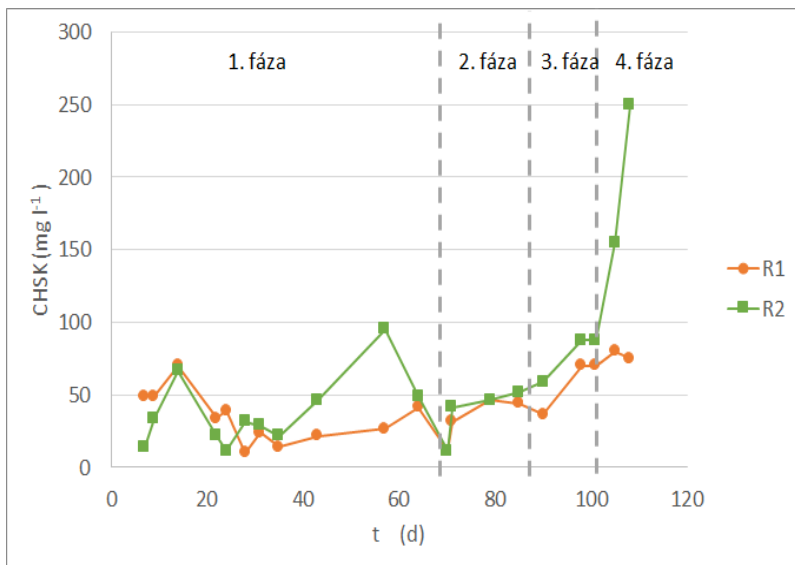
nasledovným spôsobom:

$$\frac{S}{r_x} = \frac{K_S}{r_{x,max}} + \frac{S}{r_{x,max}}$$

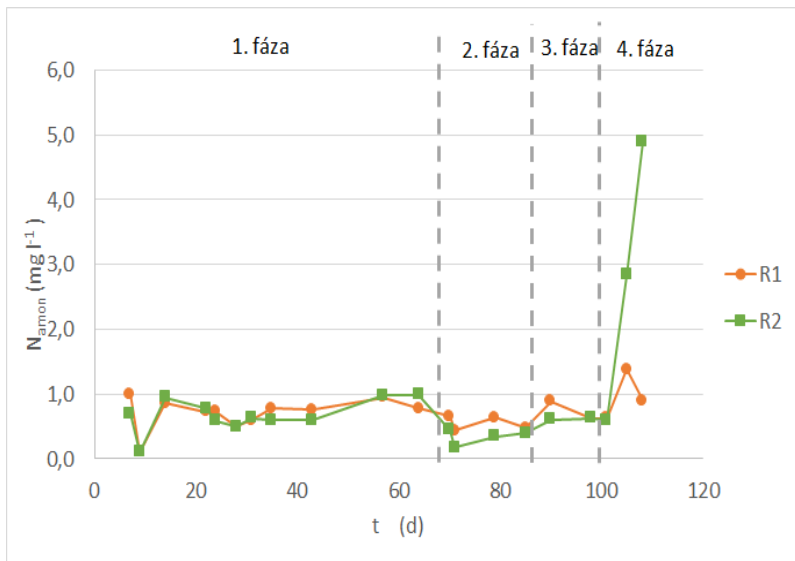
3 Výsledky a diskusia

V laboratórnych podmienkach boli dlhodobo sledované a prevádzkované dva modely aktivácie, z ktorých bol odoberaný kal na respirometrické merania. Namerané výsledky popisujú grafy č. 1 a 2. Z dovezeného kalu sa v prvom kroku odstránili liečivá a následne prebiehala 69 dňová adaptácia.

Počas druhej fázy experimentu sa do substrátu pre R2 začali pridávať liečivá o koncentráciách 0,5 mg l⁻¹. Na základe výsledkov sme zistili, že dochádzalo k odstraňovaniu organického znečistenia aj k odstraňovaniu amoniakálneho dusíka pomocou nitrifikácie. V tretej fáze bola koncentrácia liečiv v substráte zvýšená na 2,5 mg l⁻¹, CHSK na výstupe mierne vzrástla, ale účinnosť odstránenia bola naďalej vysoká. Proces nitrifikácie účinne prebiehal ďalej. V štvrtej fáze koncentrácia liečiv v substráte bola navýšená na 10 mg l⁻¹, pričom už bolo pozorované zníženie účinnosti odstraňovania CHSK a došlo aj k poklesu účinnosti odstraňovania amoniakálneho dusíka v R2.



Graf č. 1: Závislosť vstupnej koncentrácie CHSK počas priebehu experimentu

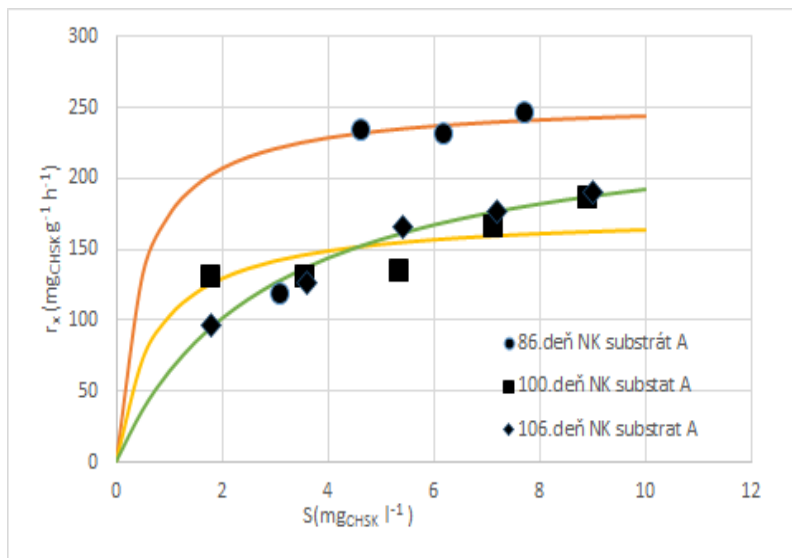


Graf č. 2: Závislosť vstupnej koncentrácie amoniakálneho dusíka počas experimentu

S dlhodobou prevádzkovaným kalom boli realizované respirometrické merania, ktorých cieľom bolo zistiť vplyv prídavku liečiv na rýchlosť odstraňovania ľahko rozložiteľného substrátu. Na obrázkoch 1 - 4 sú znázornené rýchlosti odstraňovania

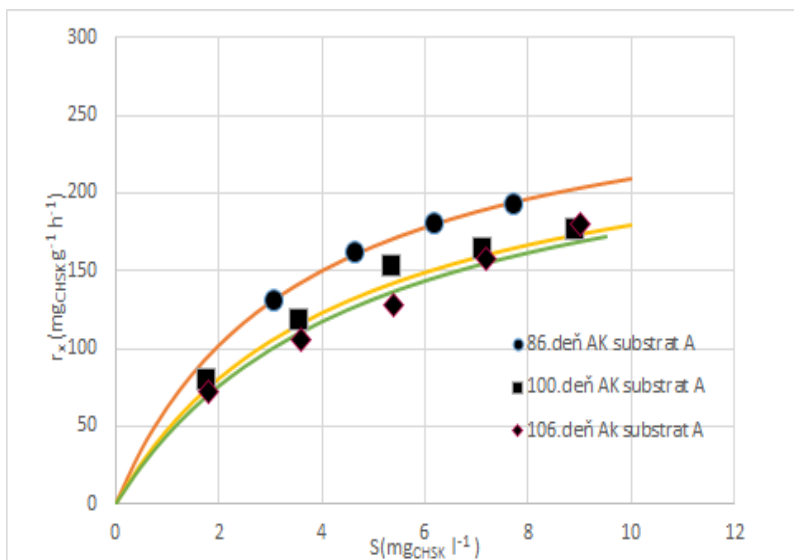
jednotlivých substrátov (A - D) pre AK a NK. V tabuľke 3 sú zhrnuté vypočítané biokinetické parametre K_S a $r_{x,max}$.

Obrázok 1 znázorňuje rýchlosť odstraňovania substrátu A pre NK. Z grafu je viditeľné, že nastal pokles respiračnej rýchlosti počas experimentu. V ďalšej fáze nebol zaznamenaný pokles respiračnej rýchlosti pre daný substrát, čo dokazuje aj maximálne špecifická rýchlosť odstraňovania substrátu, ktorú nájdeme v tabuľke č. 3.



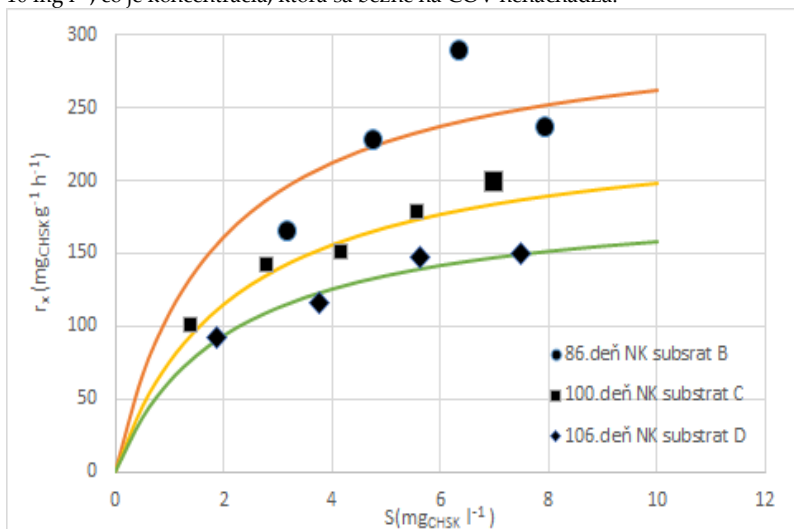
Obr. 1 Porovnanie rýchlosti odstraňovania substrátu A pre neadaptovaný kal

Obrázok 2 popisuje priebeh odstraňovania rýchlosti substrátu A pre AK. Z obrázku je viditeľné, že narastajúca koncentrácia v R2 minimálne znížila respiračnú rýchlosť, čomu zodpovedajú aj podobné špecifické rýchlosti odstraňovania substrátu. Pri porovnaní AK s NK je viditeľné, že prídavok liečiv nespôsobil výraznejšiu zmenu pri rýchlosti odstraňovania ľahko rozložiteľného substrátu.



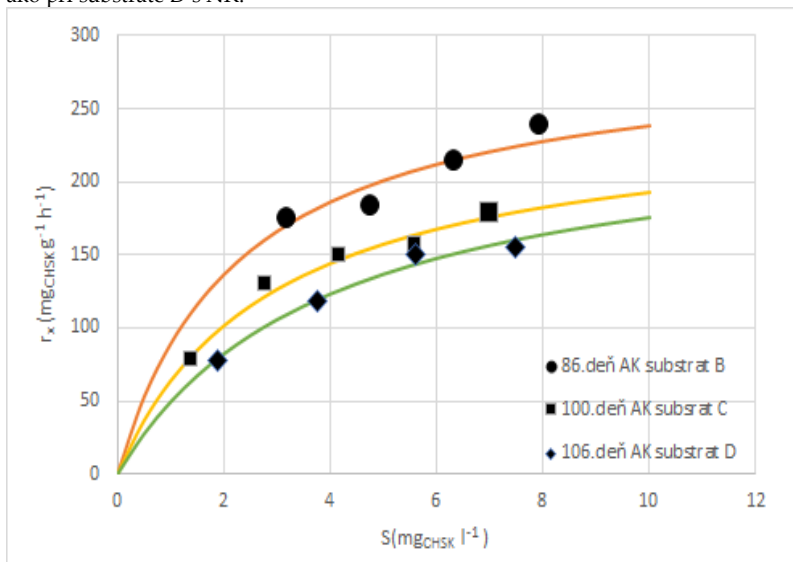
Obr. 2 Porovnanie rýchlosti odstraňovania substrátu A pre adaptovaný kal

Obrázok 3 popisuje priebeh odstraňovania substrátu B - D pre NK. Z nameraných výsledkoch vyplýva, že vo vzrastajúcej koncentrácii liečiv, sa výrazne znižuje aj respiračná rýchlosť. Je dôležité poznamenať, že výrazný rozdiel v rýchlosti odstraňovania substrátu bez liečiv a s liečivami, bol pozorovaný až pri koncentrácii liečiv 10 mg l^{-1} , čo je koncentrácia, ktorá sa bežne na ČOV nenachádza.



Obr. 3 Porovnanie rýchlosti odstraňovania substrátu s obsahom liečiv B - D pre neadaptovaný kal

Obrázok 4 popisuje respiračné rýchlosti AK so substrátmi B - D. Z grafu je viditeľné, že dochádza k poklesu respiračnej rýchlosti avšak pokles nie je až taký výrazný. Pri substráte D (10 mg l^{-1}) nebola pozorovaná taká výrazná zmena respiračnej rýchlosti ako pri substráte D s NK.



Obr. 4 Porovnanie rýchlosti odstraňovania substrátu s obsahom liečiv B - D pre adaptovaný kal

Tab. 3 Biokinetické parametre respirometrických meraní

deň merania	typ substrátu	Neadaptovaný kal		Adaptovaný kal	
		$r_{x,max}$	K_s	$r_{x,max}$	K_s
86.	A	255,2	0,5	283,4	3,6
	B	310,2	2,9	293,2	2,3
100.	A	174,8	0,7	258,9	4,4
	C	241,4	2,2	248,9	2,9
106.	A	247,7	2,9	259,4	4,8
	D	191,5	2,1	244,4	3,9

4 Záver

Počas dlhodobého prevádzkovania laboratórnych modelov bol testovaný vplyv prídavku liečiv na odstraňovanie ľahko rozložiteľného organického substrát pomocou

respirometrických meraní. Z výsledkov meranie je zrejmé, že nízky obsah liečiv ($2,5\text{mg l}^{-1}$) v substráte nemá takmer žiadny vplyv na odstraňovanie CHSK a amoniakálneho dusíka. Zvyšovaním koncentrácie liečiv na úroveň vyššiu ako je reálne dosahovaná na bežnej ČOV, dochádza z poklesu účinnosti odstraňovania CHSK a klesá aj účinnosť nitrifikačného procesu v takomto modeli.

Pomocou respirometrických meraní sa otestovali všetky použité druhy substrátov v experimente pre adaptovaný aj neadaptovaný kal. Z meraní vyplýva, že v prípade veľkého jednorazového zaťaženia kalu liečivami nastáva výrazný pokles respiračnej rýchlosti. Pri kale adaptovanom na dané zaťaženie nenastáva pokles respiračnej rýchlosti. Z výsledkov tiež vyplýva, že ľahko rozložiteľný substrát (bez obsahu liečiv) je rozkladaný konštantou rýchlosťou aj kalom adaptovaným na liečivá.

5 Literatúra

1. Faberová, M., Bodík, I., Ivanová, L., et al. Frequency and use of pharmaceuticals in selected Slovakian town via wastewater analysis, *Monatsh Chem*, DOI 10.1007/s00706-016-1853-0, **2016**, 1-8
2. Carvalho, I., T., Santos, L., Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario, *Environment Internation* **2016**, 1-22
3. Mackufak, T., Marton, M., Radičová, M., et al. Monitoring of micropollutants and resistant bacteria in wastewater and their effective removal by boron doped diamond electrode, *Monatsh Chem*, DOI 10.1007/s00706-016-1914-4, **2017**, 1-10
4. Ivanová, L., Szabová, P., Plekancová, M., et al. Vplyv vybraných liečiv na procesy aktivácie. In Zborník posterov 9. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou ODPADOVÉ VODY 2016. Štrbskom pleso, **2016**, 37-42
5. Ivanová, L. Hodnotenie vplyvy vybraných liečiv na procesy mezofilnej a termofilnej fermentácie, 2015. 88 s. Diplomová práca na Fakulte chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity na oddelení environmentálneho inžinierstva. Vedúci práce Igor Bodík.

Podakovanie

Táto práca bolo podporená Slovenskou agentúrou pre výskum a rozvoj v rámci zmluvy č. APVV-0122-12.

Analýza mikrobiálního složení vybraných probiotických výrobků metodou PCR

Bc. Barbora Tomanová

Ing. Štěpánka Trachtová, Ph.D., doc. RNDr. Alena Španová, CSc.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká republika
xctomanovab@fch.vutbr.cz

Probiotické výrobky jsou nedílnou součástí současného trhu. Kromě tradičního zastoupení mléčných probiotických výrobků však v současné době dochází také ke značnému rozšiřování sortimentu netradičních probiotických výrobků. Znalosti o složení mikrobiální komunity, jejích změnách a **potenciálních mikrobiálních interakcích** v matricích jsou zásadní pro zajištění produkce bezpečných a kvalitních výrobků. Vzhledem k možnostem poměrně přesné detekce, identifikace a kvantifikace lze pro analýzu mikrobiálního složení probiotických výrobků využít metody polymerázové řetězové reakce (PCR).

Pro práci byly vybrány různé druhy netradičních probiotických výrobků (probiotický krém, probiotické tampóny, orální probiotikum a sójový nápoj s probiotiky). Metodami fenol-chloroformové extrakce a magnetické separace byla z těchto komplexních matric izolována DNA v kvalitě vhodné pro metodu PCR. DNA byla použita pro následnou identifikaci deklarovaných bakteriálních rodů a druhů. Ve výrobcích byly prokázány bakterie rodu *Lactobacillus* a *Bacillus*. Po optimalizaci druhově specifických PCR byly prokázány také příslušné bakteriální druhy *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus fermentum* a *Lactobacillus rhamnosus*. Výsledky byly porovnány s údaji deklarovanými výrobci.

Klíčová slova: probiotické výrobky, izolace DNA, PCR identifikace

Využití neuronových sítí k urychlení cesty biotechnologie Hydal na globální trh

*Martin Vaněk
Přemysl Soldán*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Centrum materiálového výzkumu
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Česká republika
xcvanekm@fch.vut.cz*

Biotechnologie Hydal je v současnosti jedinou technologií, která umožňuje přeměnu odpadů v bioplasty. Poskytuje hned dvojí výhodu pro životní prostředí a lidstvo – odstraňuje nebezpečný odpad a produkuje plně biodegradabilní polymer biologického původu – polyhydroxybutyrát. Jako u každé technologie i její reálné uplatnění závisí na ekonomičnosti celé výroby. Součástí vývoje je tak i optimalizace jednotlivých procesů včetně klíčového fermentačního procesu, který je v případě biotechnologie Hydal mimořádně komplikovaným vícefázovým systémem. Prezentovaná práce se zabývala matematickou a statistickou analýzou experimentálních dat ze čtvrtprovozu a matematickým modelováním procesu pomocí jedné z metod umělé inteligence – neuronových sítí. Bylo dosaženo specifikace vhodných rozmezí některých parametrů procesu, tyto specifikace vedou ke standardizaci (stabilizaci) procesu a zvýšení výtěžnosti výroby. Z testovaných variant neuronových sítí některé dosahují obzvláště vysoké míry vystižení systému i při poskytnutí pouze základních a snadno nastavitelných parametrů, které lze při procesu snadno a levně kontrolovat (např. rychlost dávkování oleje a zdroje dusíku, okysličování,...). Neuronové sítě se tak ukazují jako vhodné pro modelování komplikovaného vícefázového systému vznikajícího při fermentaci v bioreaktoru. Projekt byl financován z rozpočtu města Ostravy ev. č. smlouvy 0934/2016/ŠaS.

Klíčová slova: neuronové sítě, optimalizace, polyhydroxybutyrát, umělá inteligence

Ovplyvnenie molekulovej hmotnosti kyseliny hyalurónovej zmenou fermentačného procesu

Monika Wikarská

Vladimír Velebný, Lukáš Franke, Ivana Márová

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Purkyňova 464/118, 612 00 Brno

xcwikarska@fch.vut.cz

1 Úvod

Kyselina hyalurónová (HA), známa aj ako hyaluronan, je lineárny polysacharid tvorený z opakujúcich sa jednotiek β -(1,3)-N-acetylglukozamínu a β -(1,4)-glukurónovej kyseliny (glukuronátu)¹. Môže byť dlhá až niekoľko tisíc jednotiek. Ak nie je naviazaná na iné molekuly, viaže sa na vodu² – vytvára veľmi viskózne gély, dokáže pohltiť až stonásobné množstvo kvapaliny³.

V súčasnosti existujú dva komerčné procesy produkcie kyseliny hyalurónovej (HA). Extrakcia z tkanív zvierat alebo aplikácia systému bakteriálnej exprese predovšetkým mikroorganizmami rodu *Streptococcus*⁴. Dôležitým parametrom kvality komerčného produktu HA vzhľadom na jeho reologické vlastnosti a ovplyvňovanie fyziologických reakcií je molekulová hmotnosť⁵. HA sa využíva v širokom spektre aplikácií v medicíne, potravinárstve a kozmetike⁶.

Oligosacharidy (0,5 kDa) stimulujú krvnú mikrocirkuláciu v pokožke, sú protizápalové a hydratačné. HA o nízkej molekulovej hmotnosti (10 – 150 kDa) stimuluje syntézu kolagénu a telu vlastnej HA. HA strednej molekulovej hmotnosti (150 – 1300 kDa) reguluje protizápalové procesy v pokožke a stimuluje intracelulárnu komunikáciu. Vysokomolekulová HA (1300 – 1800 kDa) zlepšuje hydrataciu pokožky a obnovuje funkciu kožnej bariéry⁷.

Bakteriálna produkcia poskytuje HA o vysokej molekulárnej hmotnosti a čistote¹. HA o nižšej molekulovej hmotnosti (aj oligosacharidy) je bežne vyrábaná kontrolovanou depolymerizáciou vysokomolekulárnej HA v čistej forme použitím fyzikálnych opatrení (teplota, tlak), ožarovania (elektrónový lúč, gama/mikrovlnné¹/UV⁸ žiarenie), pôsobením kyseliny, ozonolýzou¹, ultrazvukom⁸, kovom katalyzovanou radikálovou oxidáciou a enzymatickou hydrolýzou hyaluronidázami¹.

Biotechnologická výroba HA patrí medzi vysokoviskózne aeróbne fermentácie, keď je produkcia HA limitovaná prestupom kyslíka kvôli vysokej viskozite média.

Viskozita média môže byť znížená degradáciou vysokomolekulárnej HA na nízkomolekulárnu prídavkom hyaluronidáz počas fermentácie, čo je vo výsledku predpokladom pre zvýšenie výťažku HA⁸.

2 Experimentálna časť

2.1 Metódy

Kyselina hyaluronová bola pripravená 16 hodinovou vsádkovou kultiváciou mikroorganizmu *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* vo fermentoroch Labfors (Infors HT, Švajčiarsko) s vysterylizovaným komplexným médiom (Tabuľka 1) o objeme 2 l, v ktorom boli ustálené hodnoty teploty, pH, koncentrácia kyslíka a rýchlosť miešania. V priebehu fermentácie sa do bioreaktorov pridával enzým hyaluronát 4-glykanohydroláza (bovinná testikulárna hyaluronidáza – BTH) o rôznej koncentrácii a v rôznom čase kultivácie. Po prebehnutí fermentácie bola v produkčnom médiu zistená optická hustota spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 640 nm, ktorá podávala informáciu o množstve buniek v médiu. Čistota kultúry bola potvrdená mikroskopicky. Dynamická viskozita produkčného média bola zistená na rotačnom viskozimetri, molekulová hmotnosť a polydisperzita metódou separácie GPCs detekciou rozptylovým fotometrom a koncentrácia zvyškovej sacharózy bola stanovená spektrofotometricky po inverzii sacharózy pomocou enzymatickej oxidácie glukózooxidázou za vzniku farebného komplexu.

Výťažok HA bol stanovený gravimetricky. Vzorka 250 g produkčného média s roztokom EDTA a SDS na inaktiváciu mikroorganizmov a uvoľnenie kyseliny hyaluronovej z povrchu buniek bola doplnená na 1 l demineralizovanou vodou. Bunková hmota bola odstránená filtráciou a filtrát boľobohatený o 15 g NaCl a upravený na pH 5 kyselinou octovou pre dosiahnutie najrýchlejšieho vyžrážania a sedimentácie HA. Za stáleho miešania bol pridaný 100% izopropylalkohol (IPA) až na konečný objem 3 l, čím sa vyzrážala HA, ktorá sedimentovala 30-60 min. Produkt bol trikrát purifikovaný dekantáciou IPA o objeme 300 ml.

Bol vykonaný pokus na zrážanie HA o rôznych molekulových hmotnostiach po dlhšom postupe gravimetrického stanovenia výťažku. Do 200 ml roztoku HA o koncentrácii 5 g/l bolo pridané 400 ml 100 % IPA a boli pozorované zmeny v zákale, sedimentácia a kvalita zrazeniny.

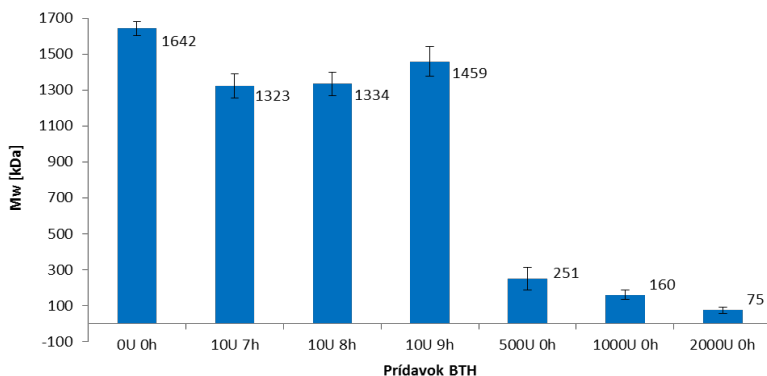
Tabuľka 1: Zloženie komplexného média pre kultiváciu

Zložka	Množstvo
pšeničný pepton	10,0 g
kvásničný autolyzát	2,5 g
sacharóza	40,0 g
heptahydrát síranu horečnatého	0,4 g
dodekahydrát hydrogenufosforečnanu sodného	4,0 g
monohydrát glutamanu sodného	2,0 g
2,22 M roztok chloridu manganičitého	1,0 ml

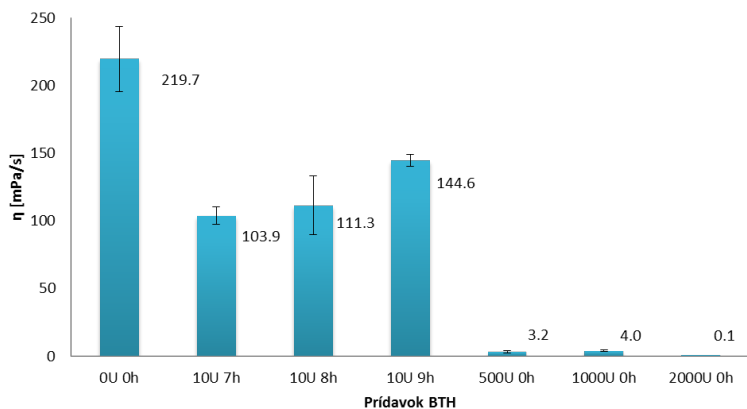
2.2 Výsledky a diskusia

Prídavok hyaluronidázy BTH bol uskutočnený v rôznych hodinách fermentácie a o rôznej koncentrácii. Po pridaní 10 jednotiek enzýmu na gram vyprodukovanej HA v 7. – 9. hodine fermentácie vznikali vysokomolekulárne útvary, ale významne sa znížila viskozita média. Najviac sa osvedčil prídavok enzýmu v nultej hodine fermentácie, teda hneď po zaočkovaní fermentorov, pretože enzým pracoval dlhšie, mal väčšiu účinnosť a prídavok bol technicky najjednoduchší. Prídavkom 500 a 1000 jednotiek bola dosiahnutá dĺžka reťazca odpovedajúca strednej molekulovej hmotnosti. Po prídavku 2000 jednotiek enzýmu došlo k poklesu molekulovej hmotnosti na 74,7 kDa, a teda k vzniku nízkomolekulárnej HA. V týchto prípadoch bola viskozita média veľmi nízka, prestup kyslíka bol preto priaznivý počas celej doby fermentácie. Predpoklad pre zvýšenie výťažku prídavkom hyaluronidázy ale nebol potvrdený. Z pokusu pre zistenie účinnosti zrážania HA o rôznej molekulovej hmotnosti obvyklým spôsobom gravimetrického stanovenia (Tabuľka 2) môže byť usúdené, že pri vzniku HA o molekulovej hmotnosti nižšej ako 350 kDa dochádza ku jej čiastočnému odplaveniu počas prvej dekantácie, tým aj ku strate výťažku. Od molekulovej hmotnosti HA nižšej ako 120 kDa dochádza kvôli neúplnému vyzrážaniu a nízkej sedimentácii HA ku výraznej strate výťažku.

Medzi koncentráciou vzniknutej HA a zvyškovej glukózy (Obrázok 3) vo východiskovej kultivácii a po prídavku 10 jednotiek enzýmu na gram vyprodukovanej HA v rôznych časoch kultivácie bola potvrdená korelácia – pri vyššom výťažku HA bol zaznamenaný pokles koncentrácie zvyškovej glukózy a pri nižšom jej nárast. Tento trend nebol uplatnený práve pri prídavku rádovo vyšších koncentrácií enzýmu. Z nízkych koncentrácií zvyškovej glukózy pri pokuse s 500 a 2000 jednotkami enzýmu by sa dal predpokladať nárast výťažku HA, nami prevedeným spôsobom gravimetrického stanovenia však bol zaznamenaný jeho výrazný pokles. Molekulová hmotnosť bola v týchto prípadoch nižšia ako 350 kDa, čím sa na základe poznatkov z pozorovania zrážania HA potvrdzuje predpoklad odplavenia výťažku pri zrážaní, preto môžeme tieto hodnoty považovať za skreslené. Veľmi zaujímavý by mohol byť pokus s 1000 jednotkami enzýmu, pri ktorom bol zaznamenaný relatívne vysoký výťažok aj koncentrácia zvyškovej glukózy, relevantnosť tohto výsledku by však mala byť overená ďalšími pokusmi.



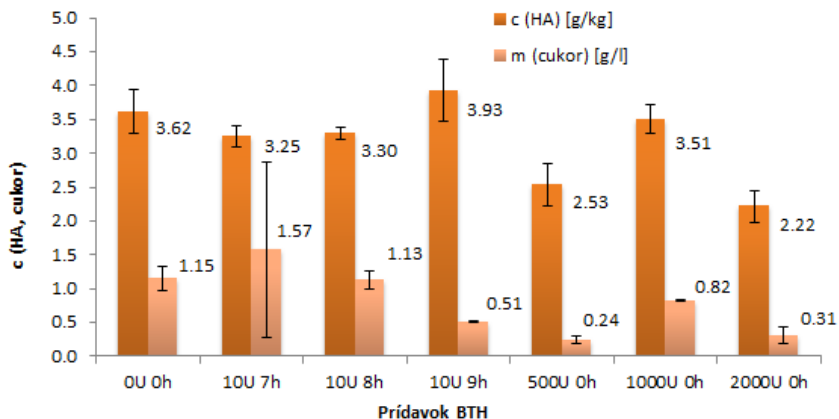
Obrázok 1: Závislosť molekulovej hmotnosti vzniknutej HA na množstve a čase pridaného enzýmu



Obrázok 2: Závislosť viskozity HA v produkčnom médiu na množstve a čase pridaného enzýmu

Tabuľka 2: Pozorovanie účinnosti zrážania HA o rôznej molekulovej hmotnosti obvyklým spôsobom gravimetrického stanovenia výťažku

Roztok HA 200 ml	Prídavok 400 ml 100% IPA	
M _w [kDa]	Zrazenina, sedimentácia	Roztok nad zrazeninou
1000 - 1250	jenné vločky	číry
300 - 500	jenné vločky , pomalšia sedimentácia	číry
120 - 350	zrazenina na stenách	mierne zakalený
70 - 120	mazľavá zrazenina na dne	zakalený
50 - 70	mazľavá zrazenina na dne	zakalený
30 - 50	mazľavá zrazenina na dne	zakalený



Obrázok 3: Korelácia medzi množstvom vznikutej HA a koncentráciou zvyškovej glukózy

4 Závěry

Bola dokázaná modifikácia molekulej hmotnosti HA množstvom prídavku BTH v rôznom čase priebehu fermentačného procesu. Po prídavku 10 jednotiek enzýmu na gram vyprodukovanej HA v siedmej hodine kultivácie vznikali vysokomolekulárne útvary rovnako ako pri východiskovej kultivácii, zatiaľ čo dynamická viskozita klesla z pôvodných 219,7 Pa/s na 103,9 Pa/s. Tento pokles viskozity by mohol zjednodušiť náročné purifikačné procesy pri výrobe HA bez zmeny jej funkcie na základe molekulej hmotnosti. Takisto má veľmi pozitívny vplyv na prestup kyslíka. S tým je spojené zvýšenie výťažku HA, ktoré nami vykonanými experimentami nebolo dokázané, ale mohlo by byť viditeľné pri vyššej počiatkovej koncentrácii sacharózy.

Po pridaní 2000 jednotiek BTH na gram vyprodukovanej HA vznikala nízkomolekulárna HA. Viskozita média bola veľmi nízka, no predpokladané zvýšenie výťažku HA nebolo v tomto prípade dokázané pravdepodobne kvôli nízkej koncentrácii IPA pri procese zrážania nízkomolekulárnej HA. Výťažok bol teda čiastočne odplavený pri prvej dekantácii.

5 Literatúra

1. BOERIU, Carmen G., Jan SPRINGER, Floor K. KOOY, Lambertus A. M. VAN DEN BROEK a Gerrit EGGINK, 2013. Production Methods for Hyaluronan. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*. 2013. DOI: 10.1155/2013/624967. ISSN 1687-9341.
2. NECAS, J., L. BARTOSIKOVA, P. BRAUNER a J. KOLAR. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni medicina*. 2008, 53(8), 397-411.
3. SZE, Jun Hui, Jeremy C. BROWNLIE, Christopher A. LOVE, Guocheng DU a Jian CHEN, 2016. High-yield novel leech hyaluronidase to expedite the preparation of specific hyaluronan oligomers: a mini review. *3 Biotech*. 6(1), -. DOI: 10.1007/s13205-016-0379-9. ISSN 2190-572x.
4. SZE, Jun Hui, Jeremy C. BROWNLIE, Christopher A. LOVE, Lambertus A. M. VAN DEN BROEK a Gerrit EGGINK, 2016. Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech*. 6(1), -. DOI: 10.1007/s13205-016-0379-9. ISSN 2190-572x.
5. LIU, Long, Yanfeng LIU a LI. *Microbial Cell Factories*. 2011, 10(1). DOI: 10.1186/1475-2859-10-99. ISSN 1475-2859.
6. JIN, Peng, Zhen KANG, Na ZHANG, Guocheng DU a Jian CHEN, 2014-3-26. High-yield novel leech hyaluronidase to expedite the preparation of specific hyaluronan oligomers. *Scientific Reports*. 4, -. DOI: 10.1038/srep04471. ISSN 2045-2322
7. Látky proti stárnutí pleti, *Contipro* [online]. [cit. 2017-03-01].
8. LIU, Long, Guocheng DU, Jian CHEN, Maio WANG a Jun SUN, 2008. Influence of hyaluronidase addition on the production of hyaluronic acid by batch culture of *Streptococcus zooepidemicus*: a mini review. *Food Chemistry*. 110(4), 923-926. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.082. ISSN 03088146.

*Sekce studentů bakalářských a magisterských
studijních programů*

*Tématický okruh anorganická chemie,
materiálové vědy a inženýrství*

Elektrochemická charakterizácia Cu katalyzátorov

Jana Bodišová

Miroslav Gál

*Slovenská technická univerzita v Bratislave
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie
Ústav anorganickej chémie, technológie a materiálov
Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
bodisova.jana@gmail.com*

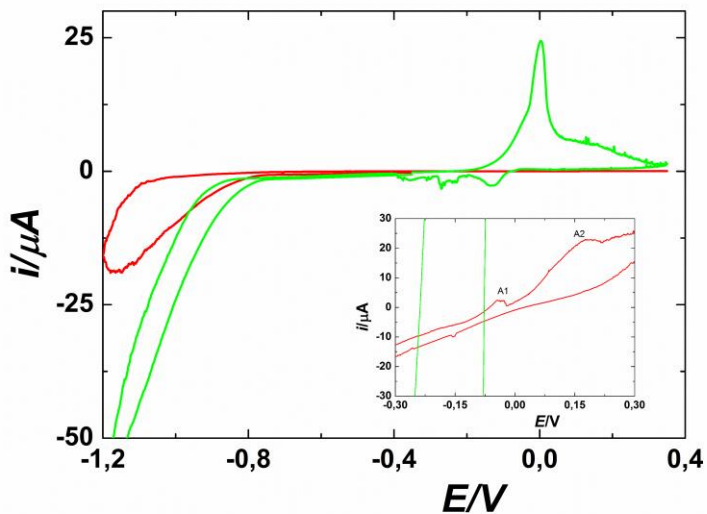
1 Úvod

Elektrochemická charakterizácia je perspektívnou metódou štúdia vlastností katalyzátorov. Cyklickú voltampérometriu zaraďujeme do skupiny potenciodynamických metód, pričom jej využitie je výrazné pri kvalitatívnej analýze a analýze elektródového deja¹. Je významná aj vďaka inštrumentálnej jednoduchosti. Abrazívna cyklická voltampérometria patrí medzi špeciálne druhy cyklickej voltampérometrie. Pri tejto metóde sa vzorka práškoveho katalyzátora aplikuje na povrch uhlíkovej pastovej elektródy, ktorú je možné pripraviť napr. homogenizáciou práškoveho uhlíka a vazelíny. Výhodou tohto typu elektród je ľahká príprava a obnoviteľný povrch vhodný pre aplikáciu tuhej práškovej vzorky². Voltampérometrická charakterizácia je citlivá metodika vhodná na rozlišovanie zlúčenín schopných katalytických reakcií. Dáta získané z tejto techniky sú široko využiteľné, pričom nie sú obmedzené geometrickým povrchom. Zároveň poskytujú informácie aj o kryštalickej štruktúre³. Výsledok našej práce predstavuje zistenie kvalitatívneho zloženia vybraných katalyzátorov s ohľadom na ich katalytickú účinnosť. Namerané výsledky sme porovnávali so štandardmi, oxidom meďnatým a meďným. Zo získaných cyklických voltampérogramov sme schopní predpokladať zastúpenie rôznych foriem medi v skúmaných katalyzátoroch.

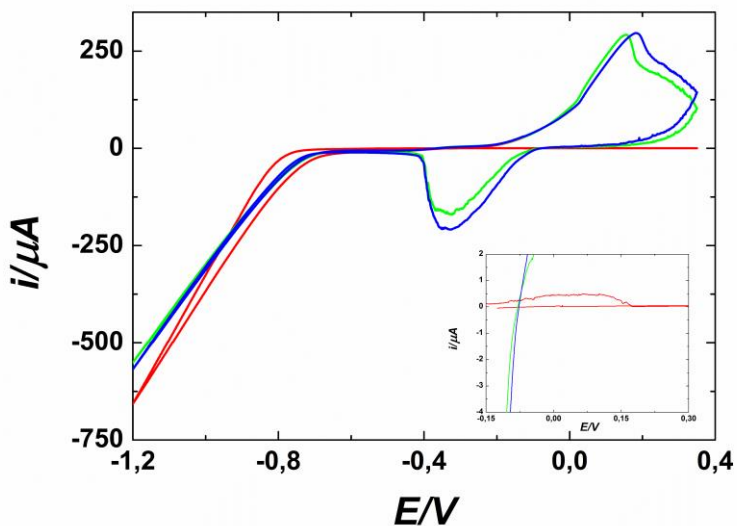
2 Experimentálna časť

Inštrumentálne vybavenie pozostávalo z trojelektrodového systému, pričom pracovnou elektródou bola uhlíková pastová elektróda, ako referenčnú elektródu sme zvolili argenochloridovú elektródu a pomocnou elektródou bol platinový drôtik. Pracovali sme v prostredí 0,1 M roztoku PBS. Účinnosť analyzovaných katalyzátorov pripravených na Oddelení organickej technológie, katalýzy a ropy FCHPT STU, sa študovala v procese katalytickej oxidácie furfuralu v kvapalnej fáze so zameraním na

kyselinu maleínovú ako hlavný produkt reakcie (používa sa vo farmaceutickom, textilnom, papierenskom priemysle a tiež v chemickom na prípravu rôznych chemikálií)⁴.



Obrázok 1: Cyklický voltampérogram štandardu oxidu meďného

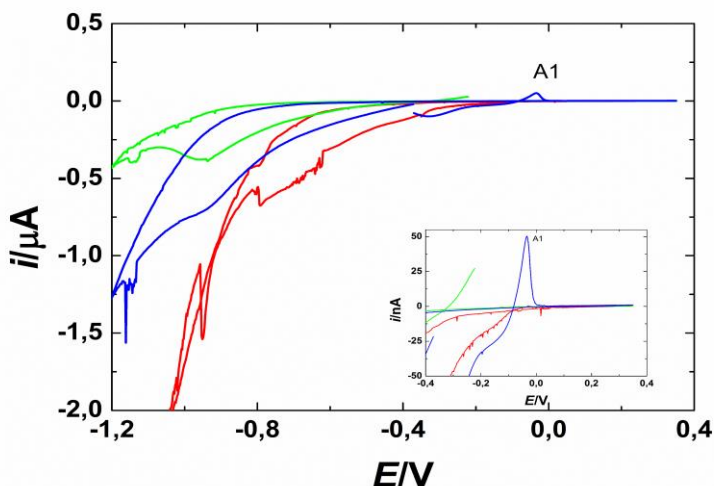


Obrázok 2: Cyklický voltampérogram štandardu oxidu meďnatého

Na Obrázku 1 pozorujeme cyklický voltampérogram oxidu meďného Cu₂O pri polarizácii elektródy v kladnom smere. Oxidačný pík A1 predstavuje oxidáciu medi z oxidačného stupňa Cu^I na oxidačný stupeň Cu^{II}. Na cyklickom voltampérome oxidu meďnatého (Obrázok 2) pri počiatočnej polarizácii elektródy v kladnom smere nevidíme žiaden anódový pík, predstavujúci oxidáciu Cu^I na Cu^{II}, na rozdiel od cyklického voltampérogramu Cu₂O.

Tabuľka 1: Analyzované vzorky katalyzátorov (*M = príslušný kov alkalických zemin*)

Pracovný názov katalyzátora	Štruktúra	Cu/P	M/Cu
MEK1	Cu ₂ P ₂ O ₇	1	-
MEK8	-	0,5	0,5
MEK9	CaCuP ₂ O ₇	0,5	1
MEK27	BaCuP ₂ O ₇	0,5	1
MEK28	MgCuP ₂ O ₇	0,5	1
MEK29	SrCuP ₂ O ₇	0,5	1



Obrázok 3: Cyklické voltampérogramy vzoriek katalyzátorov MEK1, MEK8, MEK9

Následne sme uskutočnili merania aj s katalyzátormi MEK1, MEK8, MEK9 a výsledné cyklické voltampérogramy porovnali s nameranými štandardmi. Oxidačný pík A1, ktorý predstavuje oxidáciu meďného kationu na meďnatý je viditeľný len na cyklickom voltampérome MEK9. Preto môžeme konštatovať, že katalyzátor MEK9 obsahuje meď vo forme Cu^I a Cu^I na rozdiel od katalyzátorov MEK1 a MEK8, ktorých častice medi sú len v oxidačnom stave Cu^{II}. Vzhľadom na najvyššie výťažky žiadaného produktu pri použití katalyzátora MEK9 môžeme predpokladať, že meď vo forme Cu^I je zodpovedná za vyššiu účinnosť katalyzátora. Analogicky podľa MEK9 boli preto

pripravené aj katalyzátory MEK27, MEK28, MEK29 a sledoval sa vplyv substitúcie Ca za ďalšie prvky kovov alkalických zemín. Z nameraných cyklických voltampérogramov sa javili ako najvhodnejšie substituenty Ca, Mg a Sr. Na základe experimentov, kde sa sledoval výťažok kyseliny maleínovej ako hlavného produktu oxidácie furfuralu, rástla účinnosť katalyzátorov pri porovnaní vplyvu substituentov v smere $Ba < Sr < Mg < Ca$. Následne sme uvažovali, prečo je práve vápnik najvhodnejší substituent. Zvážili sme vplyv rastúceho atómového polomeru s rastúcim protónovým číslom. Veľkosť atómového polomeru by mohla ovplyvňovať vznik požadovanej štruktúry katalyzátora, a teda prípadne znižovať jeho katalytickú účinnosť. Jednou z významných charakteristík katalyzátorov sú ich acidobázické vlastnosti. Rastúca bázicita koreluje s účinnosťou daných katalyzátorov.

3 Záver

Nesubstituovaný katalyzátor MEK1 $Cu_2P_2O_7$ obsahuje na základe výsledkov cyklickej voltampérometrie vo svojej štruktúre len meď vo Cu^{II} . Meď vo forme Cu^I je pravdepodobne zodpovedná za vyššiu účinnosť katalyzátora. Na základe našich elektrochemických meraní môžeme tvrdiť, že v katalyzátoroch s obsahom Mg, Ca a Sr sa nachádza meď vo forme Cu^{II} a Cu^I . Na základe výsledkov experimentov pyrofosfátový katalyzátor obsahujúci Ca vykazoval zo študovaných katalyzátorov najvyššiu katalytickú účinnosť, čo by mohlo byť odôvodnené vplyvom atómového polomeru, ale najmä vplyvom bázicity ako jednej z kľúčových vlastností katalyzátora.

4 Literatúra

1. BAREK J. a i. 2005. Elektroanalytická chemie. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5
2. BAREK J. a. i. 2006. Možnosti inovací v elektroanalytické chemii. Praha 2006. ISBN 04.3.07/4.2.01.1/0002
3. HORVÁTH B. 2014. Gas-phase epoxidation of propylene over iron-containing catalysts: the effect of iron incorporation in the support matrix. In Catal. Sci. Technol. 2014. ISSN 2664-2673, vol. 4, DOI 10.1039/C4CY00273C
4. Kirk – Othmer: *Encyclopedia of Chemical Technology*, elektronická verzia na CD

Příprava a studium reaktivity série N,N' -alkylovaných derivátů DPP pro organickou elektroniku

Bc. Martin Cigánek
Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.

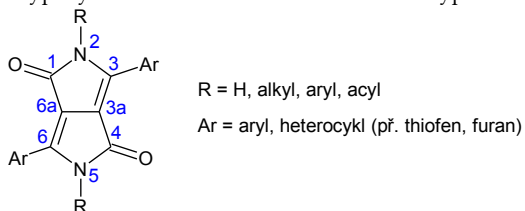
*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká republika
xccciganek@fch.vut.cz*

1 Úvod

Díky stále se zvyšující spotřebě elektrické energie je jednou z hlavních výzev 21. století vývoj nových technologií a materiálů, které tuto energii dovedou nejen účinně vyrábět z obnovitelných zdrojů, ale také ji v elektronických zařízeních co nejefektivněji využívat. Vysoké nároky jsou kladeny rovněž na výrobní náklady takových materiálů a jejich vliv na životní prostředí. Mnoho úsilí tak bylo vloženo do vývoje organických molekul s úzkým zakázaným pásem, které všechny tyto podmínky splňují¹. Za poslední desetiletí byla vyvinuta celá řada organických polovodičů, nacházejících uplatnění v široké škále oblastí organické elektroniky, např. na výrobu organických solárních článků (OSC)², polem řízených tranzistorů (OFET)³, světlo emitujících diod (OLED)⁴, ale také v zařízeních pro medicínské aplikace, jako jsou např. biosenzory⁵. Ačkoliv na počátku tohoto výzkumu byl enormní rozvoj organických polovodičů na bázi rozpustných polymerů⁶, v posledních letech se pozornost mnohem více zaměřuje na malé organické molekuly, které oproti polymerům vynikají lepší čistotou, zpracovatelností, dobře definovanou molekulovou strukturou a tím předvídatelnějšími vlastnostmi, a také výrazně jednodušší možností modifikace⁷. Obzvláště atraktivní jsou v současnosti tzv. ambipolární polovodiče, disponující schopností přenášet jak elektrony, tak díry s podobnými mobilitami. Tato vlastnost materiálu může výrazně usnadnit výrobu elektrických obvodů bez nutnosti selektivně deponovat *n*- a *p*-kanálové materiály, ale použít pouze jednosložkový systém⁸. Ambipolárních vlastností je většinou docíleno vhodným výběrem jádra polovodiče a modulací jeho energetických hladin pomocí chemické modifikace⁹.

Tato práce pojednává o diketopyrrolopyrrolech (DPPs), organických pigmentech objevených již v 70. letech 20. století¹⁰. Jádro molekuly DPP tvoří π -konjugovaný bicyklický dilaktam, substituovaný v pozicích 3 a 6 téměř výhradně aromatickými substituenty (viz *Obrázek 1*). Právě elektron-akceptorní charakter společně s planární konjugovanou strukturou dělají z molekuly DPP univerzální stavební jednotku pro syntézu materiálů s úzkým zakázaným pásem¹¹. Díky těmto vlastnostem, odhaleným až

po několika letech od objevu, se tzv. „vysoce výkonný pigment“ DPP rázem stal předmětem zájmu řady vědeckých studií na vývoj organických polovodičů a deriváty DPP tak dnes nacházejí uplatnění ve výše zmíněných oblastech¹². Současná situace na trhu si žádá velmi populární deriváty disponující ambipolárními vlastnostmi, kterých je u molekul DPP docíleno poměrně komplikovanou derivatizací, kdy je nutné do skeletu začlenit silně elektron-akceptorní skupiny. Doposud nejlepších výsledků bylo dosaženo v práci Zhua a kol. z roku 2016¹¹, kde materiál na bázi DPP s prodlouženou konjugací prostřednictvím thieno[3,2-*b*]thiofenu v pozicích 3, 6 a začleněnými dikyanovinyllovými skupinami dosahoval mobility elektronů $0,80 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a děr $8,65 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Zejména hodnota elektronové mobility o téměř celý řád překonává dosud nejvyšší popsane hodnoty *n*-typových charakteristik u materiálů tohoto typu.



Obrázek 1: Obecný skelet molekuly diketopyrrolopyrrolu (DPP)

Základní *N,N'*-nesubstituované deriváty DPP vynikají mimořádnou stabilitou a elektrickými vlastnostmi, zejména z důvodu těsné agregace π -konjugovaných jader intermolekulárními vodíkovými vazbami¹³. Díky těmto interakcím jsou však také prakticky nerozpustné ve většině známých organických rozpouštědel, což značně omezuje jejich aplikovatelnost¹⁴. Začlenění alkylových substituentů na heteroatomy dusíku v molekule DPP způsobí zánik vodíkových vazeb, což je doprovázeno výraznou změnou fyzikálních i chemických vlastností výsledných derivátů¹⁵. Dochází především k významnému zvýšení rozpustnosti, což rozšiřuje jejich využití v řadě aplikací, jako jsou např. tisk funkčních vrstev nebo deponace metodou rotačního lití¹⁴. Právě derivatizace molekuly DPP substitucí alkylových řetězců na heteroatomy dusíku a studium vlivu těchto substituentů na výsledné vlastnosti derivátů je hlavním cílem této práce.

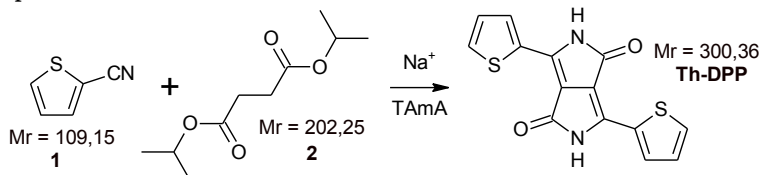
2 Experimentální část

Experimentální část se skládá ze dvou základních fragmentů. V prvním z nich je věnována pozornost syntéze a purifikaci dvou základních derivátů DPP obsahujících aromatické jednotky thiofenu (**Th-DPP**) a fenylu (**Ph-DPP**). Dále bylo připraveno klíčové alkylační činidlo, 1-(2-bromethyl)adamantan (**5**), které vedlo k přípravě zcela nových, jedinečných derivátů.

Ve druhé části je syntéza zaměřena na přípravu série *N,N'*-alkylovaných derivátů DPP, kdy jako alkylační činidla byla použita komerčně získaná 1-bromdodekan, 2-ethylhexyl bromid (Sigma-Aldrich) a výše zmíněný 1-(2-bromethyl)adamantan, který byl připraven v rámci experimentální části.

2.1 Syntéza výchozích látek

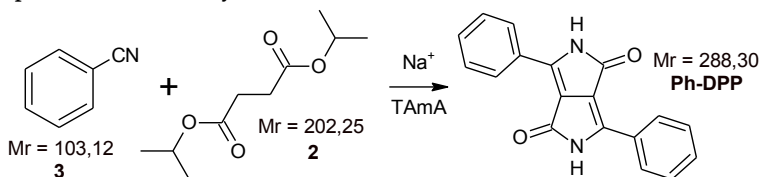
- Příprava základního thiofenového derivátu DPP (Th-DPP):



Obrázek 2: Příprava základního thiofenového derivátu DPP (Th-DPP)

Ve vysušené baňce pod argonovou atmosférou bylo ve 400 ml *tert*-amylalkoholu (TAmA) za refluxu (~102 °C) a za přítomnosti katalytického množství chloridu železitého (FeCl₃) rozpuštěno 6,01 g (0,26 mol) sodíku. Po 40 minutách byla reakční směs ochlazena na 60 °C a bylo přidáno 25,00 g (0,23 mol) látky 1. Poté byla směs opět přivedena k refluxu a postupně bylo přikapáváno po dobu 5 hodin 28,21 g (0,14 mol) látky 2 rozpuštěné ve 100 ml TAmA. Směs byla do druhého dne míchána za refluxu. Poté byla ochlazena, nalita na vodu, pH směsi bylo upraveno kyselinou octovou na hodnotu 3, poté byla směs přivedena k refluxu a po dobu 6 hodin byla prováděna hydrolyzá. Po ochlazení byla heterogenní směs zfiltrována, tuhý podíl byl povařen v metanolu a opět zfiltrován. Po důkladném vysušení bylo získáno 18 g tmavě červené práškovité látky **Th-DPP** (výtěžek: 42 %). Bod tání > 400 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ = 11,21 (s, 2H), 8,20 (d, *J* = 3,01 Hz, 2H), 7,93 (d, *J* = 3,04 Hz, 2H), 7,31–7,27 (m, 2H). CHN analýza: teoretická = C 55,98 %; H 2,68 %; N 9,33 %, stanovená = C 55,42 %; H 2,37 %; N 9,71 %.

- Příprava základního fenylového derivátu DPP (Ph-DPP):

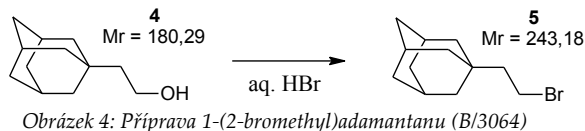


Obrázek 3: Příprava základního fenylového derivátu DPP (Ph-DPP)

Ve vysušené baňce pod argonovou atmosférou bylo ve 200 ml *tert*-amylalkoholu (TAmA) za refluxu (~102 °C) a za přítomnosti katalytického množství chloridu železitého (FeCl₃) rozpuštěno 2,53 g (110 mmol) sodíku. Po 30 minutách byla reakční směs ochlazena na 60 °C a bylo přidáno 10,00 g (97 mmol) látky 3. Poté byla směs opět přivedena k refluxu a postupně bylo přikapáváno po dobu 3 hodin 12,10 g (60 mmol) látky 2 rozpuštěné ve 30 ml TAmA. Směs byla do druhého dne míchána za refluxu. Poté byla ochlazena, nalita na vodu, pH směsi bylo upraveno kyselinou octovou na hodnotu 3, poté byla směs přivedena k refluxu a po dobu 3 hodin byla prováděna hydrolyzá. Po ochlazení byla heterogenní směs zfiltrována, tuhý podíl byl povařen v metanolu a opět zfiltrován. Po důkladném vysušení bylo získáno 6,90 g intenzivně červené práškovité látky **Ph-DPP** (výtěžek: 40 %). Bod tání 371 °C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ = 11,29 (s, 2H), 8,43 (m, 4H), 7,55 (m, 6H).
 CHN analýza: teoretická = C 74,99 %; H 4,20 %; N 9,72 %, stanovená = C 74,13 %; H 3,98 %; N 10,02 %.

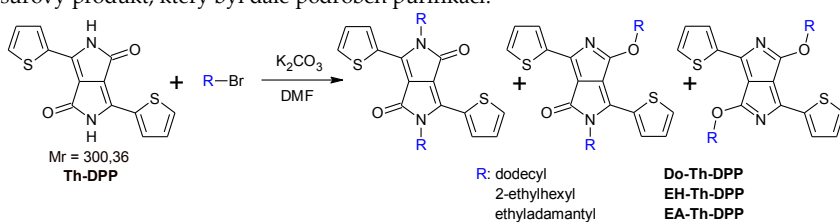
• **Příprava 1-(2-bromethyl)adamantanu (5):**



Do tříhrdlé baňky bylo nalito 115 ml 48% (0,981 mol) kyseliny bromovodíkové a bylo přidáno 22,10 g (0,123 mol) látky **4**. Heterogenní směs byla míchána za refluxu (~150 °C) po dobu 22 hodin. Poté byla směs ochlazena a extrahována chloroformem. V dalším kroku byla organická fáze promyta 96% kyselinou sírovou, následně 10% hydrogenuhlíčitánem sodným a vodou, poté vysušena a chloroform byl odpařen. Surový produkt byl purifikován rekrystalizací v metanolu. Získáno bylo 27,35 g bílé krystalické látky **5** (výtěžek: 92 %). Bod tání 68 °C (lit.¹⁶ 68–69 °C). GC-MS (IT, m/z): teoretická pro $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{Br}$ = 243,18; stanovená 243,11.

2.2 Syntéza cílových thiofenových derivátů DPP

Ve vysušené baňce pod argonovou atmosférou bylo rozpuštěno 1,00 g (3,33 mmol) derivátu **Th-DPP** ve 45 ml bezvodého N,N -dimethylformamidu (DMF). Poté bylo přidáno 2,38 g (17,22 mmol) uhlíčitanu draselného (K_2CO_3) a teplota reakční směsi byla zvýšena na 60 °C. Po 1 hodině míchání bylo postupně přikapáno ekvimolární množství (11,70 mmol) alkylbromidu (**R-Br**) rozpuštěného v DMF. Po 20 minutách byla teplota směsi zvýšena na 105 °C a 2 hodiny míchána. Poté bylo veškeré rozpouštědlo z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku (1 mbar), pevný materiál byl suspendován v metanolu a zfiltrován. Filtrační koláč byl důsledně promyt vodou a poté opět metanolem. Po vysušení byl získán surový produkt, který byl dále podroben purifikaci.



• **Příprava dodecyl-thiofenového derivátu DPP (Do-Th-DPP):**

N,N' -Do-Th-DPP: Ze surového produktu bylo získáno rekrystalizací v metanolu 1,58 g tmavě fialové krystalické látky (výtěžek: 75 %). Bod tání 128 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ = 8,92 (dd, J = 3,9; 1,1 Hz, 2H), 7,63 (dd, J = 5,0; 1,1 Hz, 2H), 7,30–7,27 (m, 2H), 4,07 (t, J = 7,8 Hz, 4H), 1,74–1,41 (m, 4H), 1,35–1,20 (m, 36H), 0,87

(*t*, *J* = 6,5 Hz, 6H). CHN analýza: teoretická = C 71,65 %; H 8,86 %; N 4,40 %, stanovená = C 71,42 %; H 8,62 %; N 4,61 %.

***N,N'*-Do-Th-DPP:** Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem (*R_f* = 0,42) bylo ze surového produktu získáno 0,13 g tmavě fialové pevné látky (výtěžek: 6 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,48 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, *J* = 4,4; 2,1 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,26 (dd, *J* = 4,3; 1,8 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 4,54 (m, 2H), 3,95 (m, 2H), 1,83 (m, 2H), 1,71 (m, 2H), 1,40–1,21 (m, 36H), 0,83 (m, 6H). CHN analýza: teoretická = C 71,65 %; H 8,86 %; N 4,40 %, stanovená = C 71,07 %; H 8,68 %; N 4,59 %.

***O,O'*-dodecyl-thiofen DPP:** Nebyl přítomen v reakční směsi.

- **Příprava 2-ethylhexyl-thiofenového derivátu DPP (EH-Th-DPP):**

***N,N'*-EH-Th-DPP:** Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem (*R_f* = 0,35) bylo ze surového produktu získáno 0,72 g tmavě červené pevné látky (výtěžek: 41 %). Bod tání 126 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,88 (dd, *J* = 5,1; 2,7 Hz, 2H), 7,64 (dd, *J* = 6,3; 3,9 Hz, 2H), 7,29 (dd, *J* = 7,2; 1,2 Hz, 2H), 4,04 (m, 4H), 1,88 (m, 2H), 1,40–1,24 (m, 16H), 0,92–0,85 (m, 12H). CHN analýza: teoretická = C 68,66 %; H 7,68 %; N 5,34 %, stanovená = C 68,12 %; H 7,47 %; N 5,53 %.

***N,N'*-EH-Th-DPP:** Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem (*R_f* = 0,50) bylo ze surového produktu získáno 0,32 g fialové pevné voskovité látky (výtěžek: 18 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,51 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 8,22 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 4,1; 1,6 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 7,26 (dd, *J* = 4,3; 1,2 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 4,54 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 1,80 (m, 2H), 1,38–1,23 (m, 16H), 0,87 (m, 12H). CHN analýza: teoretická = C 68,66 %; H 7,68 %; N 5,34 %, stanovená = C 68,21 %; H 7,54 %; N 5,12 %.

***O,O'*-EH-Th-DPP:** Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem (*R_f* = 0,80) bylo ze surového produktu získáno 0,05 g tmavě fialové pevné voskovité látky (výtěžek: 3 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,01 (dd, *J* = 4,9; 2,4 Hz, 2H), 7,52 (dd, *J* = 6,3; 3,9 Hz, 2H), 7,13 (dd, *J* = 5,7; 3,3 Hz, 2H), 4,50 (m, 4H), 1,78 (m, 2H), 1,34–1,19 (m, 16H), 0,84 (m, 12H). CHN analýza: teoretická = C 68,66 %; H 7,68 %; N 5,34 %, stanovená = C 68,34 %; H 7,93 %; N 5,60 %.

- **Příprava ethyladamantyl-thiofenového derivátu DPP (EA-Th-DPP):**

***N,N'*-EA-Th-DPP:** Ze surového produktu bylo získáno rekrystalizací v toluenu 0,75 g fialové krystalické látky (výtěžek: 36 %). Bod tání 326 °C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,91 (d, *J* = 3,8 Hz, 2H), 7,64 (d, *J* = 4,9 Hz, 2H), 7,27 (dd, *J* = 6,0; 5,0 Hz, 2H), 4,14–4,11 (m, 4H), 1,99–1,82 (m, 6H), 1,75–1,72 (m, 7H), 1,68–1,65 (m, 19H), 1,53–1,51 (m, 3H). EI [*m/z*]: teoretická 624,89; stanoveno 624,97. CHNS analýza: teoretická pro C₃₈H₄₄N₂O₂S₂ = C 73,04 %; H 7,10 %; N 4,48 %; S 10,26 %, stanovená = C 73,15 %; H 7,08 %; N 4,42 %; S 10,38 %.

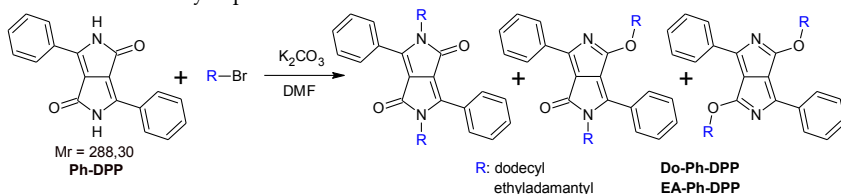
***N,O'*-EA-Th-DPP:** Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluen/chloroform 3/1 (*R_f* = 0,55) bylo ze surového produktu získáno 0,42 g tmavě fialové pevné látky (výtěžek: 20 %). Bod tání 218 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ = 8,43 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 8,25 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 7,69 (dd, *J* = 5,9; 4,1 Hz, 1H), 7,49 (dd, *J* = 5,6; 4,1 Hz, 1H), 7,27 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 7,24–7,17 (m, 1H), 4,67–4,63 (*t*, *J* = 7,8 Hz, 2H), 4,06–4,00 (m, 2H), 1,98 (m, 6H), 1,75–1,67 (m, 21H),

1,62–1,53 (m, 9H). CHN analýza: teoretická = C 73,04 %; H 7,10 %; N 4,48 %, stanovená = C 72,81 %; H 7,01 %; N 4,57 %.

O,O'-EA-Th-DPP: Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluen/chloroform 3/1 ($R_f = 0,88$) bylo ze surového produktu získáno 0,13 g tmavě fialové pevné látky (výtěžek: 6 %). Bod tání 268 °C. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 8,05$ (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 7,55 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H), 7,19 (dd, $J = 8,1$; 1,1 Hz, 2H), 4,69–4,65 (m, 4H), 1,98 (m, 6H), 1,70–1,64 (m, 26H), 1,34–1,26 (m, 3H). CHN analýza: teoretická = C 73,04 %; H 7,10 %; N 4,48 %, stanovená = C 72,96 %; H 6,99 %; N 4,51 %.

2.3 Syntéza cílových fenylových derivátů DPP

Obdobným postupem jako v předchozím případě (popsaném v kapitole 2.2) byla připravena nukleofilní substitucí série alkylovaných derivátů, tentokrát reakcí derivátu **Ph-DPP** s alkylbromidy (**R-Br**) v přibližně 3,5-molárním nadbytku. Reakční směs byla opět nejprve zbavena rozpouštědla DMF pomocí vakuové destilace (1 mbar) a následně byl surový produkt suspendován v metanolu a zfiltrován. Poté byla provedena purifikace k získu finálních čistých produktů.



Obrázek 6: Příprava série alkylovaných fenylových derivátů DPP

- **Příprava dodecyl-fenylového derivátu DPP (Do-Ph-DPP):**

N,N'-Do-Ph-DPP: Ze surového produktu bylo získáno rekrystalizací v metanolu 1,37 g oranžové krystalické látky (výtěžek: 63 %). Bod tání 114 °C. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 7,82$ –7,79 (m, 4H), 7,53–7,51 (m, 6H), 3,74 (t, $J = 7,6$ Hz, 4H), 1,73–1,57 (m, 4H), 1,30–1,19 (m, 36H), 0,87 (t, $J = 6,6$ Hz, 6H). CHN analýza: teoretická = C 80,72 %; H 9,68 %; N 4,48 %, stanovená = C 80,84 %; H 9,47 %; N 4,41 %.

N,O'-Do-Ph-DPP: Produkt nebyl izolován.

O,O'-Do-Ph-DPP: Nebyl přítomen v reakční směsi.

- **Příprava ethyladamantyl-fenylového derivátu DPP (EA-Ph-DPP):**

N,N'-EA-Ph-DPP: Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem ($R_f = 0,50$) bylo ze surového produktu získáno 0,51 g oranžové krystalické látky (výtěžek: 24 %). Bod tání 323 °C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 7,83$ (m, 4H), 7,53 (m, 6H), 3,77 (m, 4H), 1,92 (s, 6H), 1,69–1,58 (m, 14H), 1,47–1,42 (m, 18H), 1,26 (s, 2H). CHN analýza: teoretická = C 82,31 %; H 7,90 %; N 4,57 %, stanovená = C 82,43 %; H 7,71 %; N 4,64 %.

N,O'-EA-Ph-DPP: Purifikační kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem ($R_f = 0,82$) bylo ze surového produktu získáno 0,38 g hnědé krystalické látky (výtěžek: 18 %). Bod tání 223 °C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 8,55$ (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 7,69 (d, $J = 6,5$ Hz, 2H), 7,55–7,51 (m, 3H), 7,48–7,42 (m,

3H), 4,56 (s, 2H), 3,75–3,71 (m, 2H), 1,92 (s, 6H), 1,71–1,62 (m, 14H), 1,58–1,42 (m, 18H), 1,26 (s, 1H). CHN analýza: teoretická = C 82,31 %; H 7,90 %; N 4,57 %, stanovená = C 82,16 %; H 7,62 %; N 4,71 %.

O,O'-EA-Ph-DPP: Purifikací kolonovou chromatografií na silikagelu (220–440 mesh) s mobilní fází toluenem ($R_f = 0,15$) bylo ze surového produktu získáno 0,09 g intenzivně oranžové krystalické látky (výtěžek: 4 %). Bod tání 270 °C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 8,31$ (m, 4H), 7,44 (m, 6H), 3,79–3,75 (m, 4H), 1,92 (s, 6H), 1,69–1,58 (m, 14H), 1,47–1,42 (m, 18H), 1,26 (s, 2H). CHN analýza: teoretická = C 82,31 %; H 7,90 %; N 4,57 %, stanovená = C 82,04 %; H 7,82 %; N 4,73 %.

3 Výsledky

U připravených sérií finálních alkylovaných derivátů DPP byla studována nejen reaktivita nukleofilní substituce jednotlivými alkylbromidy, ale také u vybraných derivátů vliv charakteru a pozice alkylového řetězce na optické vlastnosti. U N,N' -ethyladamantylového **Th-DPP** derivátu jsou zde navíc popsány elektrické vlastnosti, které se ukázaly být zcela jedinečné. Pro jejich objasnění bylo studováno také uspořádání molekul tohoto derivátu v prostoru pomocí rentgenové difrakční analýzy (XRD).

3.1 Reaktivita N -alkylace derivátů DPP

Na základě poměrně nízkých výtěžků N,N' -alkylace a výskytu většího množství vznikajících produktů v reakční směsi bylo zjištěno, že z důvodu přítomnosti kyslíkových atomů v molekule DPP je nukleofilní substituce značně neselektivní a dochází ke vzniku možných tautomerních forem. Kromě majoritního N,N' -alkylovaného produktu tak vznikají vedlejší N,O' - a O,O' -alkylované deriváty DPP.

Tabulka 1: Přehled reaktivity nukleofilních alkylací derivátů DPP

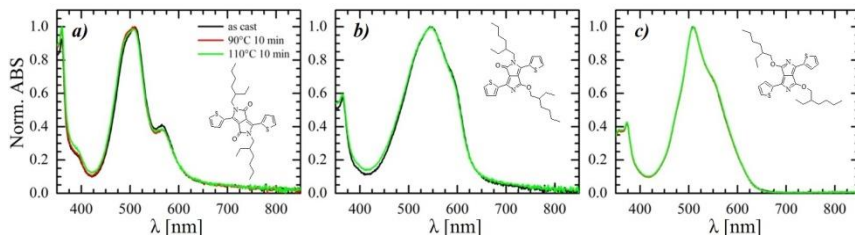
Alkylovaný derivát DPP	N,N' -alkyl	N,O' -alkyl	O,O' -alkyl
	Výtěžek [%]		
Dodecyl-thiofen DPP	75	6	–
2-Ethylhexyl-thiofen DPP	41	18	3
Ethyladamantyl-thiofen DPP	36	20	6
Dodecyl-fenyl DPP	63	–	–
Ethyladamantyl-fenyl DPP	24	18	4

Z uvedených tabulek (Tabulka 1) je patrné, že charakter alkylového řetězce má poměrně výrazný vliv na průběh nukleofilní substituce na heteroatomy dusíku. U dlouhých nerozvětvených dodecylových řetězců vzniká dominantně N,N' -alkylovaný derivát s minimem vedlejších produktů, zatímco u rozvětveného 2-ethylhexylového řetězce lze pozorovat nejen výrazný pokles procenta N,N' -substituovaného, ale významně přibývá zejména N,O' -(2-ethylhexylového) derivátu. V případě objemného ethyladamantylového řetězce je posun v tomto trendu ještě znatelnější. Hlavním důvodem je pravděpodobně vznik sterických repulzí, které mají za následek ponížení regioselectivity nukleofilní substituce a tedy vznik vedlejších, N,O' - a O,O' -alkylovaných derivátů. Roli zde hraje také

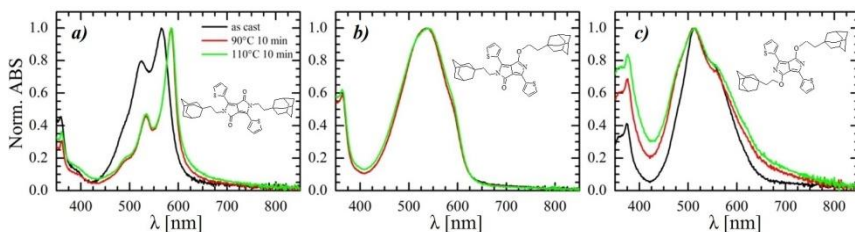
charakter aromatických substituentů v pozicích 3 a 6, kdy v případě derivátů s objemnějšími fenylovými skupinami oproti thiofenovým dochází při alkylation stejnými řetězci ke znatelnému úbytku N,N' -substituovaného derivátu.

3.2 Optické a elektrické vlastnosti vybraných derivátů DPP

Pro vybrané deriváty DPP, konkrétně 2-ethylhexylový a ethyladamantylový **Th-DPP**, byla naměřena optická spektra pro všechny jejich izolované produkty. Studován byl vliv charakteru a také pozice alkylových řetězců na tyto vlastnosti.

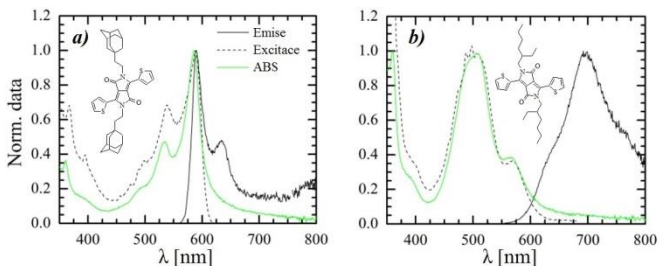


Obrázek 7: Absorpční spektra série 2-ethylhexylem alkylovaných thiofenových derivátů DPP



Obrázek 8: Absorpční spektra série ethyladamantylem alkylovaných thiofenových derivátů DPP

Pro ethyladamantylem substituovaný derivát v pozicích N,N' (Obrázek 8a) je možné pozorovat bathochromní posun absorpčního maxima o přibližně 60 nm oproti N,N' -(2-ethylhexylovému) derivátu (Obrázek 7a). Se změnou polohy alkylových řetězců u obou typů derivátů pak sledujeme podobný trend ve vývoji spektra. Charakter substituentu zde již nehraje významnou roli na absorpční vlastnosti materiálu.



Obrázek 9: Fluorescenční spektra N,N' -alkylovaných thiofenových derivátů DPP

Naopak u fluorescence hraje poloha alkylového řetězce zcela zásadní roli. V tenkých vrstvách fluoreskují pouze N,N' -substituované deriváty. Ethyladamantylový (Obrázek 9a) derivát poskytl velmi zajímavá spektra s překrývajícím se nultým fononem a vykreslenou vibrační strukturou, zatímco 2-ethylhexylový (Obrázek 9b) derivát má emisi z nultého fononu již potlačenou a absorpční i emisní píky jsou více rozmyté. U emisního maxima ethyladamantylového derivátu je navíc patrný výrazný hypsochromní posun o více než 100 nm vůči 2-ethylhexylovému. Charakter alkylového řetězce tak má v tomto případě také klíčový význam.

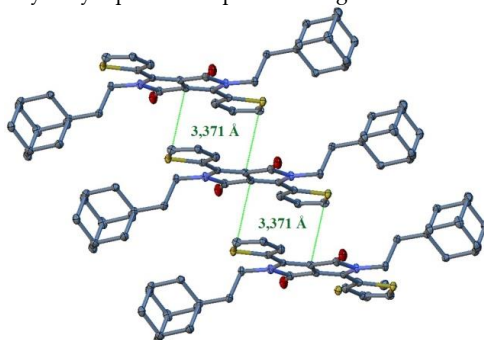
Tabulka 2: Hodnoty energetických hladin orbitalů a mobilit nosičů náboje

Derivát DPP	HOMO [eV]	LUMO [eV]	μ_e [cm ² V ⁻¹ s ⁻¹]	μ_h [cm ² V ⁻¹ s ⁻¹]
N,N' -(2-ethylhexyl)-thiofen DPP	2,69	5,16	–	$4 \cdot 10^{-3}$
N,N' -ethyladamantyl-thiofen DPP	2,68	5,14	0,2	$5 \cdot 10^{-2}$

Z příslušných derivátů (viz Tabulka 2) byly sestrojeny organické, polem řízené tranzistory (OFET), ve kterých byly studovány mobility nosičů náboje těchto materiálů. Zatímco N,N' -(2-ethylhexyl) **Th-DPP** vykazoval průměrné p -typové vlastnosti s mobilitou děr v řádu 10^{-3} cm² V⁻¹ s⁻¹, tak derivát s ethyladamantylovým řetězcem disponoval p -typovou charakteristikou o řád vyšší. Zcela nečekaně však tento derivát prokazoval také n -typové vlastnosti s poměrně vysokou hodnotou mobility elektronů 0,2 cm² V⁻¹ s⁻¹, která se řadí k nadprůměrným i v oblasti malých molekul na bázi DPP, optimalizovaných pro n -typové charakteristiky¹⁷. N,N' -ethyladamantylový **Th-DPP** tak vyniká tzv. ambipoárním chováním, poskytujícím vyrovnané hodnoty mobilit obou typů nosičů náboje, jak elektronů, tak děr. Díky tomu získává tento materiál obrovský potenciál uplatnění v OFET zařízeních a příbuzných oblastech.

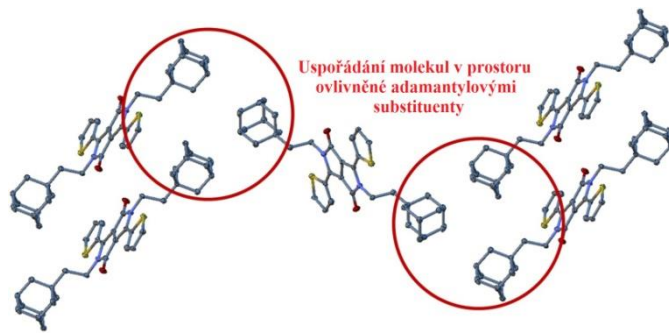
3.3 Rentgenová difrakční analýza N,N' -ethyladamantyl-thiofenového DPP

Aby se blíže prozkoumalo výše zmíněné ambipolární chování N,N' -ethyladamantylového **Th-DPP** derivátu, byly dále studovány jeho prostorové uspořádání a molekulární interakce v pevném stavu. Monokrystaly tohoto derivátu byly vypěstovány pozvolným odpařováním směsi rozpouštědel dichlormethan/metanol 4/1 za laboratorní teploty. Následná analýza byla provedena pomocí rentgenové difrakce (XRD).



Obrázek 10: Uspořádání N,N' -ethyladamantyl-thiofenového derivátu DPP v prostoru

Analýza XRD naměřila vzdálenost mezi konjugovanými jádry při agregaci rovinami DPP jader k sobě pouhých 3,371 Å (viz *Obrázek 10*), což je o 0,414 Å méně, než v případě *N,N'*-(2-ethylhexylového) **Th-DPP**¹⁸. Přitom díky objemnosti adamantylových skupin se předpokládá spíše opačný jev, tedy nárůst intermolekulárních vzdáleností.



Obrázek 11: Adamantylem vyvolané skládání molekul DPP v prostoru

Vysvětlením je skutečnost, že ethyladamantylové postranní řetězce vyvolávají neobvyklé skládání molekul do tzv. triád (viz *Obrázek 11*), které vedou k výhodnějšímu mezimolekulárnímu uspořádání konjugovaných jader v prostoru s výjimečně nízkou vzdáleností od sebe. Derivát tak vykazuje v tenké vrstvě mimořádnou krystalinitu, která je s největší pravděpodobností, společně s planaritou molekul systému, zodpovědná za jeho ambipolární chování.

4 Závěr

Nukleofilní substitucí základních skeletů DPP příslušnými alkylobromidy byly připraveny 2 série alkylovaných derivátů DPP, thiofenových a fenylových. V důsledku přítomnosti kyslíkových atomů v molekule DPP docházelo při alkylosti ke vzniku tautomerních forem vedoucích k vedlejším produktům. Ukázalo se, že poměrně výrazný vliv má na průběh reakce charakter alkylového řetězce, kdy nerozvětvené téměř selektivně poskytují žádoucí *N,N'*-alkylovaný produkt, zatímco objemné či rozvětvené řetězce způsobují značnou neselektivitu reakce a pozorován je vznik *N,O'*- a *O,O'*-substituovaných derivátů.

Charakter alkylového řetězce má vliv také na optické vlastnosti výsledných derivátů. Zatímco u absorpčních spekter hrál minimální roli jak charakter, tak pozice alkylového řetězce, u fluorescenčních spekter byly oba faktory zcela zásadní. V pevné fázi fluoreskovaly pouze *N,N'*-substituované deriváty a u ethyladamantylového **Th-DPP** byl navíc pozorován velmi zajímavý překryv nultého fononu, zatímco 2-ethylhexylový derivát vykazoval velký Stokesův posun, typický pro většinu derivátů DPP.

Při měření mobilit nosičů náboje bylo navíc pro *N,N'*-ethyladamantylový **Th-DPP** derivát zjištěno, že zavedení objemné adamantylové skupiny do skeletu DPP přináší zcela zásadní a doposud v literatuře nepopsaný vliv na elektrické vlastnosti. Pouhým jedním syntetickým krokem tak bylo docíleno ambipolárních vlastností s hodnotami mobilit zcela

srovnatelnými se zatím nejvyššími popsány u materiálu cíleného několikastupňovou syntézou právě na tyto vlastnosti. V oblasti pouze N,N' -alkylovaných derivátů DPP, bez jakékoli další modifikace skeletu, jsou tyto hodnoty zcela unikátní, o několik řádů převyšující ostatní deriváty. Existence ambipolárního chování byla následně zdůvodněna pomocí analýzy rentgenovou difrakcí (XRD), která odhalila vysokou krystalinitu a výhodné uspořádání molekul derivátu v prostoru, vyvolané právě přítomností objemných adamantylových skupin.

5 Literatura

1. GREEN, Martin A., Keith EMERY, Yoshihiro HISHIKAWA, Wilhelm WARTA a Ewan D. DUNLOP. Solar cell efficiency tables (Version 45). *Progress in Photovoltaics: Research and Applications*. 2015, vol. 23, issue 1, s. 1–9. DOI: 10.1002/pip.2573. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pip.2573>
2. GUERRERO, Antonio a Germà GARCIA-BELMONTE. Recent Advances to Understand Morphology Stability of Organic Photovoltaics. *Nano-Micro Letters*. 2017, 9(1). DOI: 10.1007/s40820-016-0107-3. ISSN 2311-6706. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s40820-016-0107-3>
3. GŁOWACKI, Eric Daniel, Giuseppe ROMANAZZI, Cigdem YUMUSAK, et al. Epindolidiones-Versatile and Stable Hydrogen-Bonded Pigments for Organic Field-Effect Transistors and Light-Emitting Diodes. *Advanced Functional Materials*. 2015, 25(5), 776–787. DOI: 10.1002/adfm.201402539. ISSN 1616301x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.201402539>
4. VALA, Martin, Martin WEITER, Jan VYŇUCHAL, Petr TOMAN a Stanislav LUŇÁK. Comparative Studies of Diphenyl-Diketo-Pyrrolopyrrole Derivatives for Electroluminescence Applications. *Journal of Fluorescence*. 2008, 18(6), 1181–1186. DOI: 10.1007/s10895-008-0370-x. ISSN 1053-0509. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10895-008-0370-x>
5. SOKOLOV, Anatolij N., Mark E. ROBERTS a Zhenan BAO. Fabrication of low-cost electronic biosensors. *Materials Today*. 2009, 12(9), 12–20. DOI: 10.1016/S1369-7021(09)70247-0. ISSN 13697021. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369702109702470>
6. LOSER, Stephen, Carson J. BRUNS, Hiroyuki MIYAUCHI, Rocío Ponce ORTIZ, Antonio FACCHETTI, Samuel I. STUPP a Tobin J. MARKS. A Naphthodithiophene-Diketopyrrolopyrrole Donor Molecule for Efficient Solution-Processed Solar Cells. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(21), 8142–8145. DOI: 10.1021/ja202791n. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja202791n>
7. PALAI, Akshaya K., Amit KUMAR, Sarada P. MISHRA a M. PATRI. Fluorene-based conjugated poly(arylene ethynylene)s containing heteroaromatic bicycles: preparation and electro-optical properties. *Journal of Materials Science*. 2014, 49(21), 7408–7417. DOI: 10.1007/s10853-014-8438-2. ISSN 0022-2461. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10853-014-8438-2>
8. TANG, Ming L., Anna D. REICHARDT, Nobuyuki MIYAKI, Randall M. STOLTENBERG a Zhenan BAO. Ambipolar, High Performance, Acene-Based

- Organic Thin Film Transistors. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, 130(19), 6064–6065. DOI: 10.1021/ja8005918. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja8005918>
9. HWANG, Hansu, Dongyoon KHIM, Jin-Mun YUN, Eunhwan JUNG, Soo-Young JANG, Yun Hee JANG, Yong-Young NOH a Dong-Yu KIM. Quinoidal Molecules as a New Class of Ambipolar Semiconductor Originating from Amphoteric Redox Behavior. *Advanced Functional Materials*. 2015, 25(7), 1146–1156. DOI: 10.1002/adfm.201402758. ISSN 1616301x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.201402758>
 10. FARNUM, D. G., MEHTA, G., MOORE, G. G. I, SIEGAL, F. P. Attempted reformatskii reaction of benzonitrile, 1,4-diketo-3,6-diphenylpyrrolo[3,4-C]pyrrole. A lactam analogue of pentalene. *Tetrahedron Letters*. 1974, vol. 15, issue 29, s. 2549–2552. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)93202-2. ISSN 00404039.
 11. LIN, Gaobo, Yunke QIN, Jiajia ZHANG, Ying-Shi GUAN, Hai XU, Wei XU a Daoben ZHU. Ambipolar organic field-effect transistors based on diketopyrrolopyrrole derivatives containing different π -conjugating spacers. *J. Mater. Chem. C*. 2016, 4(20), 4470–4477. DOI: 10.1039/C6TC00687F. ISSN 2050-7526. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6TC00687F>
 12. LI, Yuning, Prashant SONAR, Leanne MURPHY a Wei HONG. High mobility diketopyrrolopyrrole (DPP)-based organic semiconductor materials for organic thin film transistors and photovoltaics. *Energy & Environmental Science*. 2013, 6(6), 1684–1710. DOI: 10.1039/c3ee00015j. ISSN 1754-5692. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ee00015j>
 13. GŁOWACKI, Eric Daniel, Halime COSKUN, Martin A. BLOOD-FORSYTHE, et al. Hydrogen-bonded diketopyrrolopyrrole (DPP) pigments as organic semiconductors. *Organic Electronics*. 2014, 15(12), 3521-3528. DOI: 10.1016/j.orgel.2014.09.038. ISSN 15661199. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1566119914004303>
 14. COATANÉA, E., KANTOLA, V., KULOVESI, J., LAHTI, L., LIN, R., & ZAVODCHIKOVA, M. (2009). *Printed Electronics, Now and Future*. In Neuvo, Y., & Ylönen, S., 63-102. ISBN 978-952-248-078-1.
 15. A. IQBAL, M. JOST, R. KIRCHMAYR, J. PFENNINGER, A. ROCHAT, O. WALLQUIST. *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*. 1988, 97, 615.
 16. Stetter, Hermann; *Chemische Berichte* 1962, V95, P1039-42 CAPLUS
 17. YOON, Won Sik, Sang Kyu PARK, Illhun CHO, Jeong-A OH, Jong H. KIM a Soo Young PARK. High-Mobility n-Type Organic Transistors Based on a Crystallized Diketopyrrolopyrrole Derivative. *Advanced Functional Materials*. 2013, 23(28), 3519-3524. DOI: 10.1002/adfm.201203065. ISSN 1616301x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.201203065>
 18. NAIK, Mallari A., N. VENKATRAMAIAH, Catherine KANIMOZHI a Satish PATIL. Influence of Side-Chain on Structural Order and Photophysical Properties in Thiophene Based Diketopyrrolopyrroles: A Systematic Study. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2012, vol. 116, issue 50, s. 26128-26137. DOI: 10.1021/jp306365q.

Na tomto místě bych rád poděkoval Ing. Jozefu Krajčovičovi, Ph.D. za spoustu cenných rad, připomínek, inspirací a trpělivosti při řešení dané problematiky.

Syntéza organických pevno-fázových fluorescenčních barviv na báze para-bis(2-thienyl)phenylenu

*Bc. Ján Jančík
Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno-Medlánky Česká republika
xcjancik@fch.vut.cz*

1 Úvod

Rozvoj nových organických materiálů vykazujících fluorescenci v pevné fázi vyvolává velký zájem z důvodu široké škály možného uplatnění. Zde připravené pevnofázové fluorescenční barviva na báze para-bis(2-thienyl)phenylenu můžou najít uplatnění v oblasti organických pevno-fázových laserů, optických vláken, jako fluorescenční sondy pro zobrazování DNA, nebo v oblasti organických světlo emitujících diodách (OLED systémech). Dnes využívané a komerčně dostupné látky se potýkají s problémy, jako je nízká účinnost, nízká stabilita, nebo nízká hodnota fluorescence v pevné fázi. Z toho důvodu je kladen veliký důraz na odstranění těchto nedostatků již na molekulární úrovni, kde hrají hlavní roli strukturální parametry, jako torzní uhly, rigidita, nebo planarita molekul obsahujících π -konjugované systémy. Para-bis(2-thienyl)fenylen představuje molekulu s vysokým potenciálem pro výše zmiňované aplikace, z toho důvodu jsme se v této práci zaměřili na vliv fluoru jako elektronakceptorního substituentu alokovaného na centrální fenylové jednotce a taky na vliv pozice (in, out) solubilizačních dodecylových postranních řetězců na thiofenových jednotkách para-bis(2-thienyl)fenylenu na kvantové výtěžky fluorescence v pevné fázi. Bylo zjištěno, že omezení rotace mezi aromatickými jednotkami má vliv na konjugaci, kterou zlepšuje a tím zvyšuje mobilitu náboje, což je vhodné pro aplikaci v organických tranzistorech řízených elektrickým polem (OFET) systémech. Naopak zavedení objemných skupin vytvoří sterické zábrany, nedojde k těsné organizaci molekul a tím se omezí mobilita náboje. Takle modifikace je velice vhodná pro aplikace v OLED systémech, kde není žádoucí vedení náboje, ale vyzáření fotonu při deexcitaci excitovaného elektronu v dané molekule.¹

Využití fluoru v dané problematice má několik zásadních aspektů: snižuje HOMO a LUMO hladiny a taky zlepšuje samoorganizaci molekul. Kromě toho vyniká vazba C-F svou vysokou energií, což by mohlo mít za následek zvýšení termické stability molekuly. V případě použití tetrafluorovaného centrálního fenylu a současně alkylových substituentů na thiofenových jednotkách byla zjištěna ne vazebná interakce mezi fluorem a vodíkovým atomem alkylového řetězce, což způsobilo zmenšení torzního uhlu. Zmenšení

tozního uhlu mělo za následek těsnou organizaci molekul a tím zvýšení mobility náboje. Z toho důvodu by byly tyto molekuly vhodné pro aplikaci v OFET systémech.¹

Vzhledem k dobrým vlastnostem v případě použití solubilizujících dodecylových skupin, byl na základě kvantové chemických výpočtů připraven další derivát s využitím ethyladamantanu jako solubilizující skupiny.² Adamantan patří do skupiny polycyklických nasycených uhlovodíků a představuje nejmenší jednotku z řady diamantoidů. Diamantoidy v sobě ukrývají několik velice důležitých vlastností jako je vynikající schopnost tvořit vysoce organizované systémy, extrémní mechanická pevnost, odolnost vůči některým chemickým reagentům, optická průhlednost, široký zakázaný pás, vysoká odolnost vůči radiaci a taky vysoká tepelná stabilita a vodivost. Krátce po objevení bylo prokázáno, že nemají téměř žádné negativní účinky na živé buňky a taky, že je možná produkce nanomolekul pro krystalické filmy. To předurčilo jejich aplikaci v oblasti medicíny a taky pokročilých materiálů.³ Na rozdíl od komerčně dostupných organických komplexů využívaných pro organickou elektroniku, jako třeba (hydroxyquinolin)aluminum (Alq₃) komplexy, kterých syntéza je náročná, finančně nákladná, zdoluhavá a s nízkým výtěžkem, zatímco thienyl-phenylenový derivát obsahující ethyl-adamantanovou skupinu je možné připravit mnohonásobně jednodušší syntetickou cestou, s nižší finanční náročností, s mnohem menším dopadem na životní prostředí a s výrazně vyšším výtěžkem. Na druhou stranu nám daná látka poskytne velice vysoké hodnoty kvantového výtěžku fluorescence v pevné fázi (v modré oblasti spektra). Hodnoty kvantového výtěžku jsou srovnatelné, nebo dokonce překonávají hodnoty organických komplexů. V neposlední řadě se thienyl-phenylenový derivát obsahující ethyl-adamantanovou skupinu vyznačuje extrémní termickou odolností, která bývá hlavním problémem dnes dostupných součástek v organické elektronice. Z toho důvodu má implementace objemných a chemicky inherentních fragmentů typu adamantanových derivátů velký potenciál při konstituci funkčních systémů, využitelných v různých oblastech organické a bio-organické elektroniky.²

2 Experimentální část

Syntetický přístup pro přípravu jednotlivých derivátů tvořili hlavně cross-kaplingové reakce. Sloučeniny **12-14** byly připraveny standardním postupem dle dostupné literatury.^{5,6} Pro navázání ethyladamantylu- a dodecylu- na thiofenovou jednotku byl využíván Kumada kapling, a následně pro přípravu konečných produktů se jako nejlepší ukázala syntetická cesta s využitím Stilleho kaplingu. Pro analýzu a potvrzení struktur byly využity metody GC-MS a NMR analýzy. Prostorové uspořádání a organizace molekul bylo zjištěno využitím rentgenostrukturní analýzy.

2.1 Chemikálie

Sigma-Aldrich:

Hořčík (p.a.), diethyl ether (p.a.), [1,3-bis(difenylofosfino)propan]dichlorníkl, [1,1'-bis(difenylofosfino)ferrocen]dichlorníkl, N,N - dimethylformamid (p.a.), N-

bromosuccinimid (99 %), tetrahydrofuran (p.a.), n-butyllithium (2,5 mol · mol⁻¹, hexan), tributylcínchlorid (96 %), 1,4-Dibromobenzen (98 %), Celite 545,

Penta:

Síran sodný – bezvodý, petrolether (p.a.), aceton (p.a.),

Lachner:

Aktivní uhlí – silvarbon prášek,

2.2 Přístroje

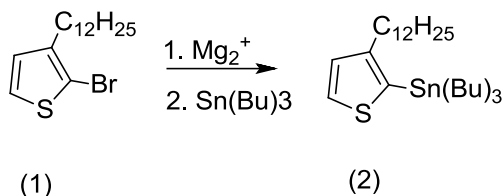
NMR – Bruker Shield 300 MHz [ppm], Me₄Si (0 ppm), CDCl₄

GC-MS – THERMO FISCHER ITQ 700

Koflerův blok – nekalibrovaný

TLC – Supelco

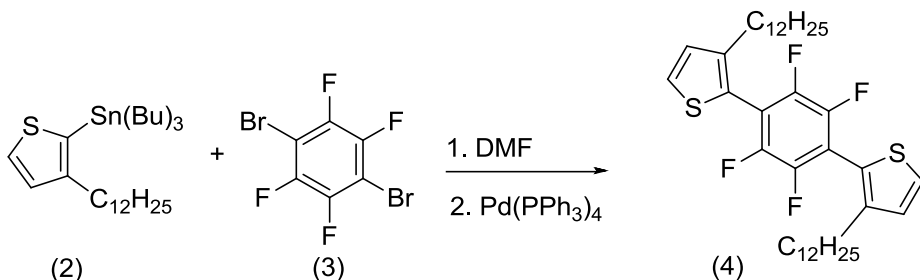
2.3 Příprava derivátu 2



Obrázek 1 - Příprava derivátu 2

Ve vysušené 3-hrdlé baňce pod inertní atmosférou argonu byl ve 4 ml bezvodého THF za refluxu míchán hořčík (0.28 g, 12 mmol) společně s katalytickým množstvím jodu. Následně bylo přikapáno 2.60 g, 7.8 mmol 2-bromo-3-dodecylthiofenu (**1**) rozpuštěného v 16 ml s bezvodém THF. Vzniklá reakční směs byla míchána za refluxu po dobu 120 minut. Připravený intermediát byl poté pomocí stříkačky přikapán do roztoku 2.8 g, 8.6 mmol Bu₃SnCl v 10 ml bezvodého THF při teplotě -78 °C. Reakční směs byla míchána za konstantní teploty a po jedné hodině byla postupně zahřátá na pokojovou teplotu. Při pokojové teplotě byla směs míchána 18 hodin. Reakce byla ukončena nalitím do vody a směs byla extrahována etherem, poté spojené organické frakce extrahovány vodou. Organické fáze byla vysušena pomocí MgSO₄ filtrovaná s aktivním uhlím přes křemelinu a rozpouštědlo bylo odpařeno rotační vakuovou odparkou. Produkt reakce byl bez purifikace použit do dalších reakcí.

2.4 Příprava „in“ alkylovaného derivátu 4



Obrázek 2 - Příprava „in“ alkylovaného derivátu 4

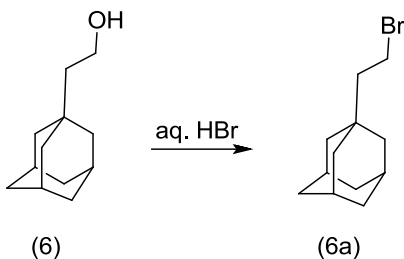
Produkt 2 předchozí reakce (2 g, 3.7 mmol) byl následně rozpuštěn společně s 0.4 g, 1.3 mmol, 1,4-dibromotetrafluorobenzenem v 50 ml bezvodého DMF a směs byla zbavena plynů pomocí argonu. Do připravené směsi bylo přidáno 0.22 g, 0.19 mmol katalyzátor $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ a reakční směs byla míchána při teplotě 110 °C pod inertní atmosférou po dobu 16 hodin. Po 16 hodinách bylo rozpouštědlo odpařeno a surový produkt byl čištěn pomocí kolonové chromatografie se silikagelem jako stacionární fází a hexanem jako fází mobilní. Výsledný produkt byla pevná látka mléčného zbarvení s výtěžkem 0.55 g / 56 %. Struktura konečného produktu byla potvrzena pomocí NMR a MS-MALDI.

NMR: ^1H NMR: δ (ppm): 7,49 (d, $J = 5,16$ Hz, 2H), 7,01 (d, $J = 5,16$ Hz, 2H), 2,51 (t, $J = 8,12$ Hz, 4H), 1,59 (m, 4H), 1,30-1,19 (m, 36H), 0,89 (t, $J = 6,4$ Hz 6H). ^{19}F NMR: δ (ppm): -139,13 (s, 4F).

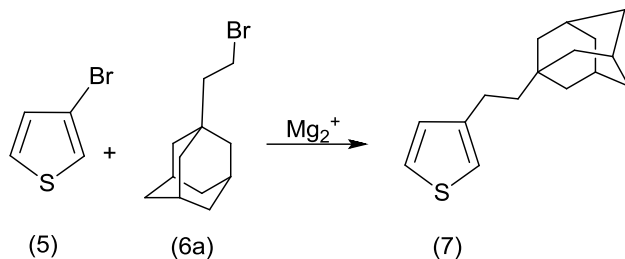
Teoretické zastoupení prvků v $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{F}_4\text{S}_2$: C, 70,11 %; H, 8,36 %; S, 985 %. Stanovené procentuální zastoupení prvků v: C, 70,18 %, H, 8,42 %, S, 9,89 %.

HR MALDI-MS: $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{F}_4\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: naměřeno m/z 650,3629; naměřeno m/z 651,3631

2.5 Příprava derivátu 7



Obrázek 3 - příprava derivátu 6a



Obrázek 4 - Příprava derivátu 7

Do tříhrdlé baňky bylo přidáno 115 ml (0,981 mol) 48% kyseliny bromovodíkové a 22,1 g (0,123 mol) látky 6. Vzniklá heterogenní směs byla míchána při refluxu po dobu 22 hodin. Následně byla směs ochlazená a extrahována chloroformem. Spojená organická fáze byla poté promyta 96% kyselinou sírovou, 10% hydrogenuhlíčitánem sodným a vodou. Organická fáze byla vysušena pomocí Na_2SO_4 , filtrovaná s aktivním uhlím přes křemelinu. Rozpouštědla byla odpařena na rotační vakuové odparce. Produkt byl purifikován rekrystalizací z methanolu. Výtěžek reakce činil 27,35 g / 92 %.

Ve vysušené 3-hrdlé baňce pod inertní atmosférou argonu byl smíchán hořčík 0,5 g (18,8 mmol), 50 ml sušeného, čerstvě destilovaného etheru a katalytické množství jodu. Směs byla míchána za refluxu a bylo přikapáno 3,44 g (14,141 mmol) látky 6a rozpuštěné v 50 ml etheru. Reakční směs byla míchána při refluxu 2 hodiny. Připravený roztok Grignardova reagentu byl postupně přidán k 2,1 g (12,856 mmol) 3-bromthiofenu rozpuštěném ve 30 ml sušeného, čerstvě destilovaného etheru s 0,015 g katalyzátoru $Ni(dppp)Cl_2$ při teplotě $0^\circ C$ po dobu 40 minut. Následně byla reakční směs přivedená k refluxu po dobu 30 minut. Reakční směs byla poté míchána 16 hodin při pokojové teplotě. Reakce byla ukončena nalitím do studeného vodného roztoku chloridu amonného. Směs byla extrahována etherem a 2 dichlormethanem. Spojená organická fáze byla poté extrahována vodou. Organická fáze byla vysušena pomocí Na_2SO_4 , filtrovaná s aktivním uhlím přes křemelinu. Rozpouštědla byla odpařena na rotační vakuové odparce a byla získána žlutá kapalná látka. Hmotnost surového produktu byla 2,76 g.

Produkt reakce byl čištěn kolonovou chromatografií za využití silikagelu jako stacionární fáze a heptanu jako mobilní fáze. Frakce 15 až 34 obsahovali produkt reakce látku 7. Výtěžek reakce činil 1,37 g / 43,2 %. Produkt byl potvrzen GC-MS a NMR analýzou.

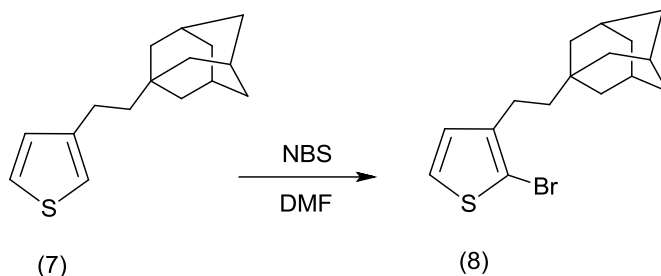
GC-MS: teoretické [m/z]: 246,41; stanovené [m/z]: 246,62; čistota: 92%

NMR: 1H NMR: δ (ppm): 7,24–7,21 (m, 1H), 6,94–6,90 (m, 2H), 2,61–2,56 (m, 2H), 1,98–1,90 (m, 3H), 1,75–1,63 (m, 6H), 1,54–1,52 (m, 6H), 1,43–1,39 (m, 2H).

Teoretické procentuální zastoupení prvků v: $C_{16}H_{22}S$: C, 77,99 %; H, 9,00 %; S, 13,01 %.

Stanovené procentuální zastoupení prvků v: C, 77,85 %; H, 9,08 %; S, 13,07 %.

2.6 Příprava derivátu 8



Obrázek 5 - Příprava derivátu 8

Ve vysušené baňce pod intertní atmosférou argonu bylo rozpuštěno 0,8 g (3,247 mmol) látky **7** v 5 ml dimethylformamidu. Poté bylo přikapáno 0,64 g (3,571 mmol) bromočního činidla N-Bromosuccinimidu (NBS) rozpuštěného v 5 ml dimethylformamidu. Reakční směs byla míchána přes noc. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Reakce byla ukončena nalitím do ledové vody. Směs byla extrahována etherem, poté byly spojené organické frakce extrahovány vodou. Organické fáze byla vysušena pomocí Na_2SO_4 filtrovaná s aktivním uhlím přes křemelinu a rozpouštědlo bylo odpařeno rotační vakuovou odparkou.

Produkt reakce byl čištěn kolonovou chromatografií za využití silikagelu jako stacionární fáze a petroleteru jako mobilní fáze. Frakce s R_f 0,75 byly smíchány a zbaveny rozpouštědel. Výtěžek reakce činil 1,04 g / 89,5 %. Produkt byl potvrzen GC-MS a NMR analýzou.

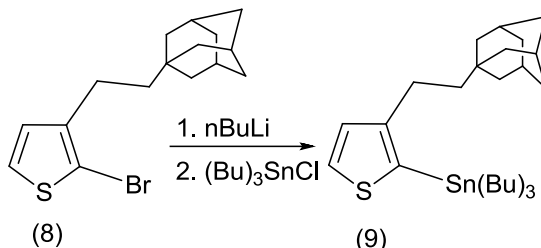
GC-MS: teoretické [m/z]: 325,31; stanovené [m/z]: 325,99; čistota 94 %

NMR: ^1H NMR: δ (ppm): 7,17 (d, J 4,58 Hz, 1H), 6,78 (d, J 4,58 Hz, 1H), 2,55–2,48 (m, 2H), 1,99–1,92 (m, 3H), 1,71–1,62 (m, 6H), 1,50–1,41 (m, 6H), 1,34–1,26 (m, 2H).

Teoretické procentuální zastoupení prvků v: $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{BrS}$: C, 59,07 %; H, 6,51 %; S, 9,86 %.

Stanovené procentuální zastoupení prvků: C, 59,15 %; H, 6,58 %; S, 9,72 %

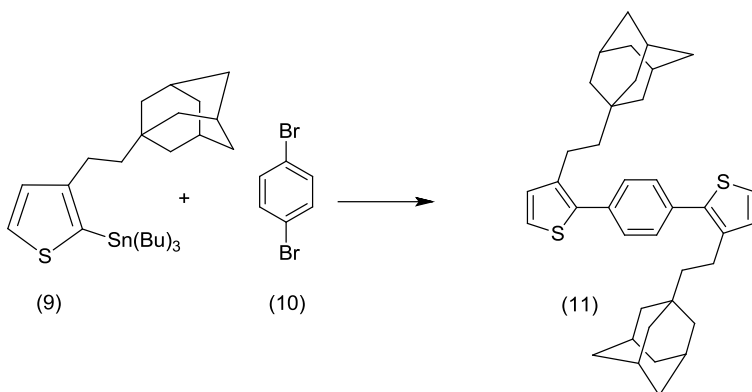
2.7 Příprava derivátu 9



Obrázek 6 - Příprava-derivátu 9

Do vysušené baňky pod inertní atmosférou argonu bylo přidáno 0,8 g (2,459 mmol) látky **8** a 15 ml bezvodého tetrahydrofuranu. Reakční směs byla ochlazená na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, do reakční směsi byl přidán 1 ml n-BuLi. Reakční směs byla míchána při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 100 minut. Bylo přidáno 0,9 g (2,705 mmol) $(\text{Bu})_3\text{SnCl}$. Směs byla následně ohřívána samovolně na laboratorní teplotu a míchána přes noc. Reakce byla ukončena nalitím do vody a směs byla extrahována etherem, poté spojené organické frakce extrahovány vodou. Organické fáze byla vysušena pomocí Na_2SO_4 filtrovaná s aktivním uhlím přes křemelinu a rozpouštědlo bylo odpařeno rotační vakuovou odparkou. Produkt reakce byl bez purifikace použit do dalších reakcí.

2.7 Příprava derivátu 11



Obrázek 7 - Příprava derivátu 11

Do vysušené baňky pod inertní atmosférou argonu bylo přidáno 1,05 g (1,961 mmol) látky **9** a 15 ml bezvodého DMF společně s 0,2 g (0,784 mmol) 1,4-dibrombenzenem. Systém byl zbaven kyslíku několikanásobnou evakuací a saturací argonem a byl přidán paládiový katalyzátor $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Reakční směs byla zahřívána na $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po 12 h byla reakční směs ochlazená na pokojovou teplotu a nalita do vody obsahující 2 ml kyseliny chlorovodíkové. Do reakční směsi byl přidán toluen, aktivní uhlí a směs byla filtrovaná přes křemelinu. Směs byla po přidávku 20 ml 0,5M roztoku fluoridu draselného extrahována vodou a následně vodní fáze byla extrahována toluenem. Organické fáze byly spojené a odpařeny pomocí rotační vakuové odparky.

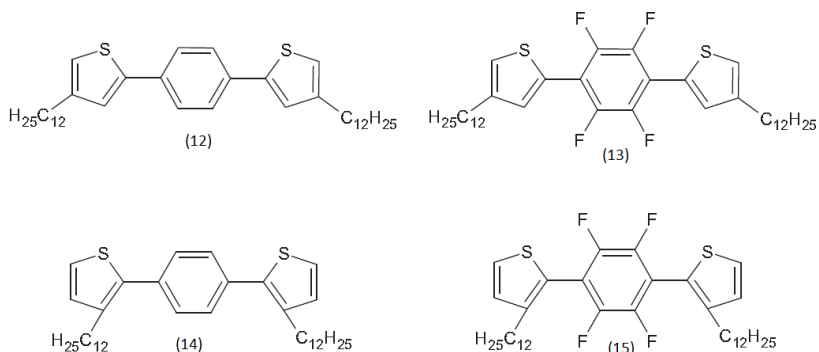
Produkt **11** byl čištěn precipitací a kolonovou chromatografií. Při precipitaci byl produkt smíchán s heptanem a byl pozorován vznik hnědého precipitátu. Kapalná fáze byla dále čištěna kolonovou chromatografií za využití silikagelu jako stacionární fáze a heptanem jako mobilní fáze. Výtěžek činil 0,19 g / 42,7 %. Produkt byl potvrzen NMR analýzou.

NMR: ^1H NMR: δ (ppm): 7,47 (s, 4H), 7,23 (d, $J_{\text{H}}/5,16\text{ Hz}$, 2H), 6,97 (d, $J_{\text{H}}/5,16\text{ Hz}$, 2H), 2,68–2,63 (m, 4H), 1,97–1,92 (m, 6H), 1,73–1,60 (m, 12H), 1,48–1,41 (m, 12 H), 1,45–1,39 (m, 4H).

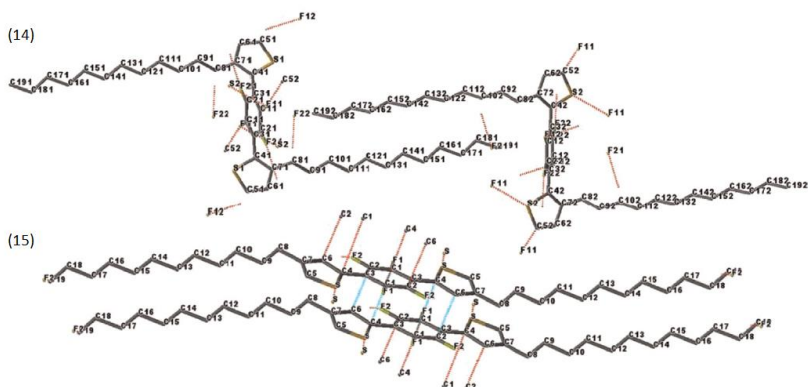
Teoretické procentuální zastoupení prvků v: C₃₈H₄₆S₂: C, 80,51 %; H, 8,18 %; S, 11,31 %.
Stanovené procentuální zastoupení prvků: C, 80,72 %, H, 8,21 %, S, 11,07 %.

3 Výsledky a diskuze

Ze získaných výsledků je zřejmé, že změnou pozice postranních řetězců došlo ke změně kvantových výtěžků fluorescence v pevné fázi u derivátů para-bis(2-thienyl)fenylenu. Kvantové výtěžky bylo možné posunout až k hodnotám 40 % (derivát **14**) z původních 4 % u základního nefluorovaného derivátu (**12**). Tetrafluorovaný derivát (**13**) s alkylovými řetězci v pozici „out“ poskytl výrazný nárůst kvantového výtěžku fluorescence na hodnotu 25 %. Nárůst byl způsoben silnější intramolekulární vodíkovou vazbou (vazba H-F u derivátu **13** je silnější než vazba H-S u derivátu **12**), které způsobuje omezení volné rotace mezi thiofenem a benzenem. Kromě vodíkových vazeb je zde i příspěvek postranních alkylových skupin které vytváří sterické zábrany, ztěžující organizaci molekul v prostoru. V případě pozice „in“ byl dosažen u derivátu **14** kvantový výtěžek fluorescence přibližně 40 % z důvodu silnějších repulzí mezi alkylovými řetězci. Na druhé straně u fluorovaného derivátu **15** s alkylovými řetězci v „in“ pozici docházelo k interakci fluoru s alkylovým řetězcem a tím snížení sterické zábrany a i rapidnímu poklesu hodnoty kvantového výtěžku fluorescence. V pevné fázi Tento důvod byl objasněn využitím rentgenové strukturní analýzy (XRD) na vypěstovaném krystalu látky **14** a **15**, přičemž dochází k lepší planarizaci systému v molekule **15** a tím usnadnění přenosu elektronů mezi molekulami, které způsobuje snížení kvantového výtěžku fluorescence (Obrázek 9).¹

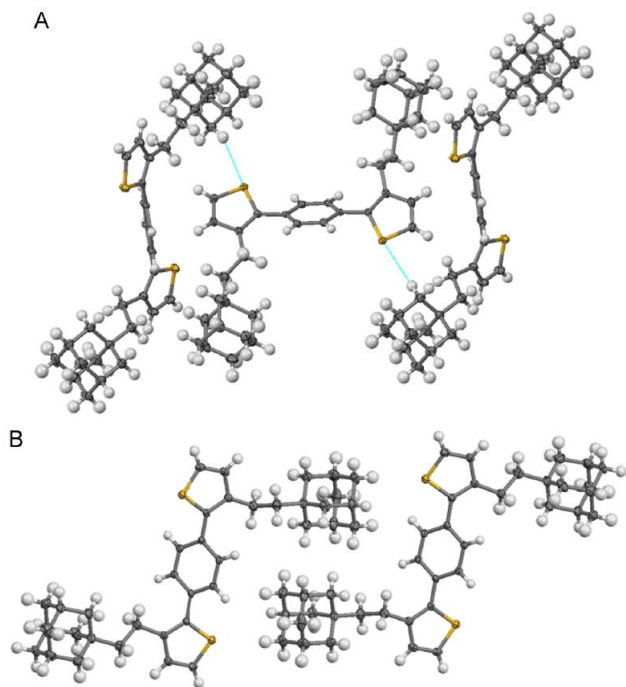


Obrázek 8 - Série molekul vycházejících z para-bis(2-thienyl)fenylenu¹

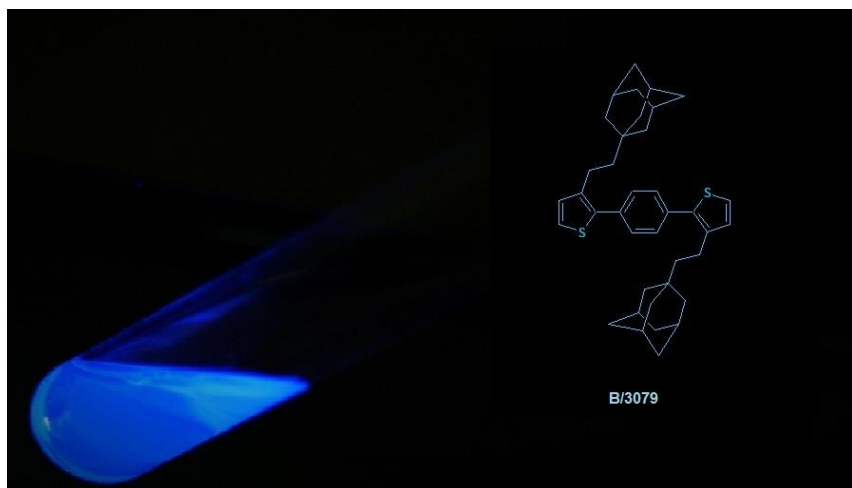


Obrázek 9 - XRD fluorovaného a nefluorovaného "in" derivátu para-bis(2-thienyl)fenylenu¹

Připravená molekula **11** poskytuje fluorescenci modré oblasti spektra, kde se dnes dostupné látky vyznačují vysokou nestabilitou a krátkou dobou života, přičemž ethyladamantylový derivát vykazuje vysokou odolnost a vysoký bod tání sahající k hodnotě 250 °C, co dokazuje vysokou termickou stabilitu této sloučeniny. Navíc je syntéza molekuly mnohem jednodušší a poskytuje několikanásobně vyšší výtěžky, než je tomu u komerčně dostupných organických komplexů. Kromě již zmíněných vlastností vykazuje připravená molekula i velice vysokou míru organizovanosti a uspořádání molekul. Z důvodu lepšího pochopení prostorového uspořádání molekul byla provedena XRD analýza na vypěstovaném krystalu (Obrázek 10). Z XRD analýzy je zřejmé, že za organizaci jsou zodpovědné na jedné straně vodíkové vazby mezi thiofenovou jednotkou a postranním adamantanovým řetězcem (A), a taky zásluhou tvorby molekulárních párů samotným adamantanem (B).²



Obrázek 10 - XRD ethyladamantylového derivátu para-bis(2-thienyl)fenylenu²



Obrázek 11 - Fluorescence ethyladamantylového derivátu para-bis(2-thienyl)fenylenu v modré oblasti spektra

4 Závěr

Uvedená práce se zabývá studiem a syntézou derivátů na báze para-bis(2-thienyl)fenylenů. Je zde demonstrována fundamentální studii efektů jak atomů flouoru jako elektronakceptorního substituentu alokovaného na centrální fenylové jednotce, tak pozic alkylových skupin na thiofenových jednotkách na kvantové výtěžky fluorescence v pevné fázi. Na základě detailního porovnání vlivu přítomnosti fluoru a pozice (in, out) solubilizačních postranních řetězců na thiofenových jednotkách, bylo zjištěno, že pozici postranního řetězce je možné výrazně zvýšit hodnoty kvantových výtěžků fluorescence v pevné fázi. Kromě toho vykazovali tyto látky i vysokou termickou stabilitu kdy teplota přesahovala hodnotu 200 °C. Připravené látky vykazující vysoké hodnoty kvantových výtěžků fluorescence v pevné fázi jsou vysoce atraktivní z pohledu široké škály jejich možných aplikací, mezi které se řadí organické pevnofázové lasery, optická vlákna, fluorescenční sondy pro zobrazování DNA, OLED systémy a další. V případě fluorovaného derivátu **15** kde byla hodnota fluorescence nízká, je možné uplatnění v oblasti OFET systému z důvodu lepší planarizace molekuly.

V případě použití ethyl-adamantylové skupiny poskytuje derivát nejvyšší kvantový výtěžek fluorescence v pevné fázi v modré oblasti spektra kdy hodnota kvantového výtěžku přesahuje 50 %. Ve srovnání s komerčně dostupnými komplexními molekulami můžeme mluvit o vynikajícím výsledku. Navíc, na rozdíl od komplexních sloučenin se jedná o jednoduchou strukturu, kterou je možné připravit podstatně méně náročnou syntetickou cestou, nižší finanční náročností, mnohem menším dopadem na životní prostředí a s výrazně vyšším výtěžkem. Kromě toho vykazuje ethyl-adamantylový derivát (**11**) vysoký bod tání přesahující 250 °C. Tento nový derivát má právě díky těmto vlastnostem hodně velký potenciál pro uplatnění v elektronickém průmyslu. Připravená molekula **11**, splňuje všechny atributy pro aplikaci v oblasti organické elektroniky, konkrétně pro použití v OLED systémech vzhledem k vysokým výtěžkům fluorescence v pevné fázi (nad 50 %) porovnatelnými a v některých případech i převyšujícími komerčně dostupné látky založené na organických komplexech.

5 Literatura

1. KRAJČOVIČ, Jozef, Alexander KOVALENKO, Patricie HEINRICHOVÁ, Martin VALA a Martin WEITER. Solid-state deep blue and UV fluorescent dyes based on para-bis(2-thienyl)phenylene. DOI: 10.1016/j.jlumin.2015.06.043. ISBN 10.1016/j.jlumin.2015.06.043. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022231315003610>
2. KRAJČOVIČ, Jozef, Alexander KOVALENKO, Patricie HEINRICHOVÁ, Martin VALA a Martin WEITER. Adamantyl side groups boosting the efficiency and thermal stability of organic solid-state fluorescent dyes. DOI: 10.1016/j.jlumin.2016.02.019. ISBN 10.1016/j.jlumin.2016.02.019. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022231315305457>
3. SCHWERTFEGER, Hartmut, Andrey A. FOKIN a Peter R. SCHREINER. Diamonds are a Chemist's Best Friend: Diamondoid Chemistry Beyond Adamantane. DOI:

- 10.1002/anie.200701684. ISBN 10.1002/anie.200701684. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200701684>
4. WEI, Huai-Xin, Qing-Dong OU, Zheng ZHANG, Jian LI, Yan-Qing LI, Shuit-Tong LEE a Jian-Xin TANG. The role of cesium fluoride as an n-type dopant on electron transport layer in organic light-emitting diodes. DOI: 10.1016/j.orgel.2013.01.007. ISBN 10.1016/j.orgel.2013.01.007. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1566119913000177>
 5. NG, S. C., J. M. XU a Hardy S. O. CHAN. Synthesis and Characterization of Regioregular Polymers Containing Substituted Thienylene/Bithienylene and Phenylene Repeating Units. DOI: 10.1021/ma992000t. ISBN 10.1021/ma992000t. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ma992000t>
 6. NG, S.C., J.M. XU a H.S.O. CHAN. Electrically conductive and fluorescent poly[1,4-bis(3-alkyl-2-thienyl)phenylenes]: syntheses and preliminary characterization aspects. DOI: 10.1016/S0379-6779(98)80019-2. ISBN 10.1016/S0379-6779(98)80019-2. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379677998800192>

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval Ing. Jozefu Krajčovičovi, Ph.D. za cenné rady a zkušenosti, vstřícný a individuální přístup, podporu a taky spoustu času, který mi věnoval.

Catalyzed Conversion of Lignin

Anton Lisý

Aleš Ház

*Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Ústav polymérnych materiálov,
Oddelenie Dreva, celulózy a papiera
Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
tono.lisy@gmail.com*

1 Introduction

Everlasting rise of price, shrinking sources of non-renewable resources, ecology of most industrial processes or even utilization of waste as material. All of this, and many more factors, leads us in search for new green technologies for refining or new resource for industry. Lignin has a great potential in this sphere, as it abundant in nature and is considered a waste in pulp production⁷.

The wood is composed of approximately 20 to 35% of lignin⁸. The composition of rest is cellulose, hemicelluloses and extractives. If we produce pulp from lignin, we try to isolate polysaccharide part of wood (cellulose and some hemicelluloses) from aromatic part (lignin)¹¹. During process of pulp production in pulp mill, lignin is dissolved along with other organic compounds and inorganic salts in form of black liquor, that goes to regeneration cycle. Pulp (main product of pulp mill) is washed, bleached and exported, or directly used for paper production. But our main interest is on lignin in regeneration cycle. It is burned in regeneration boiler, along with other organic compounds. If we can separate lignin from black liquor, we may take away part of energy gained in process of burning, but we can use gained lignin to produce organic compounds¹¹, materials like carbon nanotubes or others, and even in form of fuel, if we find a way to condense its energy.

But main advantage of lignin in industry is his renewability⁵. Thus, we can assume, if handled carefully and not exploited, we may create a never ending source of materials, chemicals and fuels. We need only to find a way to produce them. One of such ways may be catalysis with catalyst capable of effective conversion.

Requirement for such catalyst will be low cost per conversed unit of lignin, selectivity of specifically compounds in selected conditions, low energy demand for catalysis, no toxicity, good renewability or way to reuse it and many others, depending on type of catalysis. Finding such catalyst that can meet such demanding conditions may be problematic and would require a lot of testing, but if successful, it will be worth the effort. As outcome, we will probably gain variety of products that, if separated, will provide us steady income of resource, fuel or material.⁴

2 Experimental methods

Experimental part of this paper is devoted to methods used in search of catalyst, with desired properties and useable products. In first stages, bio-fuels were desired targets. As more results were obtained, chemicals were more realistic ones.

2.1 Isolation of lignin

Lignin used in this paper was obtained by isolation from black liquors, supplied by OP Papírna, s.r.o. (Olšany, Czech Republic), where it was manufactured by sulphur-free process. Isolation was performed as follows.

Portion of black liquor was moved into 3 or 4 litre beaker. Then sulphuric acid (50% weight) was added till pH of 3 was reached. During this process, lot of foam was formed and lignin was precipitated. Formed lignin was left to settle on bottom of beaker, and then the solution was evacuated, while lignin was left on bottom. Deionised water was added, solution was stirred and lignin was again left to settle at bottom. Then water was evacuated and we repeated this addition of water 4 to 5 times. In last addition, lignin was separated at büchner funnel and dried by lyophilisation for duration of 24 hours. Then it was stored in closed container in dark dry place.

2.2 Thermo-gravimetric analysis

Thermo-gravimetric analysis was used to determine reaction temperature with best lignin degradation. It was performed on thermo-gravimetric analyzer Mettler Toledo TGA/DSC 1. Before measuring, sample needs to be homogenized. Then, sample of 5 to 10 milligrams was weighted and used in measurement. Both reduction atmosphere, formed by nitrogen, and oxidation atmosphere, created by use of air, was used. Flow during measurement was 50 millilitres for reduction atmosphere and 100 millilitres for oxidation atmosphere. Protecting gas for scales was argon with continuous flow. Technique that was used is listed as follows (for both oxidative and reductive atmosphere):

- fixation of sample - 3 minutes at 30°C isothermally
- heating to 800°C with 10°C per minute step
- finishing of measurement - 3 minutes at 800°C isothermally

2.3 Reactor

Reactor used was composed of inner container and outer shell. The inner container was used for storing the sample of lignin, catalyst and water. When sample was put inside of it, inner container was fixed by metal rings and put in outer shell, which function was heating. Gas valves were used to create desired atmosphere. Safety valve was also present. Stirring and heating was controlled through control unit.

Standard sample was composed of 10 grams of isolated dry lignin, 40 millilitres of deionised water and catalyst. As catalyst, platinum coated carbon and oxalic acid was used. Atmosphere inside the reactor was created by hydrogen, with beginning pressure at 2 bars. Reactor was heated up to 300°C and keep at this temperature during 2 hours. Temperature and pressures were noted. After this time, reactor was cooled, gases inside were released and reactor was opened.

Three phases were gained. Ash phase, water phase and oil phase. Ash phase was separated with filter and washed with dichloromethane, which was later added to oil phase. It was then tested to ash content by annealing. Water and oil phase were separated in separating funnel. Water phase was considered a waste, and oil phase was our product. Oil phase was cleaned on vacuum evaporator (from dichloromethane) and analyzed with gas chromatography with mass spectrometer for its composition, and on calorimeter for its burning heat.

2.4 Calorimetric bomb

Calorimetric bomb was used to determine the heat produced after combustion of materials. Sample input was weighted with 0,1 milligram error in calorimetric pot, along with wire and cotton string. Than it was placed inside of calorimetric container, that was fixed with metal ring. The container was pressurized with oxygen and set up inside calorimeter. Values were inputted through console and measurement was started. After measurement, machine calculated heat produced by burning of sample. This was repeated at last 3 times to produce statistically significant result.

2.5 Gas chromatography with mass spectrometer

Gas chromatograph GC 7890A along with mass detector 5975C were used to detect products of catalysis. Column of HP-5MS type of size 30m×250µm×0.25µm was used. Sample size was 1 micro litre, while injector was of temperature 280°C and flow was 1,5 millilitre of carrying gas (helium). Temperature settings were as following:

- 4 minutes at 40°C
- heating to 100°C with 10°C per minute step
- heating to 300°C with 20°C per minute step
- 4 minutes at 300°C

Detected spectra were identified with help of Wiley and NIST database.

2.6 Pyrolysis

Dry pyrolysis with addition of catalyst was conducted inside analytical pyrolyzer connected to gas chromatograph with mass spectrometer. Output was mass spectra, identified with help of Wiley and NIST database. There were three catalyst used, namely iron oxide, nickel oxide and zeolite in Y-sit H-form. In formations gained in this experiment were only bringing us information of potential products.

3 Results

In addition, composition of lignin was analyzed and results can be seen in table 1. Percentage used in table 1 is always weight percentage and oxygen atomic content is calculated as rest (addition to 100%).

Table 1: Some properties of lignin used in experiment

Elementary composition [%]					Humidity [%]	Ash content [%]	Combustion heat [MJ kg ⁻¹]
N	C	H	S	O*			
1.20	65.54	6.17	0.04	27.05	16.17	0.37	23.61

In following table (table 2) we can observe yields of oil phase based on addition of catalyst. Table 3 show heat produced when this oil is burned, once again, based on amount of added catalyst.

Table 2: Yields of oil phase based on experiment conditions

Experiment conditions			Yield [% mass]
Temperature [°C]	Pt/C addition [g]	C ₂ H ₂ O ₄ addition [mol]	
300	0.101	0.485	16.2
300	0.339	0.485	17.7
300	0.101	1.615	20.6
300	0.339	1.615	19.3

Table 3: Results of measured combustion heat based on experiment conditions

Temperature [°C]	300	300	300	300
Pt/C addition [g]	0.101	0.101	0.339	0.339
C ₂ H ₂ O ₄ addition [mol]	1.615	0.485	1.615	0.485
Combustion heat [MJ kg ⁻¹]	30.74	33.35	31.59	30.82

3.1 Thermo gravimetric analysis

In figure 1, we can observe degradation curve on lignin in oxidation or reduction atmosphere. In figure 2, we can observe derivation of the first curve, which will serve us much more, as we can determine degradation speed of lignin rather easily.

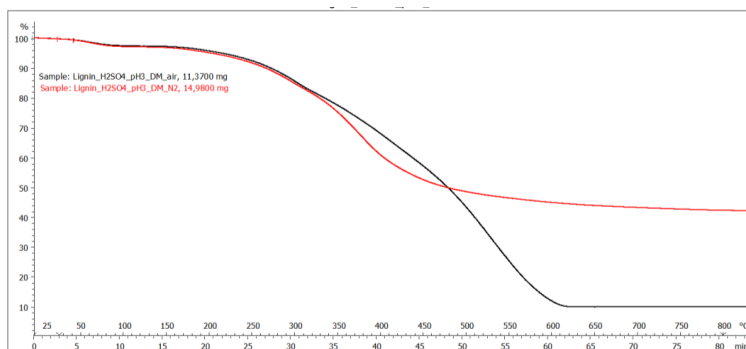


Figure 1: TG curve of thermolysis of lignin used in experiments

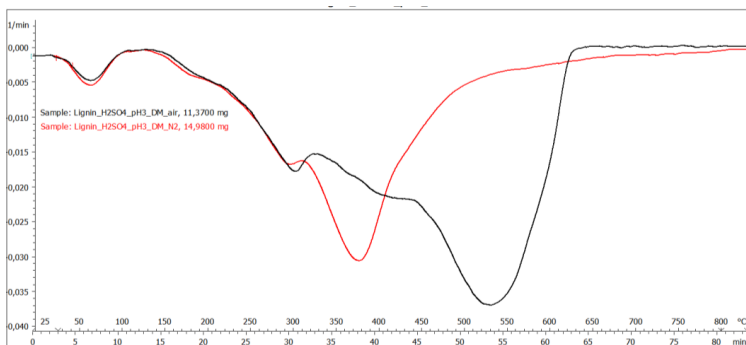


Figure 2: DTG curve of lignin used in experiments

We can observe that degradation begins in both oxidative and reductive atmosphere at 300 °C and yet, it is not fast enough to break lignin to smallest parts. Thus we can assume that temperature of 300 °C will be best to use in catalyzed reaction.

3.2 Gas chromatography with mass spectrum analysis

In figure 3 we can observe, that gained products were abundant in variety. Separation will be problematic if we desire pure compounds of bigger molar mass, as they form in large clusters of similar compounds. Yet we can expect to isolate products of low molar mass with more success as they are more separated. With respect to range of this paper, only one of four obtained chromatographs is included. More to the results of obtained products will be discussed in conclusions part of this paper.

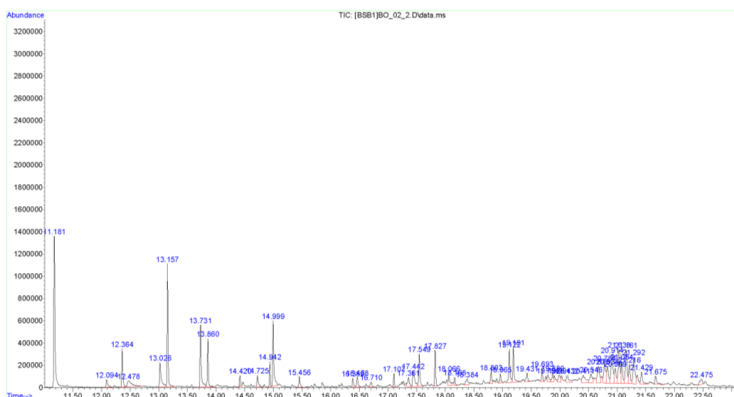


Figure 3: Chromatograph of oil phase obtained by catalyzed conversion of lignin in conditions of 300 °C with addition of 0.101 g Pt/C and 1.615 mol oxalic acid

4 Conclusions

Former objective of this research was to create a new source of bio fuels. As observed in tables 2 and 3, results were not satisfactory. The combustion heat from 30 to 33 MJ kg⁻¹ is better than wood (20 MJ kg⁻¹ for dry wood)¹⁴ the lignin itself (23.61 MJ kg⁻¹) slightly better than ethanol (28.5 MJ kg⁻¹)¹⁴, but still less than gasoline (44 MJ kg⁻¹)¹⁴. With maximum yield of 20% and rather big input of energy needed to heat up, this method will be effective only if we need a way to condensate energy.

On other hand, the oil phase was composed of many rather interesting chemicals. Most present were phenolic compounds (2-methoxy-phenol and 4-ethyl-2-methoxy-phenol), derivatives of vanillin (homovanillic acid and ethyl homovanillate) and derivatives of phthalic acid. As mentioned many times before, separation will be problematic, as none of previously mentioned compounds did not represent more than one tenth of mixture. Additionally they are formed in very close clusters of compounds, with similar composition and properties.

Pyrolysis was slightly more rewarding experiment. It allows us to predict possible products. Mostly presented were toluene, phenol, creosol and phenolic compounds. We can observe in table 4

Table 4: Contents of detected products of dry pyrolysis (sample is named by used catalyst)

Sample	Content of compound in products in mass %			
	Toluene	Phenol	Creosol	Phenolic compounds
Lignin	4.6	2.6	3.4	24.8
Fe(OH) ₃	6.5	4.9	10.5	25.1
NiO	2.7	2.7	7	30.8
Z 2.5	6.5	-	16	42.9
Z 5.0	5.5	-	7	22.2

From this, we can assume that more research and testing are required until we can form a definitive conclusion. Thus far, catalysis of lignin with selected catalyst is useful to obtain chemicals, rather than energy rich fuel. Optimization of conditions is certainly required, as it change both yield and conversion to selected compounds. What is to be questioned is energetic effectiveness of this process.

5 References

1. Jablonský, M.; Kočíš, J.; Šima, J.; Ház, A.; Cellul. Chem. Technol. 2015, 49, 267-274
2. Ház A et al., Int J Recent Sci Res. 2016, 7(6), 11547-11551...
3. Ház, A.; Jablonský, M.; Dubíniová, L.; Sládková, A.; Šurina, I., Wood Res. 2015, 60, 375-384
4. Zhang M. et al.; Fuel 2014, 166, 358-369
5. Šurina, I.; Jablonský, M.; Ház, A.; Sládková, A.; Briškárová, A.; Kačík, F.; Šima, J.; Bioresources 2015, 10, 1408-1423
6. Azadi P. et al.; Renewable Sustainable Energy Rev. 2013, 21, 506-523

7. Blažej, A a Košík, M. *Fytomasa ako chemická surovina*. Bratislava : VEDA, 1985.
8. Blažej, A a Šutý, L. *Rastlinné fenolové zlúčeniny*. Bratislava : Alfa, 1973
9. Maldhure A.V., Ekhe J.D. Pyrolysis of purified kraft lignin in the presence of AlCl₃ and ZnCl₂. *Journal of environmental Chemical Engineering* 1. 2013, 844-849
10. Zhang M. et al. Catalytic fast pyrolysis of aspen lignin via Py-GC/MS. *Fuel* 116. 2014, 358-369
11. R. Beauchet et al. Conversion of lignin to aromatic-based chemicals (L-chems) and biofuels (L-fuels). *Bioresource Technology* 121. 2012, 328-334
12. S. Kang et al. Hydrothermal conversion of lignin: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27. 2013, 546-558
13. Azadi P. et al. Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A Critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 21. 2013, 506-523
14. Oak Ridge National Laboratory. Lower and Higher Heating Values of Gas, Liquid and Solid Fuels. *Biomass Energy Data Book*. 2011.

This work was realized with support of Agency to support research on basis of agreements number APVV 0850-11, APVV 0393-14 and APVV-15-0460 and grant scheme of STU to support excellent teams of young researchers, agreement number 1663 and 1601.

Vedlejší energetické produkty jako surovinová základna budoucnosti

Bc. Michal Marko

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Česká republika
xcmarkom@fch.vut.cz*

1 Úvod

V dnešní době se stále více klade důraz na recyklaci použitých materiálů a využívání druhotných surovin, jednak z důvodu snížení celkového dopadu na životní prostředí, ale také kvůli dosažení co největších energetických a ekonomických úspor. Hlavní pozornost je směřována k velkoobjemovým odpadům. Do této kategorie se řadí také elektrárenský popílek, kterého jen Česká republika produkuje zhruba 12–14 mil. tun každý rok. Pouze malá část z této produkce (méně než 20 %) je odvážena ze skládek za účelem zakomponování do výrobních procesů např. stavebních a konstrukčních materiálů.

Nalezení nových oblastí využitelnosti elektrárenských popílků jde ruku v ruce s celosvětovým problémem postupného ochuzování a vyčerpávání přírodních nalezišť určitých komodit. Vzhledem k poznatku, že jsou popílkly tvořeny celou řadou sloučenin a minerálů křemíku, vápníku, železa, hliníku, titanu a dalších, mohou být využity právě jako zdroje některých obsažených složek. Použitím vhodných, komerčně i ekonomicky dostupných činidel a následně běžných technologických operací je možné z těchto zatím nevyužitých tuhých zbytků po spalování uhlí připravit buď aktivované prekurzory pro následnou výrobu, nebo již hotové produkty, které mohou disponovat rovněž velmi vysokou čistotou.

2 Experimentální část

První část práce byla věnována důkladnému chemickému rozboru několika vzorků vysokoteplotních (Počeradý, Pruněřov) a fluidních (Ledvice, Tisová) hnědouhelných popílků z produkce českých energetických podniků. Pomocí rentgenové difrakční analýzy (XRD) bylo stanoveno fázové složení vzorků a podíl amorfní fáze (tabulka 1). Následně byla provedena analýza chemického složení užitím rentgenové fluorescenční spektrometrie (XRF). Struktura popílků Dále byly vzorky podrobeny zkoušce ztráty žíháním a termogravimetrické analýze (TG-DTA) ke zjištění množství nedopalu a teplotní stability vzorků.

Na základě dosažených výsledků chemického složení metodou XRF majoritních složek vybraných popílků (tabulka 2) byly vybrány pro následné studium možností zisku titanu a hliníku spolu s železem jeden vzorek popílku vysokoteplotního spalování (Počerady) a jeden vzorek popílku fluidního spalování (Ledvice, filtrový i ložový popílek).

Tabulka 1 Výsledky Rietveldovy analýzy hnědouhelných popílků

Složka	Počerady	Pruněřov	Tisová filtr	Ledvice filtr	Ledvice lože
Anhydrit	–	–	11,6	5,7	8,0
Křemen	9,2	6,3	7,5	8,5	12,2
Vápno	–	–	1,2	2,5	2,0
Portlandit	–	–	1,8	2,7	1,0
Magnetit	9,0	5,2	–	–	1,7
Hematit	–	–	3,2	1,0	0,1
Anatas	–	–	2,4	1,5	2,6
Kalcit	–	–	7,6	0,4	0,5
Muskovit	–	–	–	0,8	1,6
Anortit	–	–	1,5	–	–
Mullit	32,6	12,7	–	–	–
Kristobalit	–	1,1	–	–	–
Amorfni fáze	57,0	74,8	63,1	77,0	70,3

Tabulka 2 Chemické složení studovaných vzorků popílků (přepočteno na oxidy)

hm % Popílek	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	TiO ₂	MgO	CaO	SiO ₂	K ₂ O	Na ₂ O	SO ₃
Počerady	7,45	29,50	1,83	0,32	2,94	54,04	2,69	0,24	0,76
Pruněřov	17,73	23,32	1,30	0,84	6,05	46,62	1,07	0,40	2,40
Tisová filtr	7,23	21,68	4,98	0,29	23,65	33,71	0,87	0,05	7,32
Ledvice filtr	7,03	27,93	3,36	0,38	21,24	32,07	0,93	0,47	6,42
Ledvice lože	7,85	22,53	2,96	0,38	23,89	34,67	0,99	0,13	6,44

Pro studium možností zisku zvolených složek z popílkové matrice byl zvolen mokrá způsob, tedy extrakce za užití rozpouštědla kyselého povahy – kyseliny sírové. Využití tohoto extrakčního média spojuje výhody rozpouštění všech zvolených látek do roztoku s možností potenciálního využití odpadní kyseliny sírové z různých provozů. Ionty rozpuštěných kovů lze z roztoku selektivně vysrážet úpravou pH např. pomocí roztoku hydroxidu sodného či amonného. Vysrážené komplexy se krátkodobým žiháním, případně sušením po delší dobu rozpadají za vzniku oxidických forem těchto kovů.

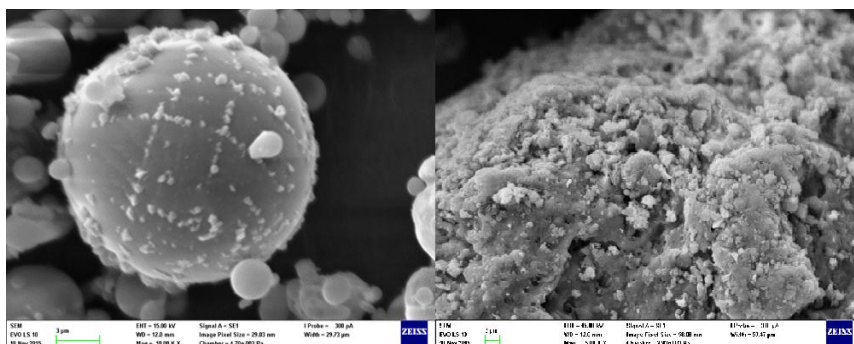
Pro dosažení vyšších účinností extrakce hliníku a titanu má rozhodující vliv obsah železa ve vzorku, které má jakožto nejméně ušlechtilý kov z výše vybraných přednost vyluhování a v počátečních fázích znesnadňuje extrakce ušlechtilějších kovů (zejména titanu) do roztoku. Účinnost extrakce zvolených složek byla sledována v závislosti na koncentraci extrakčního činidla (5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 50 % H₂SO₄), době extrakce (60, 120, 240 a 360 min) a teplotě. Teplota v průběhu experimentu byla v prvním testování laboratorní, poté byla rovna teplotě varu použitého činidla (extrakce probíhala v aparatuře se zpětným chladičem). U ložového popílku byl zkoumán také vliv velikosti částic na účinnost extrakce. Koncentrace vyluhovaných složek z matrice do roztoku byly stanoveny metodou ICP-OES.

3 Výsledky a diskuze

3.1 Loužení za laboratorní teploty

Loužení při laboratorní teplotě prokázalo, že vysokoteplotní popílek není vhodným materiálem pro tento typ separace (výťažnosti se pohybovaly v řádu jednotek procent). Vysokoteplotní popílek vytváří vlivem vyšší teploty spalovacího procesu chemicky obtížně rozložitelné minerály jako je například mullit a dále jsou jeho zrna pravidelného kulovitěho tvaru pokryta vrstvičkou skloviny s minimálním množstvím pórů, do nichž by mohlo proniknout extrakční činidlo a rozpouštět tak daný materiál.

O poznání vhodnějším materiálem pro daný typ extrakce je užití popílku z fluidního spalování, který vytváří chemicky lépe rozložitelné minerály a zároveň disponuje větším obsahem pórů, které mají pozitivní vliv na extrakci. Porovnání struktur vysokoteplotního a fluidního popílku znázorňuje obr. 1.



Obr. 1 Snímky vysokoteplotního (vlevo) a fluidního (vpravo) popílku (SEM)

Extrakce železa, hliníku a titanu z fluidních popílků dosahovala poměrně příznivých výsledků jak v případě filtrového, tak i ložového popílku. Shrnutí nejvyšších dosažených výtěžností je uvedeno v tabulce 2. Nižší výtěžnosti titanu a hliníku v případě ložového popílku mají spojitost s vyluhováním nižšího množství železa, kdy při vyluhování přibližně 75–80 % železa nastává nárůst účinnosti extrakce zbylých sledovaných prvků. Tyto poznatky se jeví jako velmi důležité zejména pro možné uplatnění vícenásobné extrakce materiálu. Dále byl u ložových popílků pozorován jev, kdy v případě nemletého materiálu je účinnost extrakce ve zředěných roztocích kyseliny výrazně nižší (až o 60 %) než v případě média o vyšší koncentraci. V případě mletého stavu vzorku je rozdíl v účinnosti jednotlivých koncentrací kyseliny sírové minimální, kdy rozdíl činí zhruba 10 %. Velikost částic louženého materiálu má rovněž vliv na účinnost extrakce, kdy výtěžnosti mletého popílku dosahovaly příznivějších hodnot.

Nejvhodnějším materiálem pro extrakci vybraných kovů byl za laboratorní teploty filtrový popílek. Zde se nabízí možnost využití opakované extrakce ve zředěném médiu, kde by bylo možné v prvních fázích odseparovat většinu železa a dále se zabývat loužením titanu vedle hliníku. Tuto myšlenku je možné přenést rovněž na mletý ložový popílek.

Tabulka 3 Výtěžnosti jednodušné extrakce při laboratorní po 360 min

$w \text{ H}_2\text{SO}_4$ (%)	Ledvice lože nemletý			Ledvice lože mletý			Ledvice filtr		
	$v \text{ Fe}$	$v \text{ Al}$	$v \text{ Ti}$	$v \text{ Fe}$	$v \text{ Al}$	$v \text{ Ti}$	$v \text{ Fe}$	$v \text{ Al}$	$v \text{ Ti}$
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
5	6,7	7,11	1,1	55,37	16,99	4,24	76,95	33,66	32,48
10	13,96	10,74	1,76	66,91	12,08	4,24	67,07	35,23	34,97
20	23,11	11,61	2,36	62,27	17,19	4,37	81,91	31,82	33,49
30	42,89	12,76	2,73	67,40	16,17	4,48	78,58	37,05	35,42
50	52,67	11,71	2,82	69,26	13,52	4,46	67,87	36,82	38,90

3.2 Loužení s využitím refluxu

Extrakce vybraných prvků z vysokoteplotního popílku nedosahovala ani za refluxních podmínek nikterak oslnivých hodnot. Tento fakt je dán morfologií a složením daného materiálu. Naproti tomu účinnost separace z fluidních popílků je zejména pro hliník daleko více účinná než při laboratorní teplotě.

Stejně jako v případě loužení za laboratorní teploty byl prokázán pozitivní vliv menších částic hmoty (mletého a nemletého stavu ložového popílku) na účinnost separačního procesu, avšak tento rozdíl již není tak markantní jako při stejném experimentu za laboratorní teploty. Z tohoto důvodu by se v průmyslovém měřítku příliš

nevyplatilo předupravovat vstupní surovinu mletím, neboť by náklady na vydanou energii během mlecího procesu neměly návratnost

U všech typů fluidních popílků nastala poměrně zajímavá anomálie v prostředí 5% kyseliny, do které za refluxních podmínek nedocházelo k vyluhování prakticky žádného množství titanu a pouze omezené množství železa. Jediným extrahovaným prvkem v tomto médiu byl hliník. Na základě těchto dat lze předpokládat, že s využitím vícestupňové extrakce by v prvních krocích bylo možné účinkem 5% kyseliny sírové odseparovat hliník, čímž by došlo k významnému zakoncentrování ostatních prvků ve vstupním materiálu.

Filtrový popílek vykazoval jako jediný nižší výtěžnost titanu než za laboratorní teploty. Byla u něj však zjištěna nejvyšší vyluhovatelnost hliníku ze všech vzorků (až 95 %). Výtěžnost hliníku je tak zhruba o 50 % vyšší než v případě ložového popílku. Pro loužení titanu je nejvhodnější užít 50% kyseliny sírovou, zbylé koncentrace rozpouštědla totiž nedosahují zdaleka takové účinnosti. Zajímavou myšlenkou je zakoncentrování titanu v nerozpuštěném podílu účinkem 5% kyseliny, kdy by se jeho koncentrace v sušině znatelně zvýšila a následnou dvoustupňovou či třístupňovou extrakcí do 30% nebo 50% kyseliny tentokrát za laboratorní teploty by mohlo dojít k vyluhování téměř veškerého titanu.

Tabulka 4 Výtěžnosti jednostupňové extrakce za refluxních podmínek po 360 min

w H ₂ SO ₄ (%)	Ledvice lože nemletý			Ledvice lože mletý			Ledvice filtr		
	v Fe (%)	v Al (%)	v Ti (%)	v Fe (%)	v Al (%)	v Ti (%)	v Fe (%)	v Al (%)	v Ti (%)
5	14,36	27,30	0,04	16,39	44,57	0,02	17,04	90,16	0,15
10	69,46	58,76	7,02	69,21	58,11	7,49	27,69	78,79	4,53
20	78,72	58,59	11,14	86,44	67,36	12,01	42,27	79,57	8,82
30	82,87	63,19	10,88	86,15	71,12	13,49	51,64	82,83	10,43
50	95,49	75,61	23,41	89,79	71,50	16,88	61,29	94,53	29,55

4 Závěry

Cílem této práce bylo navrhnout možné metody k separaci hliníku, železa a titanu z velkoobjemového odpadního materiálu – fluidního a vysokoteplotního popílku. Z důvodu snížení ekonomických nákladů pro budoucí aplikaci v průmyslu byla navržena a v laboratorním měřítku ověřena extrakce do roztoku kyseliny sírové a následného rozdělení složek úpravou pH.

Na základě dosažených výsledků lze učinit obecný závěr, že vysokoteplotní popílky v důsledku spalovacího procesu, tvaru a morfologie zrn nejsou příliš vhodné pro separaci vybraných látek pomocí roztoků kyseliny sírové. Naopak fluidní popílky v důsledku velkého měrného povrchu a absenci „odolných minerálů“ vykazují velmi dobrý potenciál pro další výzkum, jenž se bude ubírat tímto směrem. Bylo zjištěno, že pomletím ložových popílků stoupá jejich vyluhovatelnost. Nejvhodnějším typem popílku pro separaci vybraných látek je filtrový popílek, který dosahoval za laboratorní teploty užitím koncentrované kyseliny výrazně vyšší vyluhovatelnosti titanu (38 %) a za podmínek refluxu významných hodnot extrakce hliníku (94 %) ve zředěné kyselině sírové. Nejvhodnějším řešením se pro tento typ popílku jeví užití několikastupňové extrakce za refluxu do zředěné kyseliny sírové a následné pravděpodobně dvoustupňové extrakce v 50% kyselině za laboratorní teploty.

Na základě výsledků této práce bude možné navrhnout a experimentálně ověřit možnosti vícestupňových extrakcí kombinujících využití laboratorní teploty, zvýšené teploty a refluxu s ohledem na nalezení vhodného poměru výtěžnosti extrakce, použitých surovin a nákladů na energie spojené např. s mletím vstupního materiálu nebo zahřívání reakční směsi. Vzhledem k otázkám trvale udržitelného rozvoje je zpracované téma aktuální a jeho úspěšné řešení může do budoucna velmi pomoci v řešení otázek surovinové základny.

5 Literatura

- [1] FEČKO, Peter. *Popílky*. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita, 2003, 187 s. ISBN 80-248-0327-5.
- [2] MICHALÍKOVÁ, Františka, Jiří ŠKVARLA, Beáta STEHLÍKOVÁ a Martin SISOL. Zhodnocovanie tuhých odpadov zo spaľovania uhlia v tepelných elektrárnach. *Odpadové fórum* [online]. 10/2011 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.odpadoveforum.cz/upload/pageFiles/4-2010-pdf.pdf>.
- [3] D. LUTZE. [EDS.]. *Handbook on fly ash in concrete: principles of production and use*. 2. ed. Düsseldorf: Bau Technik, 2010. ISBN 978-376-4005-276.

- [4] MICHALÍKOVÁ, F., L'. FLOREKOVÁ a J. MAČALA. 98/01243 Basic properties of power industry fly ashes from the point of view of possibilities of their utilization. *Fuel and Energy Abstracts* [online]. 1998, 39(2), 110- [cit. 2017-03-04]. DOI: 10.1016/S0140-6701(98)97385-4. ISSN 01406701. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140670198973854>.
- [5] SHABTAI, Yossef a Igor MUKMENEV. A combined chemical-biotechnological treatment of coal fly ash (CFA). *Journal of Biotechnology*. 1996, 51(3): 209–217 [cit. 2017-03-05] DOI: 10.1016/S0168-1656(96)01598-2. ISSN 01681656. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165696015982>.
- [6] YAO, Z.T., M.S. XIA, P.K. SARKER a T. CHEN. A review of the alumina recovery from coal fly ash, with a focus in China. *Fuel* [online]. 2014, 120: 74–85 [cit. 2017-03-05]. DOI: 10.1016/j.fuel.2013.12.003. ISSN 00162361. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001623611301140X>.

Poděkování

Rád bych tímto poděkoval vedoucímu bakalářské práce Ing. Tomáši Opravilovi, Ph.D. za ochotu, odbornou pomoc a velmi cenné rady a poznatky. Dále pak všem pracovníkům Centra materiálového výzkumu za měření a vysvětlení principů použitých analytických metod.

Lehké kompozity na bázi fluidních filtrových popílků

Jakub Palovčík

Tomáš Opravil

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Česká republika
xcpalovcik@fch.vutbr.cz*

1 Úvod

Současná problematika stavebních materiálů souvisí s rostoucími cenami vstupních materiálů, energie, pracovní síly a environmentální politikou stejně jako jakákoli průmyslová výroba. Výroba stavebních materiálů je významnou měrou závislá na těžbě nerostných surovin, ale jejich zásoby jsou omezené. Těžba, doprava a zpracování těchto velkoobjemově zpracovávaných surovin je producentem zátěže ve formě prachu, hluku, emisí oxidu uhličitého a podobně. Tyto skutečnosti jsou v dnešní době regulovány legislativou a jejich nákladná řešení se promítají do výrobních nákladů výsledných produktů. Nabízí se řešení v podobě využití odpadních a sekundárních produktů produkovaných průmyslem.

Jedním z nejvýznamnějších zdrojů druhotných surovin je energetický průmysl založený na spalování uhlí. Při spalování uhlí vznikají kromě plynných exhalací a tepla také pevné produkty jako například různé druhy popílků, škvára, nebo kotelní prach. Dalšími alternativními produkty jsou produkty z emisních opatření, jako je například energosádrovec z odsíření spalin. Tyto produkty byly v dřívějších dobách brány jako odpady a primárním řešením bylo jejich skládkování, což je ekonomicky nevýhodné a ekologicky nepřilíš elegantní řešení. V dnešní době je velké množství těchto odpadů využíváno jako kvalitní druhotné suroviny, jež jsou za cenu jistých kompromisů vhodnými náhradami draze těžěných a zpracovávaných nerostů.

Potenciální využití druhotných surovin z energetického průmyslu je závislé na jejich chemickém a fázovém složení a na jejich stabilitě a na stabilitě výsledného stavebního materiálu. Chemické i fázové složení produktu je závislé na druhu spalovaného materiálu, a způsobu jeho spalování a zpracování. Složení je tedy do jisté míry variabilní, což je jeden problémů praktického využívání těchto materiálu, se kterým se současná věda snaží vyrovnat. [1]

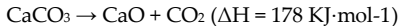
2 Materiál, metody a experimenty

2.1 Fluidní spalování uhlí

Fluidní spalování je proces, při kterém je mleté uhlí spalováno ve vznosu, v proudu vzduchu. Toto spalování dosahuje větší účinnosti, než u klasických práškových kotlů. To je způsobeno větším množstvím spalovacího vzduchu, který je v kontaktu s palivem. Proto dochází k dokonalejšímu spalování. V praxi je mleté uhlí spalováno společně s mletým vápencem při teplotě okolo 850 °C, který slouží jako absorbent vznikajícího oxidu siřičitého. Vzniká síran vápenatý ve formě anhydritu. K odsiřování tedy dochází přímo v kotli bez nutnosti výstavby odsiřovacích zařízení. Při fluidním spalování uhlí nedochází ke vzniku termického NO_x, pouze ke vzniku palivového NO_x, což je způsobeno nižší teplotou spalování, než v klasických kotlích a přispívá to ke snížení emisí proti vysokoteplotnímu spalování.

Reakce probíhající ve fluidní vrstvě:

Rozklad uhličitanu vápenatého na oxid vápenatý, oxid uhličitý:



Reakce oxidu vápenatého s oxidem siřičitým za vzniku síranu vápenatého:



Optimální teplota této reakce je 800 až 900 °C, při nižší teplotě je odsíření méně účinné a při vyšších teplotách dochází ke zpětné reakci, kdy je síran vápenatý (anhydrit) rozkládán zpět na oxid vápenatý a oxid siřičitý. [2][3]

2.2 Produkty fluidního spalování uhlí

Pevné produkty fluidního spalování jsou odlišné od produktů z vysokoteplotního spalování. Rozdíly jsou v obsahu a množství zastoupených fází. Fluidní popílek je směs minerálních složek zastoupených v uhlí, produktů spalování a produktů odsíření. Majoritními složkami jsou zde reaktivní amorfni aluminosilikát, anhydrit a měkce pálené vápno. U vysokoteplotních popílků jsou nejvíce zastoupenými složkami sklovitá fáze, mulit a křemen.

Z teploty spalování kolem 850 °C vyplývají i rozdíly ve fyzikálních vlastnostech produktu, protože nedochází k natavování minerálních složek. Částice jsou po vyhoření uhlí porézní, nepravidelného tvaru, jejich sypaná hmotnost je v rozmezí 500 – 700 kg·m⁻³. Fluidní popílek obsahuje vyšší podíl SO₃ a to až 20 % hmot. a až 35 % hmot. CaO ve formě měkce páleného vápna, což může způsobit při použití ve formě pojiva tvorbu ettringitu.

Popílek z fluidního spalování jsou děleny do dvou kategorií podle místa odběru na ložový popel a filtrový popílek. Oba popely vznikají zároveň při procesu fluidního spalování, ale vlastnostmi a složením se výrazně odlišují.

Hrubý ložový popel je produktem fluidního spalování, jde o objemnější částice s vyšší hmotností, které propadnou fluidním prstencem. Vysoký obsah měkce páleného vápna a anhydritu způsobuje velmi dobré hydraulické vlastnosti tohoto materiálu, který

při samotném smísení s vodou tuhne. Pro použití do záměsí bývá ložový popel často mletý, což značně zvyšuje jeho reaktivitu.

Fluidní filtrový popílek je dalším produktem fluidního spalování uhlí, jde o drobné, lehké částice, neboli úlet, který je zachycován elektrostatickými odlučovači, jimiž jsou odváděny spaliny před vstupem do komína. Od hrubého ložového popele se liší především nižším obsahem CaO voleného i celkového, který je spolu s anhydritem nositelem hydraulických vlastností. [2][3][4][5][6]

2.3 Superplastifikátory

Superplastifikátory jsou chemické modifikující přísady do betonu. Jde o organické makromolekulární povrchově aktivní látky, které svou adsorpcí na povrchu částic pojiva mohou měnit jejich náboj a tak dispergovat částice a upravovat konzistenci připravovaného betonu. Tyto sloučeniny podstatně snižují vodní součinitel a snižují tak množství záměsové vody, při zachování dostatečně dobré zpracovatelnosti.

V průběhu posledních desetiletí došlo k značnému vývoji v oblasti superplastifikátorů a vzniklo několik skupin podle složení makromolekulárního řetězce. Lignosulfonáty (s nízkým obsahem sacharidů), polykondenzát naftalensulfonátu s formaldehydem, polykondenzát sulfonovaného melaminu s formaldehydem, polyakryláty, polykarboxyláty. V alkalickém prostředí cementové suspenze disociují funkční skupiny $-\text{COOH}$ a $-\text{SO}_3\text{H}$ a vzniklé anionty reagují s kationty minerálních složek zrn (Ca^{2+} , Al^{3+}) za vzniku komplexních sloučenin. Anionty, jež se neúčastní reakcí s minerálními složkami zrn, jsou díky zápornému náboji vzájemně odpuzovány, společně s vlivem sterických efektů postranních řetězců dochází k deflokulaci. Délka a rozvětvení postranního řetězce určuje sterické efekty a výsledný účinek superplastifikátoru.

Superplastifikátory jsou nejčastěji dodávány ve formě vodných roztoků, různých viskozit a hustot, podle obsahu aktivní látky v roztoku a podle jejího chemického složení. Pro přípravu suchých směsí mohou být superplastifikátory dodávány také ve formě prášku. [7]

2.4. Pevnostní zkoušky

Záměsí byly připravovány na laboratorní míchačce, kde byla nejprve dávkována voda a případný superplastifikátor, poté byly přidány pevné komponenty. Homogenizace a úprava složení směsí byla prováděna tak, aby měly připravené záměsí vždy stejnou konzistenci. Takto připravené směsí byly hutněny na vibračním stole do připravených forem. Pro přípravu zkušebních těles (trámečků) byly použity formy o rozměrech $20 \times 20 \times 100$ mm a $40 \times 40 \times 160$ mm. Směsí zrály ve formách po dobu 24 hodin, při laboratorní teplotě. Poté byly trámečky odformovány a uloženy do zrací komory ($t = 20$ °C, vlhkost 90 – 100 %). Zkušební tělesa byla vyjímána po požadovaných dobách zrání (1, 7, 28 dní) a byly na nich prováděny pevnostní zkoušky. Trámečky byly před pevnostní zkouškou zváženy pro výpočet objemové hmotnosti. Vzorky byly testovány na zařízení DESTTEST 3310. Vybrané vyzrálé směsí byly namlety a podrobeny rentgenové difrakční analýze, kvůli analýze hydratačních produktů. [9][10]

2.6 Rentgenová difrakční analýza

Prášková rentgenová difrakční analýza (XRD) je analytická metoda, která je používána k objasnění fázového složení práškových materiálů. Princip metody spočívá v interakci svazku rentgenového záření s povrchem krystalického materiálu, kde dochází při splnění určitých podmínek k rozptylu paprsku a následné difrakci. Poloha a tvar difrakčních maxim je pro daný typ struktury jedinečná, tvoří takzvaný difraktogram, díky kterému lze určit fázové složení analyzovaného materiálu. [11]

2.7 Analýza vstupních surovin - fluidní filtrový popílek Tisová

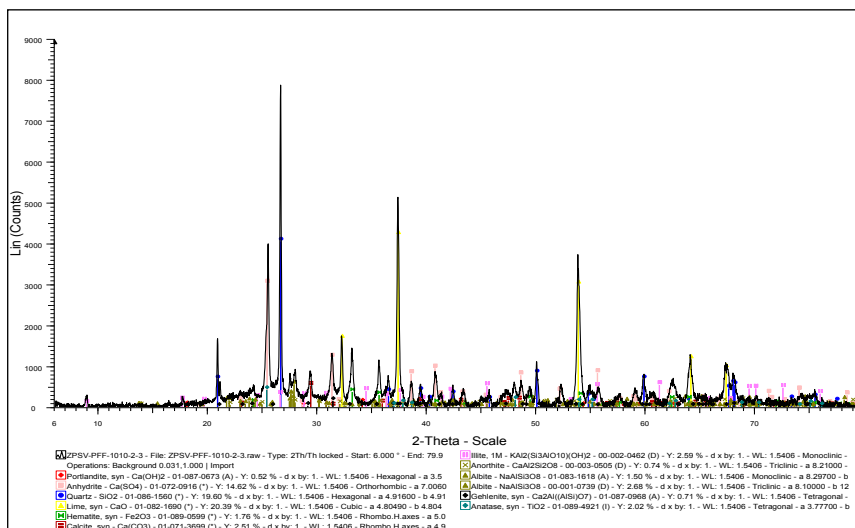
Stanovení obsahu volného vápna bylo provedeno sacharátovou metodou podle normy ČSN P 72 2080. Průměrný obsah takto stanoveného vápna je ve fluidním filtrovém popílků Tisová 4,9%. Prvková analýza byla provedena metodou rentgenové fluorescenční analýzy.

Tabulka 1.: Prvková analýza fluidního filtrového popílků Tisová provedena pomocí rentgenové fluorescenční analýzy:

HLAVNÍ OXIDY											
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	MgO	SO ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	P ₂ O ₅	
%	33,9	22,4	22,8	0,66	0,67	0,85	5,19	7,17	5,41	0,31	
DOPLŇKOVÉ OXIDY											
	Cr ₂ O ₃	MnO	NiO	CuO	ZnO	As ₂ O ₃	ZrO ₂	SrO	BaO	Sm ₂ O ₃	WO ₃
%	0,03	0,07	0,01	0,04	0,02	0,01	0,09	0,09	0,15	0,01	0,01

Tabulka 2.: Tabulka přibližného zastoupení jednotlivých fází ve fluidním filtrovém popílků Tisová stanoveného na základě rentgenové fázové difrakční analýzy. Vysvětlivky: (+++) - fáze tvoří majoritní složku, (++) - fáze přítomna ve značném množství, (+) - fáze přítomna v malém množství, (?) - přítomnost fáze neprokazatelná, (-) - fáze není přítomna.

Portlandit	?
Anhydrit	+++
Křemen	+++
Oxid vápenatý	+++
Magnetit	-
Hematit	+
Illit	
Živce	++
Gehlenit	?
Kalcit	+
Anatas	+
Amorfni fáze	++



Obrázek 1.: Graf rentgenové difrakční analýzy fluidního filtrového popílku Tisová.

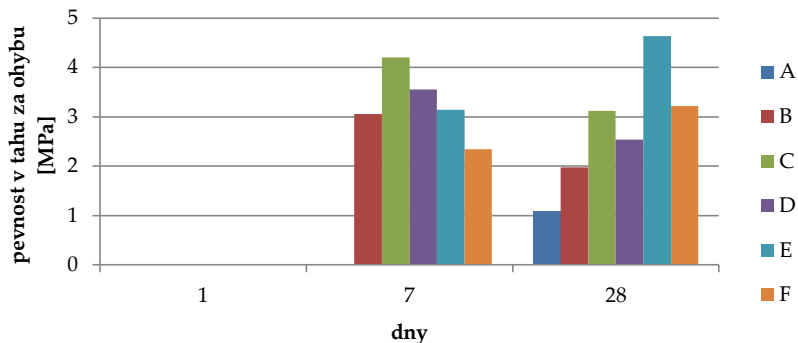
Vstupní analýza dokumentuje majoritní obsah oxidu křemičitého, hlinitého a vápenatého. Hlavními nositeli hydratačních vlastností jsou oxid vápenatý ve formě volného vápna a anhydrit.

2.8 Příprava a testování zkušebních těles

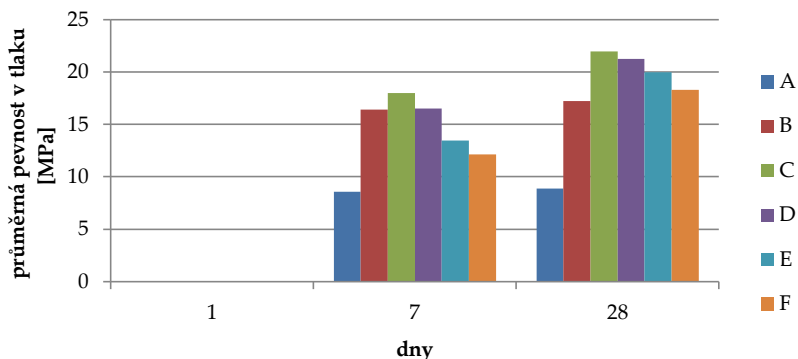
Byla připravena řada záměsí o složení uvedeném v tabulce 1, kde je uvedeno zastoupení fluidního popílku Tisová a vápenného hydrátu a vody. Připravené záměsi byly podrobeny zráním a následným pevnostním zkouškám po 1, 7 a 28 dnech.

Tabulka 1.: Tabulka složení připravených záměsí.

Označení	A	B	C	D	E	F
m_{popílek} [g]	1000	950	900	850	800	750
m_{vápenný hydrát} [g]	0	50	100	150	200	250
m_{voda} [g]	622	624	606	627	635	645
vodní součinitel w/c	0,62	0,62	0,61	0,63	0,64	0,65



Obrázek 2.: Pevnost v tahu za ohybu připravených záměsí.



Obrázek 3.: Pevnost v tlaku připravených záměsí.

Uvedené grafy ukazují vývoj pevností připravených směsí. Po jednom dni bylo možné s tělesy manipulovat, ale jejich pevnosti byly neměřitelné. Nejvyšší pevnosti v tahu za ohybu bylo dosaženo po 28 dnech vzorkem E, který obsahoval 20 % vápenného hydrátu. Vzorek D dosáhl nejnižší pevnosti v tahu za ohybu pravděpodobně díky nedokonalému ztuhnutí a obsahu kavit ve své struktuře. Nejvyšší pevnosti v tlaku po 28 dnech bylo dosaženo vzorkem C s obsahem vápenného hydrátu 10 %.

Dále byly připraveny další směsi a kompozity s maticí připravenou na bázi výše zmíněných pojiv. Kompozity obsahovaly různé zastoupení polyesterových vláken s příměsí polyvinylchloridu. Tyto kompozity byly na pevnost testovány obdobně a ve stejných časových intervalech jako výše popsané. Všechny vzorky byly zváženy a následně byla vypočítána jejich objemová hmotnost. Konkrétní výsledky a závěry budou prezentovány na konferenci.

4 Závěr

Pomocí testování pevností připravených zkušebních těles byly dokázány možnosti použití fluidních filtrových popílků jako matric pro netradiční kompozitní materiály. Rovněž aplikace odpadních polyesterových vláken z výroby střešních fólií se ukázala jako jeden z možných způsobů využití těchto doposud téměř nevyužitých materiálů. Zkušební tělesa vykazovala nízké objemové hmotnosti a záměsí určitých receptur dosahovaly pevností v tlaku více než 20 MPa. Pro aplikaci těchto alternativních surovin je nutné poukázat na fakt, že alternativní suroviny se mohou vyznačovat variabilním složením. Je zapotřebí pravidelně sledovat jejich chemické a fázové složení a na základě výsledků provádět drobné modifikace připravovaných matric.

5 Literatura

1. LEDEREROVÁ, J. a P. LEBER. Využití průmyslových odpadních materiálů při výrobě stavebních hmot. Časopis Stavebnictví [online]. 2008, č. 4 [cit. 2015-12-20]. Dostupné z: http://www.casopisstavebnictvi.cz/vyuziti-prumyslovych-odpadnich-materialu-pri-vyrobestavebnich-hmot_N753
2. FEČKO, P., M. KUŠNIEROVÁ, B. LYČKOVÁ, V. ČABLÍK a A. FARKAŠOVÁ. Popílký. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2003, 187 s. ISBN 80-248-0327-5.
3. OPRAVIL, T. Příprava kompozitů netradičního složení na bázi zbytků fluidního spalování uhlí. Brno, 2005. Diplomová práce. FCH VUT Brno.
4. KNĚZEK, Josef. Ekologické a ekonomické zpracování průmyslových odpadních materiálů. 4. díl, Stavební kompozity s aplikací jemnozrnných průmyslových odpadních materiálů. 1. vyd. Brno: Výzkumný ústav stavebních hmot, 2012, 261 s. : il. ; 26 cm. ISBN 9788087397053.
5. HAVLICA, J, J BRANDSTETR a I ODLER. Possibilities of Utilizing Solid Residues from Pressured Fluidized Bed Coal Combustion (PSBC) for the Production of Blended Cements. Cement and Concrete Research [online]. 1998, vol. 28, issue 2, s. 299-307 [cit. 2015-12-20]. DOI: 10.1016/S0008-8846(97)00258-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008884697002585>
6. SHENG, Guanghong, Qin LI a Jianping ZHAI. Investigation on the hydration of CFBC fly ash. Fuel [online]. 2012, vol. 98, s. 61-66 [cit. 2015-12-20]. DOI: 10.1016/j.fuel.2012.02.008. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016236112001317>
7. KRÁTKÝ, J. Chemické modifikující přísady používané v anorganických pojivových systémech. Brno, 2004. Pojednání k disertační práci. FCH VUT Brno.
8. ŠPAČEK, I. -- KOTOVICOVÁ, J. Recycling of plastic wastes from production of PVC roofing sheets. In MendelNet '09 Agro : proceedings of International Ph.D. students conference. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2009, ISBN 978-80-7375-352-8.
9. KALINA, M. Kompozitní materiály na bázi tuhých zbytků fluidního spalování. Brno, 2012. Bakalářská práce. FCH VUT Brno.

10. BETON SYSTEM S. R. O. BETON SYSTEM [online]. [cit. 2015-12-20]. Dostupné z: <http://www.betonsystem.cz/>
11. MÁŠILKO, Jiří. Rentgenová difrakční analýza na práškových vzorcích. In: CHEMPOINT [online]. 2011 [cit. 2015-04-13]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difrakcni-analyza-na-praskovych-vzorcich>

Poděkování

Rád bych zde poděkoval svému vedoucímu Ing. Tomáši Opravilovi, Ph.D. a pracovníkům Centra materiálového výzkumu a Ústavu chemie materiálů Fakulty chemické VUT v Brně. Tato práce byla podpořena projektem s názvem "Centrum materiálového výzkumu na FCH VUT v Brně - udržitelnost a rozvoj", r.č. LO1211, Národního programu udržitelnosti I (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy).

Tvarování hydroxyapatitu na mikro úrovni metodou freeze-casting pro přípravu kostních náhrad

*Lucie Pejchalová
Jakub Roleček, David Salamon*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,
Purkyňova 464/118 61200, Brno, Česká republika*

Vhledem k celosvětovému stárnutí populace, dochází k častější potřebě opravy pohybového aparátu. V některých případech je proto nutno přejít v konečné fázi k implantaci kostní náhrady. Nejčastěji je pro svoji biokompatibilitu a bioaktivitu využíván hydroxyapatit, který je v kostech přirozeně zastoupen.

Využití hydroxyapatitu jako materiálu pro kostní náhrady je omezeno mechanickou stabilitou v porézních systémech. Metoda, při které bylo dosaženo nejlepšího poměru mechanické stability a porozity, se nazývá freeze – casting. Tato metoda využívá tvorbu ledu (v případě vodných suspenzí) ke tvorbě lamelární struktury během kontrolovaného mražení. Dalším krokem je odstranění ledových krystalů lyofilizací. Následně je výsledná porézní lamelární struktura zpevněna slinutím. Změnou složení suspenze nebo podmínek mražení lze dosáhnout různé mezilamelární vzdálenosti, spojení lamel a porozity.

V této práci byly připraveny keramické suspenze v objemovém zastoupení hydroxyapatitu 7,5%, 10%, 15% a 20%, které byly použity při přípravě porézních kostních náhrad metodou freeze – casting. Během mražení byla do struktur implementována 3D mřížka, která posloužila jako šablona pro síť kanálků (v průměru cca 800 μm). Po lyofilizaci byly následným ohřevem odstraněny z materiálu organické látky, včetně 3D mřížky.

Výsledná biokeramická struktura dosáhla porozity víc než 90% a velmi dobrého poměru mechanické stability a porozity. Implementace 3D mřížky se ukázala být vhodnou metodou pro kontrolovanou tvorbu kanálků s dostatečným rozměrem, sloužící k zvýšení bioaktivity materiálu.

Klíčová slova: bio keramika, freeze-casting

Pressureless Sintering of Boron Carbide

V. Rákošová

L. Bača

*Department of Inorganic Materials, FCHPT STU,
Radlinského 9, 81239 Bratislava*

Boron carbide is an important non-metallic material, which has found an extensive application in various industries. Owing to its unique properties such as high hardness, wear resistance and low density, it became very useful in nuclear and armour industry. The current production techniques, such as hot pressing or spark plasma sintering, are used for sintering of simple shapes and are considered as expensive methods. Based on these reasons, there is a need for a cheaper and simpler process. One of the alternatives to gain as great densification as possible and therefore obtain excellent mechanical and physical properties is using method of pressureless sintering. Boron carbide reaches final density less than 90% and by itself is very hard to sinter, so the purpose of this study was to investigate the effect of graphite (used as a sintering aid) on densification, mechanical and physical properties. In conclusion, based on the literature and this research, next steps to improve pressureless sintering have been proposed.

Key words: pressureless sintering, boron carbide, carbon addition

Výroba metanolu z tuhého komunálneho odpadu

*Patrik Šuhaj
Juma Haydary*

*Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav chemického a environmetálneho inžinierstva
Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
suhajpato@gmail.com*

Tuhý komunálny odpad nemá vhodné vlastnosti na tepelné spracovanie a preto sa pristupuje k jeho úprave na tuhé alternatívne palivo. Splyňovaním tuhého alternatívneho paliva sa vyrába plyn, ktorý má potenciál byť použitý ako syntézny plyn na výrobu metanolu. V programe Aspen Plus sa nasimulovala prevádzka na spracovanie tuhého alternatívneho paliva s definovaným zložením a výhrevnosťou. Navrhnutá prevádzka sa skladala zo splyňovania s čistým kyslíkom, čistenia vyrobeného plynu, syntézy metanolu a separácie metanolu. Simuláciou sa zistili optimálne prevádzkové parametre pre splyňovanie ako je pomer hmotnostných tokov kyslíka k surovine a vodnej pary k surovine, tak aby sa syntézou vyrobil plyn bohatý na vodík a oxid uhoľnatý. Čistenie plynu prebiehalo v dvoch absorpčných kolónach, v prvej sa využíval na absorpciu roztok hydroxidu sodného a v druhej kolóne amínový vodný roztok monoetanolamínu. Pre druhú absorpčnú kolónu a reaktor na syntézu metanolu sa zistili optimálne prevádzkové parametre ako je tlak a teplota. Separácia metanolu prebiehala v dvoch rektifikačných kolónach, v prvej sa z kvapalného surového metanolu odseparovali plyny a v druhej kolóne sa odseparovali od metanolu kvapaliny. Pre obidve kolóny sa zistil optimálny počet teoretických etáží, refluxný pomer a poloha nástrekovej etáži. Simuláciou sa ukázalo, že pri spracovaní 15 t/h definovaného tuhého alternatívneho paliva je možné vyrobiť 9 t/h čistého metanolu. Optimalizovalo sa využitie všetkých tepelných prúdov a zistilo sa, že pri splyňovaní a syntéze metanolu sa nevygeneruje dosť vodnej pary na pokrytie spotreby. Chýbajúca para sa vyrábala spaľovaním zemného plynu a odpadov pochádzajúcich z čistenia plynu a separácie metanolu.

Kľúčová slova: tuhý komunálny odpad, splyňovanie, syntézny plyn, metanol, Aspen Plus

Vliv strukturních a procesních parametrů na vlastnosti polymerních nanokompozitů

*Bc. Klára Zárybnická
prof. RNDr. Josef Jančář, CSc.*

*Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav materiálů.
xczarybnicka@fch.vut.cz*

Polymerní nanokompozity mohou dosahovat výrazně vyšší tuhosti, pevnosti či termické stability při velmi malém obsahu nanoplniva v porovnání s plasty plněnými tradičním plnivem o rozměrech v řádu mikrometrů. Cílem práce je studium strukturních a procesních parametrů, které řídí disperzi nanočástic v roztocích polymerů, aby bylo možno reprodukovatě připravovat polymerní nanokompozity s požadovaným prostorovým uspořádáním nanočástic. Je řešen především vliv různých komponent jako je polymerní matrice, nanočástice a rozpouštědla, ve kterých dochází k mísení matrice a nanočástic. Použité komponenty mají vliv na rozdispergování částic a tím jsou ovlivněny i vlastnosti materiálu jako je např. teplota skelného přechodu nebo tuhost materiálu. Většina dnes používaných inženýrských materiálů byla vyvinuta s přímým řízením struktury v rozměrech mikronů. Proto lze tvrdit, že nanotechnologie otevírají širokou škálu možností, jak ovlivňovat uspořádání materiálu na úrovni dříve nedosažitelných rozměrů. Možnost kontrolovat samouspořádávání nanočástic by mohla být cestou k syntéze biomimetických materiálů. Jako příklad lze uvést systémy, ve kterých jsou obsaženy sférické nanočástice hydroxylapatitu – zubní sklovina nebo napodobeniny kosti. Kontrola uspořádávání nanočástic je tedy unikátní možnost ke konstruování systémů inspirovaných přírodou.

Klíčová slova: nanokompozity, samouspořádávání, termo-mechanické vlastnosti.

*Sekce studentů doktorských
studijních programů*

Tématický okruh organická, environmentální a biochemie

Förster Resonance Energy Transfer in Cationic Micelles Using Perylene- Fluorescein as Donor-Acceptor System

Zuzana Adamcová
Filip Mravec, Miloslav Pekař

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech republic
xcadamcovaz@fch.vut.cz

1 Introduction

Förster resonance energy transfer is form of short-distance interaction between the electronic excited states of two molecules with convenient properties¹. One of them acts as donor of energy, which is transferred without emission of a photon to an acceptor molecule, that may further emit fluorescence, or dissipate the received energy by any other way (so called dark quenchers)². There are three basic conditions, that have to be met to observe FRET. At first, fluorescence spectrum of the donor must overlap sufficiently the absorption spectrum of the acceptor. Secondly, energy transfer takes place only when donor and acceptor are in close proximity defined by so called Förster distance, which is distance specific for specific FRET pair, with energy transfer effectivity of 50 %. Thirdly, donor and acceptor transition dipole moments have to be approximately parallel. Förster distance can be calculated from spectral overlap of donor fluorescence spectrum I_D , acceptor absorption spectrum ε_A , quantum yield of the donor molecule Φ_D , dipole orientation factor κ and refractive index n . Typical values are in range 1 – 10 nm³.

$$R_0 = 0,2108 \left[\kappa^2 \Phi_D n^{-4} \int_0^{\infty} I_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \right]^{1/6} \quad (1)$$

The efficiency of FRET is dependent on the inverse sixth power of the intermolecular separation:

$$E = \frac{1}{1 + \left(\frac{r}{R_0} \right)^6} \quad (2)$$

In the field of colloid chemistry FRET can be used to determine distances between donor and acceptor molecule (assuming they are similar to Förster distance), which are attached to the studied system in appropriate manner.

2 Experimental

To study Förster resonance energy transfer in different micellar systems three different cationic surfactants – tetradecyltrimethylammonium bromide (TTAB, Fluka), carbethopendecinium bromide (Septonex, GBNchem) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB, Fluka) – were used. Samples were prepared in water simply by dissolving appropriate amount of the surfactant to obtain concentration 5×10^{-3} M, which is above the critical micellar concentration of all these surfactants. All samples contained 1×10^{-5} M of perylene (Fluka), which was solubilized in the surfactant solutions overnight from acetone stock solution evaporated on the bottom of the vial. After proper solubilization, different amounts of fluorescein disodium salt (Sigma Aldrich) were added to the samples. Methanolic stock solution of fluorescein was used and adequate amount was evaporated on the bottom of the vial and dissolved in perylene-surfactant system to obtain final concentration range from 5×10^{-6} M to 1×10^{-4} M. Fixed concentration of perylene and increasing amount of fluorescein give ratios Per:Fl from 1:0.5 to 1:10.

To describe FRET in studied system, lifetime of donor (perylene) without presence of acceptor versus lifetime of donor quenched by the acceptor in close proximity, were compared. For time-resolved fluorescence measurement (TCSPC technique), confocal fluorescence microscope MicroTime 200 (PicoQuant, Germany) was used. As excitation light 375 nm laser was utilized, and directed towards the sample by dichroic mirror (reflection at 375 nm). Fluorescence signal was gathered by two single photon avalanche photodiodes. One of them worked as donor channel, which was achieved by using 440/40 nm emission filter, the second one detected the increasing acceptor fluorescence – 520/35 nm filter was used in this case. Donor and quenched donor lifetimes and their relative amplitudes were calculated in SymPhoTime software from measured data.

For comparison of the obtained distances (representing size of studies micelles), measuring of diffusion coefficients of micelles labeled with perylene was performed using fluorescence correlation spectroscopy. Perylene concentration in samples used for FCS was lowered to 1 nM. Following experimental setup was used: laser 405 nm excitation source, 405/467 nm dichroic mirror, 440/40 emission filter.

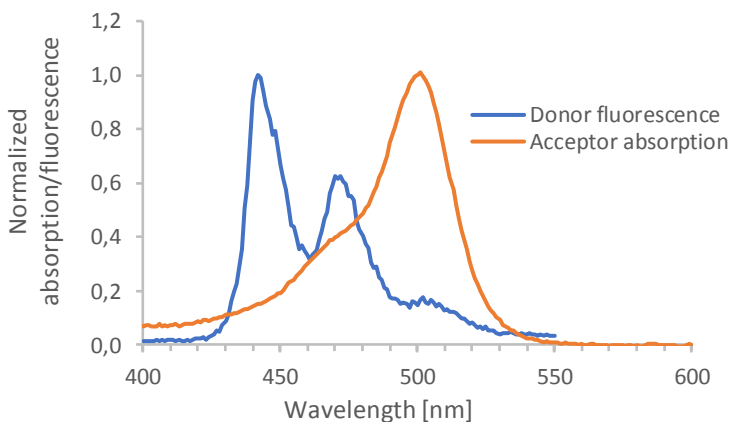


Figure 1: Spectral overlap of perylene fluorescence spectrum with fluorescein absorption spectrum.

Förster distance was calculated using Equation (1) on the basis of perylene fluorescence spectrum measured in micellar solution of particular surfactant and fluorescein absorption spectrum measured in the same micellar solution (example for TTAB in Figure 1). Fluorescence quantum yield of perylene in surfactant solution was compared to know value of perylene ν hexane (0,93) and found to be practically the same. Value of acceptor extinction coefficient was $75\,000\text{ dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ a factor κ was considered $2/3$ (randomly orientated donor and acceptor). There were minimal differences between Förster distance in systems containing three different surfactants – the values were 5,165 nm in TTAB; 5,156 nm in Septonex and 5,185 nm in CTAB solution.

2.1 Results of FRET measurements

Fluorescence lifetime of perylene as donor molecule was measured in six samples containing increasing amount of fluorescein acting as an FRET acceptor. Obtained time-resolved fluorescence spectra showed decrease of fluorescence lifetime of fraction of perylene molecules. This fraction was more pronounced with increasing amount of fluorescein in the sample. Example of such dependence can be seen in Figure 2.

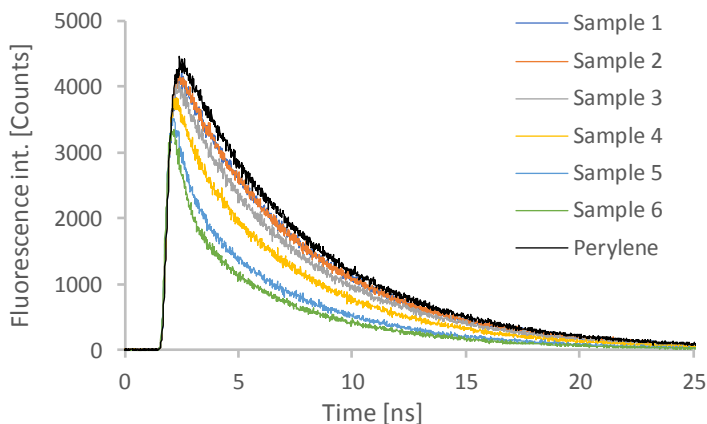


Figure 2: Quenching of perylene fluorescence with increasing amount of fluorescein in TTAB micellar solution

Two parameters were compared – effectivity of the energy transfer, which depends on decrease of donor lifetime in presence of acceptor in close proximity to the donor molecule and binding, which describes percentage of FRET pairs (ratio of perylene molecules undergoing FRET vs. complete amount of perylene molecules in the system) based on comparing relative amplitudes of donor and quenched-donor lifetimes. Effectivity of FRET is in direct relation to the distance between donor and acceptor. With increasing amount of fluorescein in the system, increase of the effectivity of energy transfer was observed as there were more and more fluorescein molecules in the system which caused interactions between perylene and fluorescein on the shortest possible distance in particular micellar system. As certain perylene-fluorescein ratio was reached, the effectivity didn't increase anymore. On the other hand, binding increased sample from

sample with growing fluorescein concentration. Efficiency of energy transfer was observed to be the same for samples 5 and 6 in each micellar system (Figure 3). Distance calculated from these measurements was considered as the smallest possible distance between perylene located inside the hydrophobic core of the micelle and fluorescein situated in the hydrophobic outer part, and was associated with radius of the micelle.

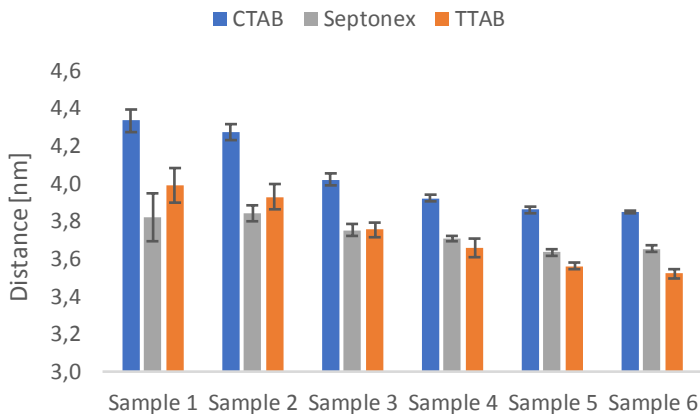


Figure 3: Calculated distance of the FRET pair perylene-fluorescein in different cationic surfactants. Concentration of fluorescein in samples varied as follows: Sample 1 – 5 μM ; Sample 2 – 8 μM ; Sample 3 – 20 μM ; Sample 4 – 50 μM , Sample 5 – 80 μM , Sample 6 – 100 μM . Concentration of perylene was kept constant – 10 μM .

2.2 Results of FCS measurements

To compare results obtained from FRET measurements, fluorescence correlation spectroscopy was used to measure diffusion coefficients of all micellar system with perylene solubilized inside. The principle of FCS measurement is detection of fluorescence intensity fluctuations which are caused by moving fluorescent species in and out of confocal volume created in the sample by focused laser beam⁴. After recalculating obtain diffusion coefficients using Stokes-Einstein equation, micelle radii were determined (results are summed up in Table 1).

There are larger differences in determined radii using FCS for individual micellar systems. It is possible, that perylene is not solubilized exactly in the center of the micelle, or fills most of the hydrophobic core volume, which makes only small differences for surfactants with slightly varying hydrophobic chain lengths (C_{14} to C_{16}) in case of FRET determination.

Table 1: Comparison of micellar radii obtained by two different methods

Surfactant	Radius FRET [nm]	Radius FCS [nm]
CTAB	3,71 \pm 0,01	4,56 \pm 0,07
Septonex	3,64 \pm 0,01	3,42 \pm 0,01
TTAB	3,54 \pm 0,03	3,16 \pm 0,01

4 Conclusion

Measuring occurrence of Förster resonance energy transfer in micellar systems of three different cationic surfactants in order to determine radius of micelles showed ability of this method to describe dependency of the donor-acceptor distance on the length of hydrophobic chain of the micelle. To confirm this result, FCS diffraction measurement was performed to obtain radii of studied micelles. Using this method differences between surfactants of different hydrophobic chain length on micelle radius seemed more pronounced. This variance might be caused by way of perylene solubilization in the hydrophobic core of micelle, which might not be very different for examined surfactants.

In general, although, obtained result are in good agreement – in both experiment the radius of the micelle decreased with decreasing number of carbon atom in the hydrophobic chain of the surfactant.

5 References

1. JOHNSON, Ian. *The Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies* [online]. 11. Life Technologies Corporation, 2010 [cit. 2017-03-08]. ISBN 0982927916. Available at: <https://www.thermofisher.com/>
2. HOLZMEISTER, Phil, Bettina WÜNSCH, Andreas GIETL and Philip TINNEFELD. Single-molecule photophysics of dark quenchers as non-fluorescent FRET acceptors. *Photochem Photobiol Sci* [online]. 20+3n. 1., **13**(6), 853- 858 [cit. 2017-03-09]. DOI: 10.1039/c3pp50274k. ISBN 10.1039/C3PP50274K. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3PP50274K>
3. WU, P.G. and L. BRAND. Resonance Energy Transfer: Methods and Applications. *Analytical Biochemistry* [online]. 1994, **218**(1), 1-13 [cit. 2017-03-09]. DOI: 10.1006/abio.1994.1134. ISBN 10.1006/abio.1994.1134. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269784711341>
4. RIES, Jonas and Petra SCHWILLE. Fluorescence correlation spectroscopy. *BioEssays* [online]. 2012, **34**(5), 361 - 368 [cit. 2017-03-09]. DOI: 10.1002/bies.201100111. ISBN 10.1002/bies.201100111. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/bies.201100111>

Acknowledgement: This work was supported by Materials Research Centre at FCH BUT- Sustainability and Development, REG LO1211, with financial support from National Programme for Sustainability I (Ministry of Education, Youth and Sports).

Preparation and characterization of liposomes as cosmetic delivery systems

Jitka Bokrová

Petra Matoušková, Kamila Tilšarová, Ivana Márová

Materials Research Centre, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
xbokrova@fch.vutbr.cz

1 Introduction

1.1 Natural antioxidants in cosmetics

Many current cosmetics contain antioxidants as their active ingredients. Oxidation reactions are known for their ability to produce free radicals, which can start reactions that will damage skin cells. Presence of free radicals in the skin could initiate the wrinkling, photoaging, elastosis, drying and pigmentation of the skin. Topical antioxidants could terminate the chain reactions by inactivating the free radicals intermediates and inhibit other oxidation reactions by being oxidized themselves. This could represent the protection of a skin against the environmental stress caused by free radicals¹.

Plants produce natural antioxidant compounds that could control the oxidative stress caused by sunlight and oxygen. A number of commercial cosmetic products have various combinations of plant extracts. The formulations contain natural antioxidants, that is, polyphenols, flavonoids, flavanols, stilbens and terpenes. The choice of the right active plant extracts, the confirmation of their activity and their stability are the important factors for the formulation of an effective product¹.

1.2 Encapsulation

Research on and the application of polyphenols, have recently attracted great interest in pharmaceutical industry, due to their potential health benefits to humans. However, the effectiveness of polyphenols depends on preserving their stability, bioactivity and bioavailability².

Encapsulation is a process of entrapping active agent into a carrier material. A number of cosmetic products contain biologically active substances that require encapsulation for increased stability of the active material. The topical delivery of active ingredients requires effective, controlled and safe means of reaching the target site within the skin. Preservation of bioactive compounds is also essential during formulation, storage and application of the final personal care product. Encapsulation offers an ideal carrier system for cosmetic active ingredients, as it matches to all these requirements. The selection of the encapsulation technique and carrier material depends on the final application of the formulation, considering physical and chemical stability, concentration, required particle size, release mechanism and manufacturing costs³.

1.3 Safety assessment of nanomaterial induced DNA damage

The dramatic expansion in the nanotechnology industry over the last years has resulted in the development of a countless of novel materials specifically in the nano-size scale. Thus, the need to define a risk management strategy for these new products is highly debated topic. An important aspect of hazard identification includes the potential for a novel agent to induce genotoxicity, as a damage of the genetic material. The mechanisms of nanomaterial induced genotoxicity fall into two main categories. Primary mechanisms are those transmitted by the nanomaterials themselves at the level of the single-cell and may be either the result of direct or indirect interaction between the nanomaterial and DNA. The secondary mechanism for genotoxicity is related to the ability of a nanomaterial to induce a (chronic) inflammatory response *in vivo*. This results in excessive generation of ROS by macrophage and neutrophil cells recruited to the exposure site as a defence mechanism. Due to the range of mechanisms leading to nanomaterial induced DNA damage and the variety of mutagenic events that may occur as a result, a battery of testing systems is required to establish the genotoxic potential of a substance⁴.

1.4 SOS Chromotest

Bacteria are commonly used as model organisms in test systems for genetic toxins. They enable understanding of the basic mechanisms of genotoxicity and of its consequences. Bacteria possess elaborate mechanisms to respond to DNA-damaging agents. In *Escherichia coli* some of the responses induced by genetic toxins involve a number of functions known as the SOS responses⁵. EBPI SOS Chromotest™ employs a mutant PQ37 strain of *E. coli* in which the SOS gene complex repair promoter region of the genome that is responsible for activating the SOS genes has been linked to the β gal gene responsible for the production of the β -galactosidase enzyme. The degree to which the cell is trying to repair its DNA damage using the SOS gene

repair complex is directly linked to the production of β -galactosidase which is measured by the enzyme's reaction with a blue chromogen⁶.

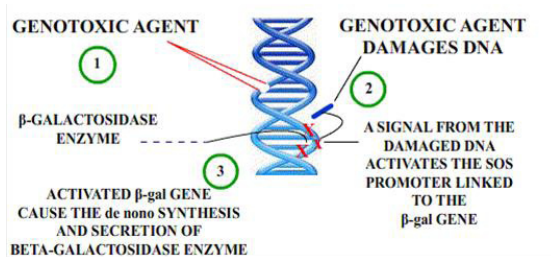


Figure 1 Cellular events in SOS bacteria when exposed to a genotoxic agent⁶

2 Experimental

2.1 Methods

Water extracts of lavender, clove, rosemary, elderberry, sage and cinnamon were prepared and the concentration of phenolics as well as antioxidant capacity were evaluated. Extracts were packed into liposome particles using ultrasonic homogenization. Liposomes were prepared from mixture of egg lecithin and cholesterol. For sterile filtration of liposome suspensions 0.2mm filter membrane was used. Concentration of phospholipids was obtained spectrophotometrically.

The efficiency of encapsulation was determined by spectrophotometry. The physicochemical evaluation of particles (size and zeta potential) was analyzed by dynamic light scattering.

For analysis of genotoxic effects of extracts and particles SOS Chromotest was used. Whole test was performed using commercial kit EBPI SOS ChromotestTM. Bacteria strain *E.Coli* PQ 37 were inoculated into kit nutrient medium and incubated overnight at 37 °C. Afterwards, cells were diluted with fresh medium to an absorbance of 0.08 at 630nm. Fractions (100 μ l) were distributed into wells containing 10 μ l of the compound to be tested. After 2 hours incubation at 37 °C and adding colored reaction solutions, enzyme activity was evaluated spectrophotometrically.

2.2 Results and discussion

In plant extracts prepared from dried lavender, rosemary, elderberry, sage and solid clove and cinnamon the total amount of phenolics, flavonoids and antioxidant capacity was detected.

Table 1 Characterization of water extract of plants

plant extract	phenolics	flavonoids	antioxidant capacity
	concentration [mg/g of plant]		TEAC [mg/ml]
lavender	33.04±0.00	3.35±0.00	0.212±0.037
rosemary	47.34±0.03	9.36±0.01	0.228±0.017
elderberry	53.12±0.04	36.89±0.01	0.238±0.006
sage	19.25±0.02	8.28±0.01	0.168±0.005
clove	175.91±0.01	18.13±0.00	0.534±0.001
cinnamon	6.88±0.00	1.37±0.02	0.053±0.007

In Fig. 2 the comparison of encapsulation efficacies of individual plant extracts were compared.

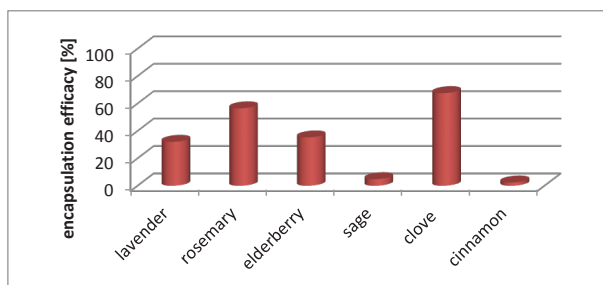


Figure 2 Encapsulation efficiency in individual liposomes measured as % of released phenolics

The size and stability of prepared particles was analyzed by dynamic light scattering. The average liposome size was found in range of 138 – 184 nm. The values of zeta potential were used for characterization of particle stability. As the stable particles with zeta potential lower than -30mV and higher than +30mV can be considered. All plant extract-loaded liposome were found as stable.

Table 2 Size and stability of particles – average values based on DLS measurement

plant extract	liposomes	
	average size [nm]	zeta potential [mV]
lavender	138.25	-35.15
rosemary	148.35	-34.95
elderberry	163.25	-41.05
sage	173.20	-48.90
clove	183.80	-38.85
cinnamon	169.75	-45.55
empty particles	144.95	-47.15

Genotoxic effects of various concentrations of plant extracts and extract-loaded liposomes were analyzed by commercial SOS Chromotest kit. Specific activity of β -galactosidase was obtained spectrophotometrically after 2 hours incubation with tested compounds. Genotoxic potency of samples was expressed as the induction factor IF. IF was calculated as a proportion of β -galactosidase specific activity of a sample and negative control. IF value of 1.5 can be considered as a critical threshold for labelling substance as genotoxic [5]. It was found, that neither extracts nor particles show any genotoxic effect.

Table 3 SOS induction factors of plant extracts

plant extract	dilution	concentration of phenolics [mg/ml]	IF	plant extract	dilution	concentration of phenolics [mg/ml]	IF
lavender	0	6.61	1.49	sage	0	3.85	0.76
	2	3.30	1.06		2	1.93	0.68
	5	1.32	0.85		5	0.77	0.71
	10	0.66	0.79		10	0.39	0.72
rosemary	0	9.47	1.01	clove	0	35.18	0.58
	2	4.73	1.00		2	17.59	0.78
	5	1.89	0.77		5	7.04	0.60
	10	0.95	1.03		10	3.52	0.82
elderberry	0	10.62	0.90	cinnamon	0	1.38	0.62
	2	5.31	0.92		2	0.69	0.52
	5	2.12	0.84		5	0.28	0.66
	10	1.06	0.97		10	0.14	0.83

Table 4 SOS induction factors of extract-loaded liposomes

extract-loaded liposomes	dilution	concentration of encapsulated phenolics [mg/ml]	concentration of phospholipids [mg/ml]	IF
empty	0	0.000	2.451	0.97
	2	0.000	1.226	0.99
	5	0.000	0.490	0.99
	10	0.000	0.245	1.06
lavender	0	0.106	0.664	0.91
	2	0.053	0.332	0.80
	5	0.021	0.133	0.87
	10	0.011	0.066	0.53
rosemary	0	0.257	0.491	0.27
	2	0.134	0.246	0.46
	5	0.053	0.098	0.71
	10	0.027	0.049	0.55
elderberry	0	0.187	0.940	0.96
	2	0.094	0.470	0.87
	5	0.037	0.188	0.95
	10	0.019	0.094	0.96
sage	0	0.009	0.672	0.53
	2	0.005	0.336	0.62
	5	0.002	0.134	0.88
	10	0.001	0.167	0.69
clove	0	1.189	0.721	0.82
	2	0.594	0.360	0.83
	5	0.238	0.144	0.94
	10	0.119	0.072	0.99
cinnamon	0	0.016	0.780	0.88
	2	0.008	0.390	0.92
	5	0.003	0.156	1.00
	10	0.002	0.078	1.01

3 Conclusion

Cosmetic formulations with active phenolic compounds can contribute to the protection of a skin against the stress caused by free radicals. Encapsulation of active agents into nanoparticles could enhance the effectiveness of these formulations. Nevertheless, assessment of potential genotoxic or cytotoxic effects of these preparations is necessary.

4 References

1. KUSUMAWATI, I., INDRAYANTO, G. Natural Antioxidants in Cosmetics. *Studies in Natural Products Chemistry*, 2013, vol. 40, pp. 485-505.
2. FANG, Z., BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, vol. 21, no. 10, pp. 510-523.
3. CASANOVA, F., SANTOS, L. Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application – a review. *Journal of microencapsulation*, 2016, vol. 33, no. 1, pp. 1-17.
4. DOAK, S.H., MANSHIAN, B., JENKINS, G.J.S., SINGH, N. In vitro genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2012, vol. 745, no. 1-2, pp. 104-111.
5. QUILLARDET, P., HUISMAN, O., D'ARI, R., HOFNUNG., M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1982, vol. 79, pp. 5971-5975.
6. *EBPI - SOS Chromotest: A users guide*. 2011.

Acknowledgements: This work has been supported by “Materials Research Centre - Sustainability and Development” Nr. LO1212, of the Ministry of Education, Youth and Sports.

Determination of Lipid Membrane Properties and Influence of Cholesterol

*Jana Burdíkoviá
Leoš Doskočil, Miloslav Pekař*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied
Chemistry
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
xcszewieczkovaj@fch.vutbr.cz*

Membrane properties such as a fluidity and degree of a lipid chain order are the key variables in design of new liposomal drug delivery systems. Hence, the lipid order parameter and phase transition temperature of mixed lipid system were studied by means of steady-state fluorescence spectroscopy.

The phase transition temperature was obtained by analyzing of laurdan emission spectra at different temperatures. Laurdan molecule is solubilized in the acyl chain region of the membrane. The shape of the laurdan emission spectra depends on the presence of water molecules in the vicinity of the naphthalene moiety. The red shift in laurdan emission spectra indicates the increased concentration of water in the bilayer and its increased mobility.

The increase of the phase transition temperature was observed in case of all studied cationic lipid/phospholipid mixtures.

The degree of a lipid acyl chain order in liposomes and the membrane fluidity were studied by means of fluorescence anisotropy, which measures depolarization of fluorophores excited by polarized light, where the depolarization depends on the membrane fluidity. Diphenylhexatriene is a suitable fluorescence probe for the anisotropy measurements.

The increase of lipid order was observed with increasing ratio of phospholipid in the lipid mixture.

By mixing of biocompatible zwitterionic phospholipid with cationic lipid we get composite structures with tailored mechanical properties which could be utilized in drug delivery systems. Moreover, interactions with a polyelectrolyte could be controlled by cationic lipid/phospholipid ratio.

The inclusion of cholesterol molecule in the acyl chain region has different effect on the membrane fluidity depending on acyl chain saturation and degree of order in the headgroup area (ratio of cationic lipid/phospholipid).

Keywords: lipid, membrane, liposome, fluorescence spectroscopy, laurdan, diphenylhexatriene

Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under various stress conditions

Ing. Dana Byrtusová
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc., Ing. Radka Kočí, Ph.D.

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Chemistry and Biotechnology
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
xcbyrtusova@fch.vutbr.cz

The green microalgae strain *Haematococcus pluvialis* is the best producer of astaxanthin, the red pigment, which is known for antioxidant activity that is higher than other carotenoids and vitamin E. Astaxanthin is localized in the thick-walled cysts, which are produced under unfavorable environmental conditions. The present study was aimed to investigate the effect of different stress factors on astaxanthin production.

The growth characterization was performed by optical density at 680 nm and 720 nm in Photobioreactor FMT 150 under optimal growth conditions: cultivation media BG11, white light of intensity $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $22 \text{ }^\circ\text{C}$, aeration with the air enriched by 2 % of CO_2 . During cultivation the cell growth phases and number of cells were observed by optical microscope. Photochemical quantum yield was monitored by pocket size instrument AquaPen (PSI). In the last part of work, the influence of selected stress effects on astaxanthin production was studied. Followed stress factors were used: high intensity of light ($1\ 000 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), low nitrogen concentration (2.2 mM) and combined addition of sodium chloride and sodium acetate (0.5% NaCl, 2 mMNaAc).

The best yield of astaxanthin was obtained under strong illumination. Oppositely, minimal production was showed in presence of salt stress.

Keywords: astaxanthin, *Haematococcuspluvialis*, stressconditions

Acknowledgements: This work was supported by the project „Materials Research Centre – Sustainability and Development“ Nr. LO1211 of the MSMT.

Development of a Micro Method for DNA Isolation Using Magnetic Nanoparticles

Ing. Lenka Fialová
doc. RNDr. Alena Španová, CSc.
doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.
RNDr. Aleš Kovařík, CSc².

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science and Biotechnology
Purkyňova 464/118, 612 00, Brno, Czech Republic
xfialoval@fch.vutbr.cz

DNA-based methods are an important part in the detection of food adulteration. These methods require highly purified DNA allowing enzymatic treatments. However, the quality of DNA isolated from food products is often low due to phenolic and polysaccharide contaminants.

The aim of this work was to develop a micro method for isolation of DNA from plant-based food products. The ultimate goal was an optimized protocol which would provide DNA suitable for application in molecular diagnostics. Samples of DNA from different jams, in particular red currant, chokeberry and peach jam, were isolated using magnetic nanoparticles. The jam samples were processed by a modified cetylammmonium bromide (CTAB) method (treatment with CTAB-containing buffer, chloroform and isopropanol). After the separation of polyphenolic and polysaccharide CTAB complexes partially purified DNA was bound to magnetic nanoparticles covered by poly(L-lysine). Two different methods of DNA isolation were compared: a separation based on condensation of DNA and its adsorption on the surface of magnetic particles and the separation of DNA from the sample by electrostatic forces. The quality of isolated DNA was determined by UV spectrophotometry. The spectrophotometric determination showed a contamination of the samples by various compounds. Some DNA samples were successfully amplified using conventional PCR. The experiments mentioned above will be continued and the optimization of the method is in progress.

Keywords: DNA isolation, magnetic nanoparticles, PCR

Use of terrestrial gastropods in the ecotoxicological research

Mgr. Pavel Fojt
MVDr. Helena Zlámalová Gargošová PhD.

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Purkyňova 118, 612 00 Brno,
Czech Republic*

The main aim of this work is to present the possibility of using a cosmopolitan terrestrial organism and its two different life stages for evaluation of the possible effect of environmental contaminants. The organism used in this study is a pulmonate gastropod *Helix aspersa aspersa* (syn. *Cantareus aspersus* or *Cornu aspersum*), or the brown garden snail in common. For this study, we selected two different life stages of this snail: eggs and juvenile individuals. The assessed substance was cadmium chloride (CdCl_2). There were three main parts of the study: standard growth inhibition test with juvenile snails, hatching success test with the eggs and embryotoxicity test. In the first case, the juvenile snails were exposed to different concentrations of cadmium (0 – 500 mg/l) and the toxicant was spiked onto a filter paper on the bottom of the breeding boxes. This test lasted for 28 days and the monitored endpoints were: mass and shell diameter. Second part of study - exposition of eggs was performed in small Petri dishes with a filter paper on the bottom and the concentrations of cadmium were the same as in the first case. The exposure of the eggs lasted for 14 days and the percentage of successfully hatched snails was evaluated. In the last case, we observed the effect of cadmium in a low concentration (6mg/l) on the embryos in different time periods from the start of the test. This test lasted also for 14 days and the endpoints were: size and state of the embryo, morphological and physiological changes.

The results showed significant differences between the sensitivity of eggs and juvenile snails and also negative effects of cadmium chloride on the development of the snail embryos. The present study summarizes a scale of different endpoints, which could help for better understanding the effects of toxicants on the environment.

Time-resolved Fluorescence of Prodan in Micellar Solution of Cetyltrimethylammonium Bromide

Petra Holínková
Miloslav Pekař

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno
xcucekajova@fch.vutbr.cz

1 Introduction

6-propionyl-1,2-(*N,N*-dimethylamino)naphthalene (Prodan) is highly fluorescent molecule, which has been used extensively as a fluorescent probe in the studies of physically-chemists biological systems, cells membranes, models membranes and micellar systems¹⁻⁶. Its absorption and emission spectra are strongly dependent on polarity of its environment. For example, the maximum of Prodan emission in nonpolar cyclohexane is around 400 nm and undergoes a dramatic red shift to 530 nm in water⁷. Such environmental sensitivity of Prodan fluorescence is mainly attributed to a large difference between the dipole moments in its ground and excited states, resulting in pronounced solvent dipolar relaxation around the excited molecule of fluorophore.

The excited molecules of Prodan can exist in two different forms – the first one, the locally-excited state (LE), from which molecules of Prodan can switch to lower-energy intramolecular charged transfer state (ICT) due to strong interaction with molecules of solvent⁸. In nonpolar environments Prodan emits from LE state, while in polar environments the emission is from ICT state.

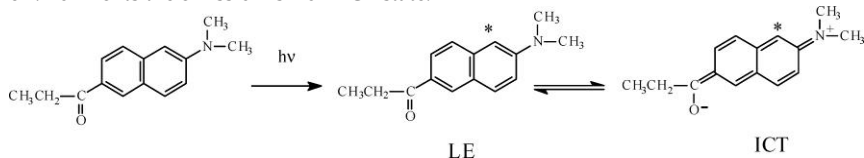


Figure 1: Local excited (LE) and intramolecular charge transfer (ICT) structure of prodan⁸.

In this paper, we report study of Prodan fluorescence behaviour in cationic micellar solution of cetyltrimethylammonium bromide. Deconvolution of the overall Prodan fluorescence emission spectrum enables an interpretation of location of prodan molecules within discrete microdomains of different relative polarities.

2 Experimental

2.1 Materials, preparation of samples

Cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) of the best available purity was purchased from Sigma-Aldrich and used as received. Stock solution of CTAB in water was prepared in concentration 2 mmol l^{-1} . Fluorescence probe Prodan (Fluka) was also used without further purification. Stock solution of this probe was prepared in acetone in concentration $2 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$.

At first, the stock solution of prodan was added to the glass vials and then the acetone was evaporated. The final concentration of this probe in samples was $1 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$. Then, the solution of CTAB was added. The sample was left on a shaker for 24 hours at room temperature before time-resolved fluorescence measurement.

2.3 Methods and instrumentation

Fluorescence measurements were performed with the time-correlated single photon counting (TCSPC) technique (Spectrofluorometer Fluorocube, Horiba Scientific). The samples were excited by the NanoLED diode 372 nm with pulse width 1.1 ns. To construct the time-resolved emission spectra (TRES), a steady-state spectrum were measured and the series of fluorescence decays were collected from 410 to 610 nm at 5 nm intervals. The lifetime was measured at orientation of polarizers in magic angle and peak preset was set to 10 000 counts. Temperature of the sample chamber was set on 25 °C.

Acquired lifetimes component and their pre-exponential factors (showing their contribution to the measured fluorescence) were used for construction of TRES. Steady-state fluorescence spectrum was deconvoluted to corresponding different forms of Prodan and their relative intensities.

3 Results and discussion

As you can see in Figure 1, the fluorescence signature of Prodan in CTAB micelles is a composite spectrum with contribution from the probe population within various microdomains of this micellar aggregates. Three forms of Prodan with different lifetimes and maximums of emission were discovered.

The first form of Prodan with the shortest lifetime $\tau_1 = (0.25 \pm 0.8) \text{ ns}$ shows emission between 410 and 470 nm. These fluorescence parameters should correspond to Prodan molecules in LE state in nonpolar solution, so this molecules of Prodan are probably solubilized in hydrophobic core of CTAB micelles. Next emission component has the lifetime $\tau_2 = (0.81 \pm 0.9) \text{ ns}$ and shows fluorescence between 410 and 530 nm with emission maximum at 475 nm. Red shift of emission and higher lifetime indicate higher polarity of Prodan surrounding. This species should emit also from LE state, which is correspond with Prodan molecules located in palisade layer of aggregates probably. The component with longest lifetime $\tau_3 = (2.82 \pm 0.05) \text{ ns}$ should appropriate to Prodan molecule located on the surface of aggregates. Their emission from ICT state is shifted to red side of spectrum with maximum about 495 nm due to higher polarity of their surroundings.

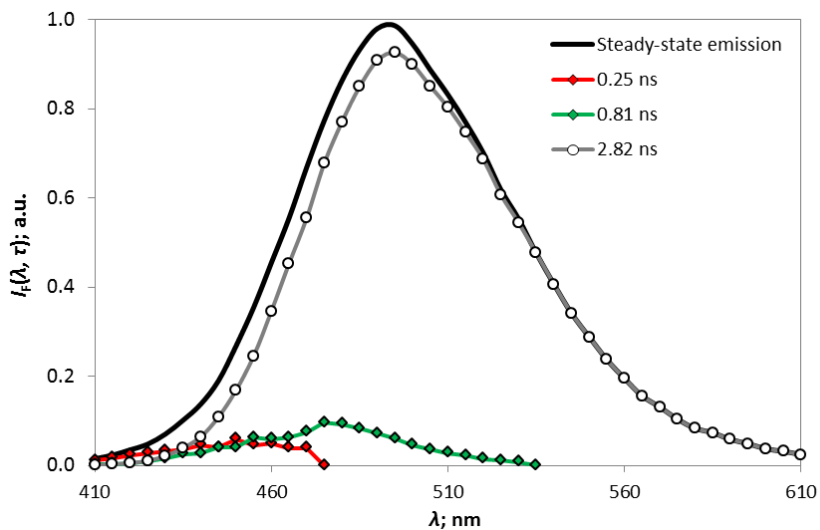


Figure 1: Deconvolution of steady-state fluorescence spectra of Prodan in CTAB micellar solution to three components with lifetimes $\tau_1 = 0.25$ ns $\tau_2 = 0.81$ ns and $\tau_3 = 2.82$ ns.

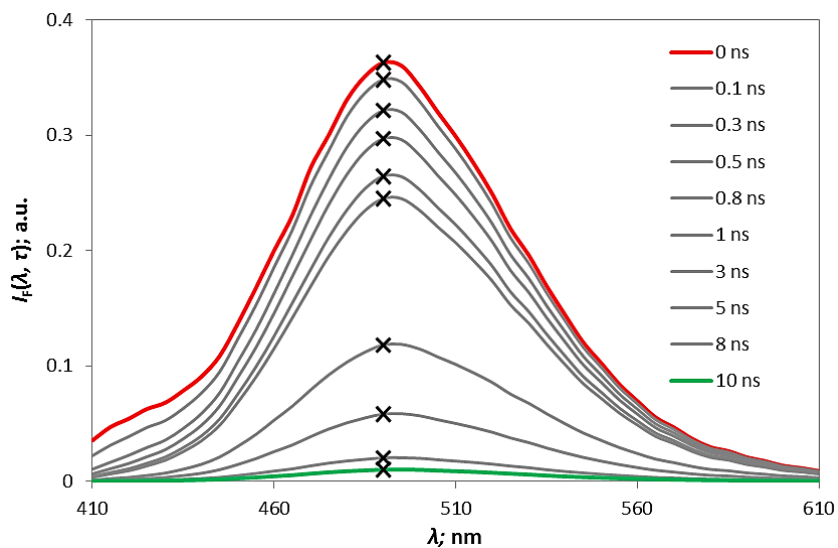


Figure 2: Time-resolved emission spectra of Prodan in CTAB micellar solution. $\lambda_{max} = 495$ nm.

Figure 2 shows as TRES of Prodan molecules in CTAB micellar solution. In shortest time after excitation, emission has two local maximums, the first one is around 425 nm and the second one is at 495 nm. With increasing time after excitation maximum around 425 nm disappears and in longer time after excitation TRES has only one peak at 495 nm. This fact contributes with two forms of Prodan located in hydrophobic core and palisade layer of micelles, which emit only in the blue side of spectrum and their short lifetimes. In longer time after excitation, we can see fluorescence of Prodan molecules located on micellar surface only. Thus obtained TRES corresponds to deconvolution of emission spectra.

4 Conclusions

In this work, we investigate the fluorescence behaviour of the molecular probe Prodan in cationic micellar solution of CTAB using steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopies. The results show the existence of three different forms of Prodan, which are located in different parts of cationic micelles. The first species with the shortest lifetime with fluorescence maximum about 435 nm probably correspond to molecules of Prodan solubilized in hydrophobic core region. The second form of Prodan with maximum of emission about 475 nm should coincide to molecules localized in palisade layer of aggregates. Most reflected form of Prodan with the longest lifetime and emission in the red side of spectrum should probably locate on the micellar surface.

5 References

1. MACGREGOR, Robert B. a Gregorio WEBER. Estimation of the polarity of the protein interior by optical spectroscopy. *Nature*. 1986, 319(6048), 70-73. DOI: 10.1038/319070a0. ISSN 0028-0836.
2. PARASASSI, Tiziana, Ewa K. KRASNOWSKA, Luis BAGATOLLI a Enrico GRATTON. Laurdan and prodan as polarity-sensitive fluorescent membrane probes. *Journal of Fluorescence*. 1998, 8(4), 365-373. DOI: 10.1023/A:1020528716621. ISSN 10530509.
3. HUTTERER, Rudi, Andreas B. J. PARUSEL a Martin HOF. Solvent relaxation of prodan and patman: a useful tool for the determination of polarity and rigidity changes in membranes. *Journal of Fluorescence*. 1998, 8(4), 389-393. DOI: 10.1023/A:1020532817530. ISSN 10530509.
4. SENGUPTA, Bidisa, Jayanti GUHARAY a Pradeep K SENGUPTA. Characterization of the fluorescence emission properties of prodan in different reverse micellar environments. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2000, 56(7), 1433-1441. DOI: 10.1016/S1386-1425(00)00245-6. ISSN 13861425.
5. KARUKSTIS, Kerry K. a James R. MCDONOUGH Characterization of the Aggregates of N -Alkyl- N -methylpyrrolidinium Bromide Surfactants in Aqueous Solution. *Langmuir*. 2005, 21(13), 5716-5721. DOI: 10.1021/la047015l. ISSN 0743-7463.

6. AICART, Emilio, Patricia DEL BURGO, Oscar LLORCA a Elena JUNQUERA. Electrochemical, Microscopic, and Spectroscopic Characterization of Prevesicle Nanostructures and Vesicles on Mixed Cationic Surfactant Systems. *Langmuir*. 2006, **22**(9), 4027-4036. DOI: 10.1021/la053474q. ISSN 0743-7463.
7. WEBER, Gregorio a Fay J. FARRIS Synthesis and spectral properties of a hydrophobic fluorescent probe: 6-propionyl-2-(dimethylamino)naphthalene. *Biochemistry*. 1979, **18**(14), 3075-3078. DOI: 10.1021/bi00581a025. ISSN 0006-2960.
8. NOVAIRA, Mercedes, M. Alicia BIASUTTI, Juana J. SILBER a N. Mariano CORREA. New Insights on the Photophysical Behavior of PRODAN in Anionic and Cationic Reverse Micelles: From Which State or States Does It Emit?. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007, **111**(4), 748-759. DOI: 10.1021/jp065528q. ISSN 1520-6106.

This work was supported by Materials Research Centre at FCH BUT-Sustainability and Development, REG LO1211, with financial support from National Programme for Sustainability I (Ministry of Education, Youth and Sports).

The comparison of the concentrations of platinum and palladium in Brno and Moscow

*Stanislav Ježek
Renata Komendová*

*Faculty of Chemistry, Brno University of Technology
Institute of Chemistry and Technology of Environmental Protection
xcjezek@fch.vutbr.cz*

The study is focused on comparing the occurrence of platinum and palladium in urban areas in Brno and Moscow.

This thesis includes the monitoring of released amount of platinum and palladium to the environment, especially due to intensive car traffic. In this work we were compare two selected types of matrix - herbaceous vegetation and soil matrix. Acquired data of measurements confirmed that the soil matrix seems to be preferable matrix for monitoring the concentration of platinum and palladium in the environment. It is caused due to lower absorption in vegetation and more difficult detectability in biotic samples. Poor absorption may be caused by climatic conditions, especially in rinse contaminated plant parts by atmospheric rainfall.

The sampling sites were chosen in places with the highest rate of car traffic. These were mainly near busy intersections and busy road sections.

Concentrations of metals from the center of Moscow were approximately 3 times higher than the city center in Brno. Values from the sampling sites MKAD (Moskovskaya Koltsevaya Line avtomobilnaja doroga) were up to 10 times higher than the value from Brno. The result of such high concentrations of platinum and palladium is extremely frequency of automobile traffic and constantly forming columns with driving style „start - stop“.

The major environmental platinum and palladium pollution is their use in automotive catalyst. Surface of the catalyst is attacked during chemically, physically and rapid alternating redox conditions, high temperature and mechanical wear. This wear leads to emission of platinum and palladium into the surrounding environment. The highest accumulation of these metals is in the vicinity of roads, mainly in the large urban areas. So, just **people** living near these busy roads are the most **endangered group** in terms of influencing their health by present metals with emergence of possible allergic reactions and other disabilities.

Keywords: Platinum, palladium, platinum group metals, the environment, atomic absorption spectrometry, extraction, ICP-OES

Development of Materials Based on Hyaluronic Acid's Hydrogels for Myocardial Regeneration

Lenka Kohutová

Martin Pravda, Miloslav Pekař, Garry Duffy, Vladimír Velebný

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
kohutova@contipro.com*

Heart failure following myocardial infarction (MI) causes morbidity and mortality worldwide. The field of tissue engineering has developed several potential therapies for treating MI including cell therapy. Cells could be incorporated into the hydrogels to prolong their retention in the site of application. These injectable biomaterials have the potential to be delivered minimally invasively by catheter.

Hyaluronan-tyramine derivative (HA-TA) could be used for this purpose. It is capable to form covalently crosslinked hydrogels by horseradish peroxidase (HRP 0,1–0,5 U/ml) mediated reaction. Crosslinking reaction is initiated by addition of highly diluted H_2O_2 (0,3–1,7 mM). To enhance cell adhesion, HA derivative (HA-PH-RGD) bearing both hydroxyphenyl moiety and RGD cell adhesive sequence, have been prepared. The capacity of scaffolds to carry the high number of cells is very important to achieve effective treatment of damage heart tissue after myocardial infarction. It has been prepared hydrogel capable to contain a huge number of cells. HA-aldehyde (HA-Ox), commonly prepared by selective oxidation of native HA, could be used as other possibility. Gelation is initiated by addition of diamine O,O'-1,3-propanediylbishydroxylamine dihydrochloride (POA) into HA-Ox solution. In this work the properties of listed materials have been evaluated and compared to select suitable material for intended application.

The viscosity of precursor solutions was evaluated using rheometer ARG2. The critical gel point (GP) was detected at 37 °C as cross-over point where the elastic and viscous moduli were equal ($G' = G''$). Young's modulus (Y), compressive stress at breaking point and toughness (T) were measured in compression using device Instron 3342. Measuring of mechanical properties was repeated 3 times with variability $\pm 10\%$. The swelling ratio of the samples was determined from their weight increase from the original to the swollen state. Up to 50 mil stem cells were encapsulated per ml of hydrogel and cultivated for 28 days.

HA based hydrogels are prepared by non-cytotoxic reaction. HA-TA/HA-HP-RGD hydrogels fulfil criteria for incorporation of large number of cells up to $50 \cdot 10^6$ cells/ml of hydrogel. Moreover, the low precursor solution viscosity enables to deliver the material through the catheter into the damaged heart tissue. All these aspects predispose these materials as suitable cell seeded scaffold for myocardial regeneration.

This work has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research and technological development and demonstration under Grant Agreement no. 604531 (AMCARE).

Occurrence of Macrolide Antibiotics in Waste Waters

*Pavλίna Landová
Milada Vávrová*

*The Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Environmental
Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
xclandova@fch.vutbr.cz*

Antibiotics are pharmaceuticals used to treat diseases caused by bacteria. They are widely used in human and veterinary medicine. Macrolides are after penicillins the second most prescribed group of antibiotics in the Czech Republic.

After administration, the drugs are excreted from the body in the form of metabolites or unchanged via urine or feces. These compounds are then discharged into the waste water and in most cases enter the wastewater treatment plants (WWTPs). Antibiotic can negatively affect biological processes of treatment, where microorganisms are essential for proper functioning WWTP. In many cases the efficiency of antibiotics removal is not sufficient, thus WWTPs are considered as major point sources of environmental contamination by these compounds. The presence of antibiotics in the environment can lead to the development of bacterial resistance to antibiotics which is one of the biggest threats to mankind nowadays.

In this work, we examined the presence of macrolide antibiotics (azithromycin, clarithromycin, erythromycin and roxithromycin) in waste water (in both, inflow and outflow from treatment plant) from three different WWTPs – WWTP Brno-Modřice, WWTP Mikulov and WWTP of The University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno. As pre-concentration step was used solid phase extraction (SPE) and HPLC coupled to MS detection was used as a final analytical technique.

The total occurrence of macrolides in 26 collected samples was 100 % for azithromycin, clarithromycin and erythromycin and 96 % for roxithromycin. In general, the highest concentrations were observed in WWTP of Brno-Modřice and the lowest concentrations were determined in WWTP of The University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno. The comparison of concentrations of individual substances shows, that the concentrations of azithromycin and clarithromycin were one or two orders of magnitude higher than the concentrations of erythromycin and roxithromycin (concentration scale of ng L^{-1} to $\mu\text{g L}^{-1}$). Calculated removal efficiencies of antibiotics were ranging from 13 to 100 %.

Keywords: waste water, macrolide antibiotics, liquid chromatography, mass spectrometry, solid phase extraction

Acknowledgment: This study has been worked out under the project No. LO1408 „AdMaS UP - Advanced Materials, Structures and Technologies”, supported by Ministry of Education, Youth and Sports under the „National Sustainability Programme I” and under the project FCH-S-17-4766 from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Use of Fluorescence and Bacterial Autofluorescence in Biotechnological Processes

Lucie Müllerová

Stanislav Obruča, Filip Mravec, Kateřina Bílková

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science
Purkyňova 486/118, 612 00, Brno Medlánky
Lucie.Mullerova@vut.cz*

Cellular autofluorescence can affect the sensitivity of fluorescence microscopic or flow cytometric assays by interfering with the detection of low-level specific fluorescence. **On the contrary, autofluorescence can be used to distinguish microbial cells from abiotic particles in flow cytometry analysis** or, moreover, it can even serve as a marker of physiological state of the microbial culture of the interest, for instance during biotechnological process. Therefore, our aim is to use the green autofluorescence of bacteria *Cupriavidus necator H16* and its mutant strain *Cupriavidus necator PHB-4* as a marker in various biotechnological processes. Time resolved fluorescence spectra of cellular autofluorescence using variety of excitation lasers are presented, and so are the possibilities of using fluorophores whose spectra do not overlap with the native green fluorescence.

Flow cytometry and fluorescence microscopy are complementary techniques used in this work. Combining their strengths, i.e. the ability of flow cytometer to analyse millions of cells in a very short time, and the high resolution of fluorescence microscopy when analysing single cell, we are able to obtain much more reliable data than when using just one of these techniques.

Keywords: fluorescence, bacterial autofluorescence, biotechnological processes, flow cytometry, fluorescence microscopy

Analysis of Black Inkjet Prints by Atomic Force Microscope Infrared-Spectroscopy (AFM-IR) and Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS)

*Michal Oravec
Katsuya Miura, Michal Čeppan*

*Slovak University of Technology in Bratislava,
Faculty of Chemical and Food Technology,
Institute of Natural and Synthetic Polymers
Radlinského 9, SK-812 37 Bratislava, Slovak Republic
michal.oravec@stuba.sk*

Nowadays the preparation of colloidal nano-structures with surface enhanced activity for surface spectroscopy methods is a very active field of research. Particularly in cases where the low concentration of the sample is studied. We analysed three only black inkjet prints using Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS) and these three samples were measured using Atomic Force Microscope Infrared-Spectroscopy AFM-IR. The present work deals with the micro-destructive method of document analysis from the point of view of forensic examination of questioned documents. We analysed samples spectra acquired directly from the document. The colloid of silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized and applied in SEIRAS measurements. The purpose of enhancement effect of colloids on analysed samples was to improve the resolution of the absorption signal from noise. Size and shape of prepared AgNPs were characterised using scanning electron microscopy (SEM).

The experiment was performed by measuring spectra in infrared range to gain signal of inkjet outprints. Nexus 670 FT-IR device, in ATR mode with Smart Dura Scope accessories – diamond crystal, resolution 4 cm^{-1} , 32 points of scans in the range of 4000 to 700 cm^{-1} was used. Using Smart Dura Scope, the AgNPs treated area of outprints could be focused more precisely than visually. Measured spectra were compared with AFM-IR (nanoIR2, Analysis Instruments) spectral data acquired in two ranges of 1000 to 2000 and from 2500 to 3600 cm^{-1} with a resolution of the device setting to the 4 cm^{-1} and probe size $20 - 30\text{ nm}$. The spectral measurements were performed afterwards the AFM images were captured. The structure of printed paper could be observed and the spot of examination could be selected.

Both methods provide an insight into the chemical structure of the inkjet-printed document. We, therefore, consider the AgNPs would be promising for applications in the forensic analysis of documents when routine methods are not effective.

Keywords: AFM-IR, SEIRAS, inkjet

High-Throughput Optimization of Red Yeast Cultivation Conditions Using FTIR And Raman Spectroscopy

Marek Rapta

*Volha Shapaval, Achim Kohler, Boris Zimmermann, Valeria Tafintseva,
Martin Szotkowski, Dana Byrtusová, Nadieżda Mikheichyk, Iveta
Kostovová, Ivana Márová*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry. Institute of Food Science and
Biotechnology*

*Purkyňova 464/118, 612 00 Brno
marek.rapta@vut.cz*

Oleaginous red yeasts (*Rhodotorula*, *Cystofilobasidium* and *Sporobolomyces*) are non-conventional yeasts with ability to utilize a wide range of cheap waste substrates (whey, glycerol, animal fat etc.). These strains also accumulate significant amounts of lipids and lipid-soluble metabolites as sterols and pigments. Using waste substrates could lead to the low-cost biotechnological production of enriched biomass that could be used in pigment production or alternative way in biodiesel production.

Traditional cultivation methods in shaking flasks are time-consuming and with lower reproducibility. Microcultivation system offers reproducible high-throughput way for large screenings of different fermentation conditions in order to develop an efficient bioconversion of different substrates into lipid-rich yeast biomass. Fourier-transformation infrared (FTIR) and Raman spectroscopy has shown a large potential to be used in extensive screenings, especially when screening metabolites are lipids and/or pigments. These complementary techniques allow to perform high-throughput analysis of intact cells obtained from microcultivation system. Combination of these techniques allows fast and efficient way how to obtain complete biochemical profiling of biomass and allow more specifically focus on lipid/pigment profiling.

In the study, twelve red yeast strains were tested on the media with glucose and glycerol as carbon source, yeast extract and ammonium sulphate as nitrogen sources and different C/N ratios. The screening was performed in 24-deep well microtiter plates in Microtiter Plate System. For the evaluation of lipid accumulation FTIR and Raman spectroscopy was used. It was observed that spectral data from both FTIR and Raman have correlation with the reference data from GC and HPLC. The influence of carbon and nitrogen source, as well as C/N ratios on the lipid and carotenoid accumulation was investigated.

Keywords: Red yeast, Carotenoids, Single-cell oils, Microcultivation, Fourier-transformation infrared spectroscopy, Raman spectroscopy,

Development of DGT technique for determination of hazardous metals in food matrixes: Step I – preparation of sorption gel

*Marek Reichstädter
Pavel Diviš, Jaromír Pořízka*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science and Biotechnology
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
marek.reichstadter@vut.cz*

Diffusive gradient in thin films technique (DGT) has become a routine tool for speciation analysis of metals in natural waters, soils and sediments. Since its introduction in 1994, more application possibilities appeared - one of them in food chemistry e.g. lead determination in soy sauces.

Since the concentration of toxic metals in food matrixes is usually very low, the application of DGT technique with appropriate gel discs is very suitable for their determination. Not only that DGT technique extracts metals from the food matrixes, it has also allowed to determinate very low concentrations of metals due to its preconcentration ability. The usage of DGT technique for determination of some metals in food matrixes requires special types of sorption gel discs, because the commercially available gel discs are not able to effectively bind these metals from matrixes with high concentration of natural ligands, such as chlorides or organic acids. A typical example of this occurrence is the determination of mercury by DGT technique.

In the presented work new sorption gel disc with thiol functional group for DGT technique was prepared by immobilization of L-cysteine on amino-modified silica via reaction with glutaraldehyde. The prepared sorbent was characterized by FTIR-DRIFT technique and presence of cysteine was confirmed by many absorption bands in spectre. In synthesis of following sorbents, different concentrations of L-cysteine were used resulting into different load of thiol groups content on sorbents. These sorbents were characterized by CS elemental analysis technique and after optimisation of L-cysteine concentration, the sorbent was incorporated into polyacrylamide hydrogel layer. In the further work the performance of prepared sorption gel for determination of mercury in food matrixes by DGT technique will be tested.

Comparison of metabolic activity, morphology and potential use of carotenogenic yeasts for production of high value products using fluorescence techniques

Martin Szotkowski
Nadzeja Mikheichyk, Ivana Márová

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science and
Biotechnology and Materials Research Centre
Purkyňova 464/118, Brno 612 00
xcszotkowski@fch.vut.cz

Carotenoids are natural pigments occurring in plants and many microorganisms, such as algae, yeast and bacteria. They represent the most common group of antioxidants with significant biological effect. Lipids represent an essential component of all living organisms. They are the source and the reservoir of energy for organisms, which can also be used in the petrochemical industry for the production of biofuels and in pharmacy as dietary supplements. This thesis deals with the production of carotenoids and lipids by selected strains of yeasts and their morphology, in order to apply the acquired knowledge and find cheap suitable alternatives for biotechnological production of these metabolites using waste substrates.

In this work yeast genera *Sporobolomyces*, *Cystofilobasidium* and *Rhodotorula* were used. Yeasts were cultivated on media with different carbon sources – glucose, glycerol and whey as waste material. Carotenoids, coenzyme Q and ergosterol in cells were determined by HPLC/PDA/MS. The lipid content and fatty acid profiles were analyzed by gas chromatography (GC/FID). Cell morphology and localization of selected metabolites were analyzed by fluorescence lifetime imaging microscopy, fluorescence microscopy and flow cytometry. The highest carotenoid production was found in *S. pararoseus*, *C. capitatum* and *R. mucilaginosa* cells, while the highest lipid yield was observed in strains of *C. infirmominiatum* and *S. metaroseus*.

The results showed that use of whey and glycerol seems to be appropriate carbon sources for growth of carotenogenic yeasts and production of carotenoids and selected lipidic substances as products with higher added value. Further optimization of nutrient medium on the given substrates is needed for higher production of selected metabolites. Techniques of fluorescence microscopy and flow cytometry have proved to be suitable options for localization of the observed metabolites in the cells, their amount and cell viability.

Acknowledgements: This work was supported by the project „Materials Research Centre – Sustainability and Development“ Nr. LO1211 of the MSM.

Removal of Pharmaceuticals by Combinations with Ozone

Tereza Švestková

*Pavína Landová, Tomáš Macsek, Michal Úterský, Milada Vávrová,
Petr Hlavínek*

*Faculty of Chemistry, Brno University of Technology,
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic*

The pharmaceuticals are widely used in human and veterinary medicine every day. Due to their stability and possibility of bioaccumulation they are significantly represented in all components of environment especially in wastewater. Conventional purifying methods on WWTPs are insufficient for elimination of certain xenobiotics. Especially for xenobiotics which are difficult, slowly or impossible to eliminate by conventional (mechanical -biological) methods. Due to these facts we dealt with the possibility of removal xenobiotics by advanced oxidation processes (AOP).

We chose three groups of pharmaceuticals. First group is Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (ibuprofen, diclofenac, naproxen, ketoprofen) which are most consumed pharmaceuticals in Czech Republic. Second group is macrolide antibiotics (azithromycin, clarithromycin, erythromycin, roxithromycin) and third is **sul**-phonamide antibiotics (sulfamethoxazole, sulfathiazol, sulfamethazin). The experiments were doing on AOP unit which works with ozone, hydrogen peroxide, UV radiation and their combinations. This presentation will be focused on the removal by combinations with ozone.

Solid-phase extraction technique (SPE) was used for extraction, preconcentration and purification of target compounds. High-performance liquid chromatography coupled with DAD and mass spectrometry detection (HPLC-DAD-MS) was used for final analysis, identification and quantification.

This study has been worked out under the project FCH-S-17-4766 from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and under the project No. LO1408 "AdMaS UP - Advanced Materials, Structures and Technologies", supported by Ministry of Education, Youth and Sports under the "National Sustainability Programme I".

Artificial sweeteners and their occurrence in the environment

*Libuše Vítková
Josef Čáslavský*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Chemistry and
Technology
of Environmental Protection
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno
xcvitkoval@fch.vut.cz*

This study is focused on artificial sweeteners and their occurrence in the environment, in particular on their presence in waste and surface waters.

Artificial sweeteners are synthetic sugar substitutes. They are much sweeter than beet sugar and have a wide range of applications. Mostly they are used in the food industry, but they also found their use in pharmaceutical industry and in personal care products. They contain almost no energy and thus do not increase blood sugar levels. For this reason they are used by many people with diabetes or dieting.

Due to their persistence and ubiquitous occurrence in the aquatic environment, artificial sweeteners were newly classified as environmental pollutants. Sucralose (SUC) and Acesulfame K (ACS) do not subject to biotransformation, thus they are not removed on a biological purification step of waste water treatment. Artificial sweeteners SUC and ACS are used as potential markers of contamination of surface water and groundwater by domestic waste water. Sweeteners can get into groundwater due to leakage of landfill leachates.

The predominant occurrence of sweeteners in the various countries is due to the extent of their use. E. g. in the US high levels of SUC were found, whereas in the European countries mainly ACS prevails.

Some sweeteners are evaluated as a potential carcinogens or potential toxics and this is another reason why their monitoring is important.

Keywords: artificial sweeteners, environment, waste water

Screening of yeast strains for simultaneous saccharification and fermentation of waste paper

Miroslava Zichová

Eva Stratilová, Libor Babák, Michal Rosenberg

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science and Biotechnology
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
xczichova@fch.vutbr.cz*

1 Introduction

Bioethanol is a product of microbial fermentation and besides the traditional use in the distillery industry it has become the most important alternative fuel nowadays.

Bioethanol can be produced from so called first-generation feedstocks (maize, wheat or sugarcane) and second-generation feedstocks (lignocellulosic materials such as straws, forest residue or any agricultural waste). For commercial production of bioethanol, first-generation feedstocks are used, but this kind of production is limited by land availability and there are also concerns regarding the use of land for fuel as opposed to food production¹. Second-generation bioethanol production from lignocellulosic material is more promising from this point of view. The main drawback is a complexity of the process compared to first-generation feedstocks due to the presence of lignin and hemicellulose². Additional processing steps, the pre-treatment and hydrolysis, are necessary for extracting sugar from lignocellulosic materials³. Due to the fact, that the pre-treatment process is highly energy-intensive and enzymatic hydrolysis expensive, the production of second-generation bioethanol is currently not economically feasible. Therefore, bioethanol production from second-generation feedstocks is the focus of research and development⁴.

Waste paper is a suitable second-generation feedstock for the production of bioethanol, because of its abundance, economic competitiveness and content of a relatively high amount of carbohydrates⁵. The paper is partially delignified and deprived of significant amounts of hemicellulose during the pulping process and does not require energy-intensive thermophysical pre-treatment, in comparison to other lignocellulosic materials⁶.

For effective ethanol production the rapid fermentation and high ethanol concentrations are required. Therefore, a microorganism used in the fermentation process should have a good growth rate, a high specific ethanol production rate at a high osmotic activity, and should be able to tolerate a high concentration of ethanol⁷.

In this work, five non-*Saccharomyces* yeast strains and commercial strain *Saccharomyces cerevisiae* were examined for the production of bioethanol. Due to the fact, that cellulose in the paper cannot be utilized by yeast directly, the conversion to fermentable sugars was performed enzymatically. Because of the inhibition of cellulolytic enzymes by sugars, the method of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) was applied, where the emerging sugars were immediately consumed by fermenting cells to produce bioethanol. However, the major limitation of SSF is the different temperature optimum of cellulolytic enzymes (45–50 °C) and the fermenting organisms (30 °C). Therefore, it would be very useful to identify thermotolerant microorganism with good ethanol production efficiency.

2 Experimental

2.1 Materials

Microorganisms

Pichia kudriavzevii CCY 29-9-42 isolated from the blossom of a plum tree,
Hanseniaspora guilliermondii CCY 46-1-3 isolated from the blossom of a plum tree,
Candida solani CCY 29-23-21 isolated from the contaminated soil,
Wickerhamomyces anomalus CCY 38-1-35 isolated from the leaf of a plum tree,
Kluyveromyces marxianus CCY 51-1-1 isolated from yoghurt,
Saccharomyces cerevisiae originated from an industrial distillery.

Strains were maintained on malt agar at 4 °C. Propagation was carried out in a liquid medium containing glucose (20 g/L) and yeast extract (3 g/L) at 30 °C. Yeast biomass was collected by centrifugation (3000 rpm, 10 min).

Enzymes

Novozymes' cellulosic ethanol enzyme kit (NS 22086 cellulase complex, NS 22118 β -glucosidase), Novozymes, Denmark

Substrate

White waste cardboard was chopped to squares of a size about 1x1 cm and dry grinded using a kitchen blender.

2.2 Methods

In each of six Erlenmeyer flasks 6 g of a sterile substrate was suspended in 100 mL of 0.1 M citrate - phosphate buffer, pH 5.0. Cellulolytic complex NS 22086 (3 % w/w) and β -glucosidase NS 22 118 (0.6 % w/w) were added to the suspension. Each flask was inoculated with one of the six yeast strains. The flasks were placed in a thermostat without shaking at 30 °C for 7 days. They were periodically sampled and glucose and ethanol were determined using a HPLC system (Accela, Thermo Scientific) with refractometric detector (Shodex RI - 101) and column Watrex Polymer IEX H (250x8 mm, Watrex Prague, Czech

Republic). As a mobile phase 9 mM H₂SO₄ was used with a flow rate of 0.5 mL/min. Analyses were performed at the room temperature.

After the screening of strains for ethanol production at 30 °C the experiment was repeated with double concentration of yeasts and repeated again at 40 °C.

3 Results and discussion

The ethanol concentrations produced by six yeast strains in the first experiment are shown in Fig. 1. Strains *Candida solani* and *Hanseniaspora guilliermondii* did not proved to be suitable for ethanol production, as the ethanol concentration did not exceeded 2 g l⁻¹. Therefore, the following experiments with double amount of cells at 30 °C and 40 °C were made only with *Pichia kudriavzevii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The temperature 40 °C was chosen in order to approach a temperature optimum of cellulolytic enzymes which is 50 °C.

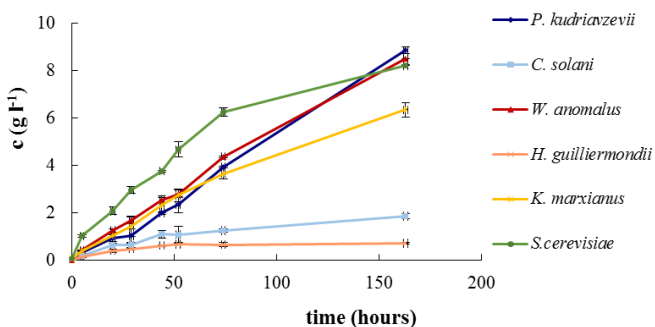


Figure 1: Production of ethanol at 30 °C - initial screening

All four strains tested showed significant increase of ethanol concentration when a double concentration of yeast cells was used at 30 °C. The highest concentration of ethanol was produced by *P. kudriavzevii* and *S. cerevisiae*, it was 14.01 ± 0.42 g l⁻¹ and 13.35 ± 0.13 g l⁻¹, respectively, after 163 h. The fermentation rate was highest with *S. cerevisiae*, other strains needed more time to reach the same concentration.

A decrease in ethanol production with higher temperature was found out for all strains tested (Fig. 2). Yeasts *W. anomalus* and *K. marxianus* produced at both temperatures the same concentrations of ethanol till the 50th hour of SSF, and then the production stopped, because the cells probably lost their viability. After 163 h, the final concentration of ethanol was 5.02 ± 0.05 g l⁻¹ and 4.15 ± 0.08 g l⁻¹, respectively. For *S. cerevisiae*, the production at 40 °C was lower than at 30 °C, but the production stopped after 92 hours of SSF and the final concentration of ethanol was 7.45 ± 0.03 g l⁻¹. *P. kudriavzevii* was the only strain which produced more ethanol at 40 °C, at least during first 92 hours. Then the production stopped as well. The final ethanol concentration reached 9.40 ± 0.04 g l⁻¹.

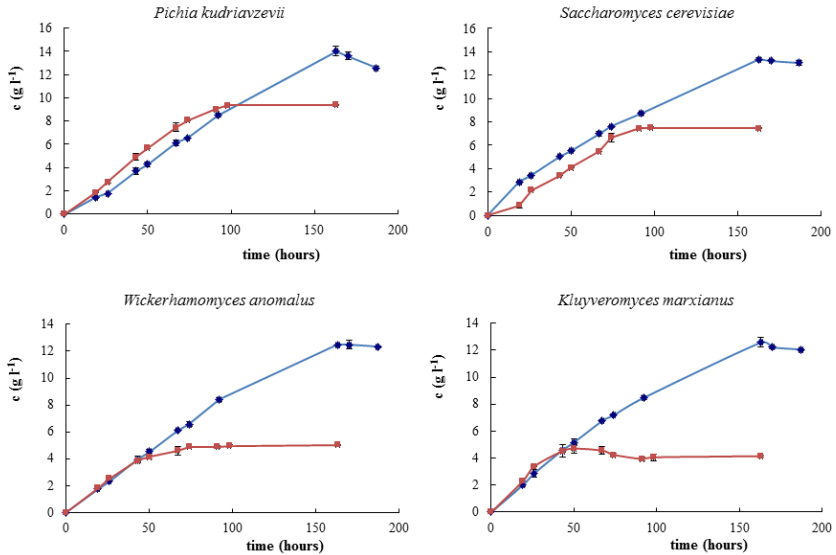


Figure 2: Production of ethanol at 30 °C (blue line) and 40 °C (red line)

4 Conclusion

Among the strains tested, *Pichia kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae* produced the highest concentrations of ethanol at 30 °C. *P. kudriavzevii* was also resistant to higher temperature of 40 °C. On the other hand, *Kluyveromyces marxianus*, often used for its thermal tolerance, did not show to be suitable for the production of ethanol at 40 °C.

The ethanol production ability of *Wickerhamomyces anomalus* should be highlighted because this yeast strain is not very examined. The final ethanol concentration was comparable with other strains that are considered to be good ethanol producers.

5 References

1. BALAT, M.: Production of bioethanol from lignocellulosic materials via biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*. 2011. 52: 858 - 875.
2. SARKAR N.; GHOSH S. K.; BANNERJEE S.; AIKAT K.: Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*. 2012. 37, 19 - 27.
3. GAMAGE, J.; LAM, H.; ZHANG, Z. Bioethanol production from lignocellulosic biomass, A review. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2010. 4, 3 - 11.
4. MATHEW, A. K.; CHANEY, K.; CROOK, M.; HUMPHRIES, A. C. Bioethanol Production From Oilseed Rape Straw Hydrolysate By Free And Immobilised Cells

- Of *Saccharomyces Cerevisiae*. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*. 2011. 150: 925 - 934.
5. OBARA, N.; ISHIDA, M.; HAMADA-SATO, N.; URANO, N. Efficient bioethanol production from paper shredder scrap by a marine derived *Saccharomyces cerevisiae* C-19. *Studies in science and technology*. 2012. 1: 127 - 132.
 6. ELLISTON, A.; COLLINS, S.; WILSON, D.; ROBERTS, I.; WALDRON, K. High concentrations of cellulosic ethanol achieved by fed batch semi simultaneous saccharification and fermentation of waste-paper. *Bioresource Technology*. 2013. 134: 117 - 126.
 7. GIBSON, B.; LAWRENCE, S.; LECLAIRE, J.; POWELL, C.; SMART, K. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. *FEMS Microbiology Reviews*. 2007. 31: 535 - 569.

*Sekce studentů doktorských
studijních programů*

*Tématický okruh anorganická chemie,
materiálové vědy a inženýrství*

Morphology study of 2-ethylhexyl acrylate/cellulose acetate propionate microcapsules prepared via solvent evaporation technique

Tomáš Arvai
Ivana Chamradová
Josef Jančář

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
tomas.arvai@vut.cz

1 Introduction

Recently, microencapsulation has become a widespread technique for synthesis of multifunctional particles for controlled drug administration^{1, 2}, production of self-healing materials^{3, 4} or silicone liner-free pressure-sensitive adhesive labels⁵⁻⁸. Increasing popularity of microencapsulation has not been driven only by the versatility of the produced microcapsules but also by numerous techniques available for microencapsulation. Solvent evaporation, also referred as internal phase separation, is an efficient technique for production of microcapsules with potential for industrial upscaling.

The principle of solvent evaporation technique is formation of shell from polymer solution dispersed in immiscible continuous phase. The polymer solution must contain non-volatile non-solvent as core material and volatile solvent. As the volatile solvent evaporates, polymer-rich domains separate within the dispersed phase. If appropriate wetting conditions are achieved, domains migrate to the interface and engulf the remaining blend of polymer solution with the non-volatile non-solvent. Further solvent removal leads to complete polymer precipitation into the shell and formation of the core-shell microcapsule.⁹⁻¹¹ Formation of microcapsules via solvent evaporation technique is shown in Figure 1.

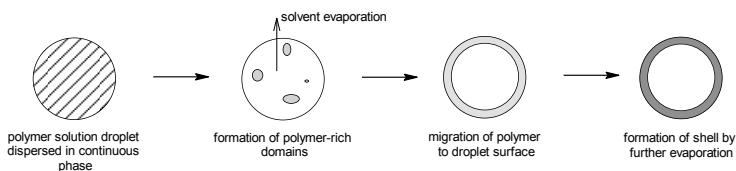


Figure 1: Process of microcapsule formation via solvent evaporation

In order to achieve core-shell morphology of microcapsules materials must be carefully selected. In the case where water acts as continuous phase for encapsulation of oil, shell-forming polymer must be more hydrophilic than the encapsulated oil. Prediction of microcapsule morphology is usually made by measurement of interfacial tensions between the materials. Spreading coefficients are calculated from the interfacial tensions according to the following equation¹²

$$S_i = \gamma_{jk} - (\gamma_{ij} + \gamma_{ik}). \quad (1)$$

If core-shell morphology is targeted core material is designated as phase 1 and shell material as phase 3. Following condition must be met

$$\gamma_{12} > \gamma_{23}. \quad (2)$$

By the equation 1, only 3 combinations of spreading coefficients S_i are possible with regard to the abovementioned condition (equation 2). The combinations are described in Table 1. Depiction of resulting morphologies is presented in Figure 2.^{10, 11}

Table 1: Spreading coefficients combinations and resulting particle morphologies

S_1	S_2	S_3	Morphology
negative	negative	positive	core-shell
negative	negative	negative	acorn-shaped
negative	positive	negative	separate droplets

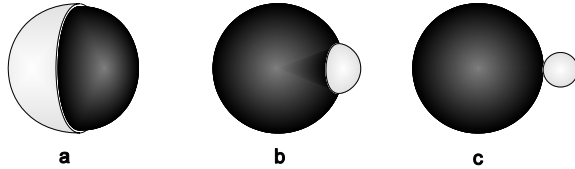


Figure 2: Achievable particle morphologies; (a) core-shell microcapsule, (b) acorn-shaped particle, (c) two separate droplets

In this study, we have chosen cellulose acetate propionate as shell material due to its excellent film-forming ability. It is also relatively hydrophilic polymer which is not soluble in oily 2-ethylhexyl acrylate. Thus, conditions for formation of core-shell microcapsules should be met. This core-shell material pair has not been studied yet and it may serve as a model system for polymerization inside microcapsules which might be possible if appropriate initiating system is incorporated. Description of the physical process of microencapsulation, morphology of microcapsules and properties of resulting microcapsules are presented in this study.

2 Experimental

2.1 Materials

2-ethylhexyl acrylate (2-EHA, 98%, Sigma-Aldrich) was washed with 0.3 M aqueous sodium hydroxide solution to remove inhibitor. The monomer was dried with anhydrous

sodium sulfate. Cellulose acetate propionate (CAP, Eastman) with M_n 25 000 g mol⁻¹ (by size exclusion chromatography, SEC) contained 45.0 % propionyl, 2.5 % acetyl and 2.6 % hydroxyl groups. Poly(vinyl alcohol) (PVA, 88% hydrolyzed) was used as emulsifier in deionized water. Dichloromethane (DCM, p.a., Penta) was used as supplied.

2.2 Preparation of microcapsules

First, solution of PVA (0.72 g) in deionized water was prepared. CAP (0.864 g) was dissolved in DCM (79 g). After complete dissolution of CAP, 2-EHA (6.0 g) was added. The solution (70–80 g) was added dropwise to the PVA solution in a flask equipped with a paddle stirrer (500 RPM). Steady dosing rate was provided by a syringe pump which was set to 80 cm³ per hour. After dosing mechanical stirrer was exchanged for a magnetic stirrer (600 RPM) and the flask was equipped with Liebig condenser and heated on a water bath in order to distill out DCM.

Samples of microcapsules (5 cm³) were taken immediately after the end of dosing, during and after evaporation of solvent. Heating of microcapsule suspension was finished when 80–90 % of solvent was distilled.

2.3 Characterization of microcapsules

Wet samples of microcapsules were observed by optical microscopy using Olympus BX50. Analysis of microcapsule dimensions was performed using AnalySIS docu 5.0 software. Microcapsules were fractured in compression by pushing a cover slip against a microscope slide covered with suspension of microcapsules.

Confocal laser scanning microscope (CLSM) Olympus LEXT OLS 3000 was used for morphology characterization of dry microcapsules. In order to prevent misconception by PVA from the continuous phase microcapsules were washed with deionized water and centrifuged. Resulting suspension was dropped on a microscope slide and dried at ambient conditions.

Detailed morphology of dry microcapsules was investigated using a Tescan MIRA3 scanning electron microscope (SEM). Drop of the microcapsule suspension was placed on an aluminum SEM stub and allowed to dry overnight. All samples were gold coated with a layer of 10 nm. Secondary electron emission mode was used for all observations at 10 kV acceleration voltage.

3 Results and Discussion

3.1 Evolution of microcapsule morphology

Partially raspberry-like morphology of microcapsule samples was observed immediately after emulsification of DCM solution in aqueous solution of PVA. Raspberry-like morphology was caused by formation of DCM droplets on the surface of microcapsules. As the micrographs shown in Figure 3 were taken at ambient temperature, volatility of DCM is high due to its high vapor pressure of 47.4 kPa at 20 °C.

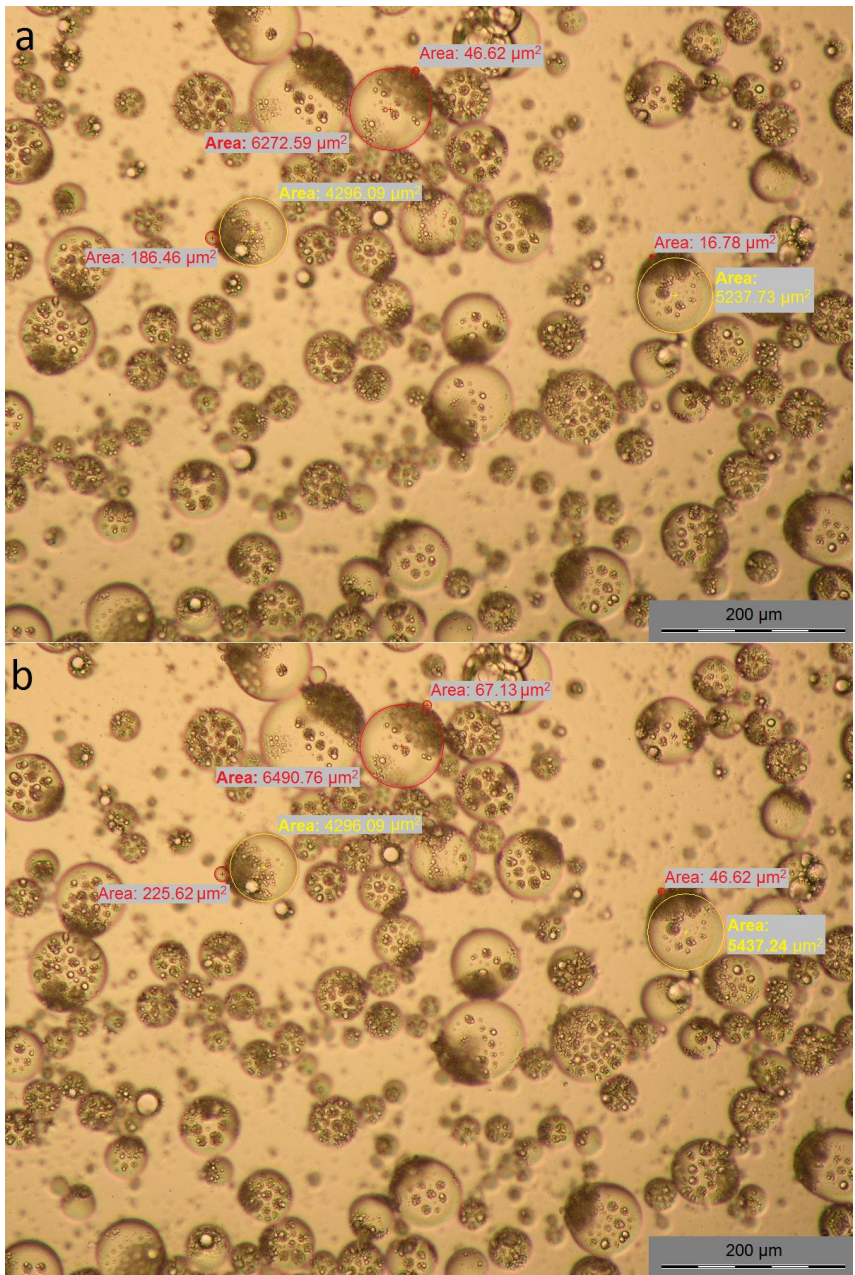


Figure 3: Partially raspberry-like morphology of microcapsules immediately after emulsification of DCM solution. Measured areas of droplets cross-section demonstrate growth of DCM droplets on the surface of microcapsules. Micrograph (b) was taken approximately 30 seconds after (a).

As shown in Figure 3 raspberry-like morphology has not been fully developed over the entire surface of microcapsules. This may be caused by the high volatility of DCM which has evaporated from the droplets at the initial stage of microcapsule formation when shell has not been fully developed. As the shell increased its thickness permeability of the microcapsule walls decreased. At critical point of sudden permeability drop only limited number of pores remained open which were oriented in the direction of the strongest DCM flow. Growth of DCM droplets (see Figure 3) on the surface of microcapsules proves strong DCM flow through CAP shell even at ambient temperature. Figure 3 also shows relatively high microcapsule diameter span from 20 to 120 μm caused by the simple paddle stirrer we used.

Process of solvent evaporation was accelerated by heating the suspension of microcapsules which resulted in change of microcapsule morphology. As the evaporation progressed the inner volume of microcapsule decreased. The CAP shell has been fully developed prior to start of heating. Thus, it did not shrink with progressing evaporation which resulted in gradual morphology change from raspberry-like to bowl-like. The morphology change is shown in Figure 4.

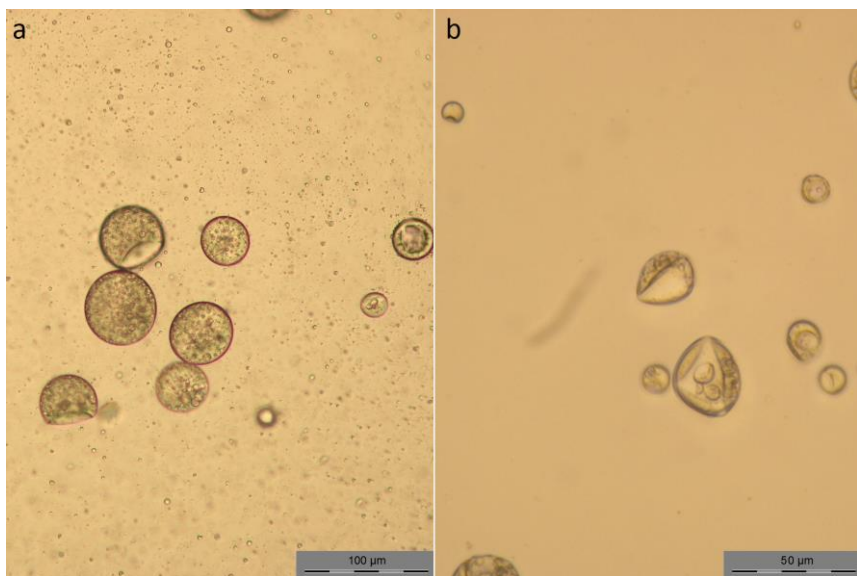


Figure 4: Bowl-like morphology of buckled microcapsules at various stages of solvent evaporation: (a) sample during heating, at approximately 40 % DCM evaporated; (b) sample after heating

Aforementioned morphology change is caused mainly by osmotic pressure difference which relates to higher outflow of DCM from the microcapsules than counterflow of continuous phase into the microcapsules. Osmotic pressure buckling has been recently modeled^{13, 14} and discussed in experimental studies of different microcapsule forming techniques^{15, 16}.

Counterflow of water may be also the reason of abundant droplets in the microcapsules which are evident in Figure 3 and 4. These droplets did not exceed

10 μm in diameter and most of them were probably formed before the start of heating which facilitates higher outflow of DCM.

3.2 Morphology of dry microcapsules

Another consequence of flow through the microcapsule shell was a porosity of dry microcapsules. These were observed because microcapsules are often used in dry state as coatings or additives for self-healing materials. Some microcapsules buckle into irregular crumpled shape instead of the bowl-like morphology. Such microcapsules retained sufficient inner volume. As the liquid mixture inside the microcapsules evaporated through the shell micropores were formed. Microporous dry microcapsules are shown in Figure 5.

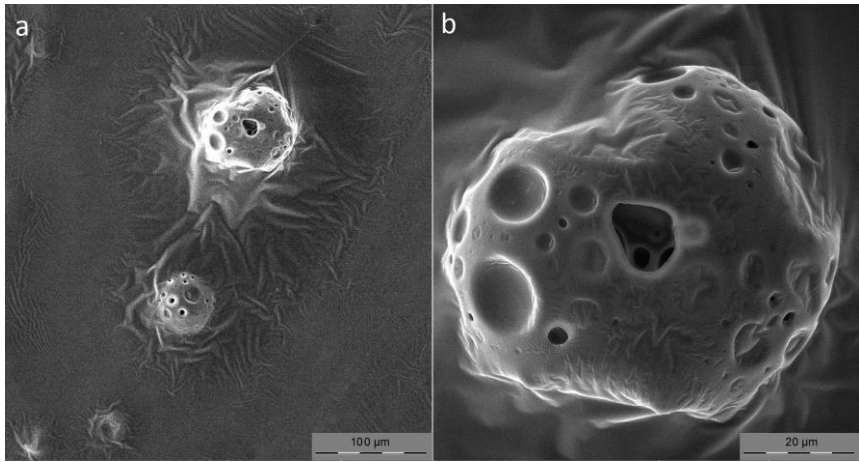


Figure 5: Microporous microcapsules dried from suspension in 0.8% PVA solution; (b) is detail of the upper microcapsule shown in (a)

Figure 5b shows detailed view of micropores in the shell with diameter 1–10 μm . Some pores might be also covered with PVA film formed after evaporation of continuous phase. The covered pores are shown as dimples in the surface of microcapsule.

The bowl-shaped microcapsules did not exhibit any porosity. The bowls flattened during drying with edges of folded shell elevating. The height profile of dry microcapsules was recorded by CLSM and the results are shown in Figure 6. Resulting dry particles have height/diameter (aspect) ratio of 0.3–0.4.

As CLSM analysis showed multiple folding of dry microcapsule shell we used SEM for capturing more detailed image. Micrograph of shell folding by the edge of dry microcapsule is presented in Figure 7. Shell thickness of 0.3 μm was estimated as half-width of the thinnest edge which is highlighted in the micrograph.

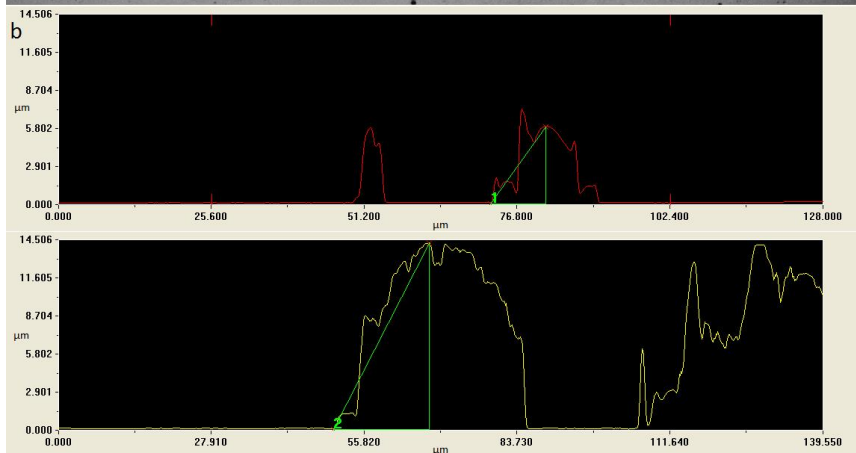
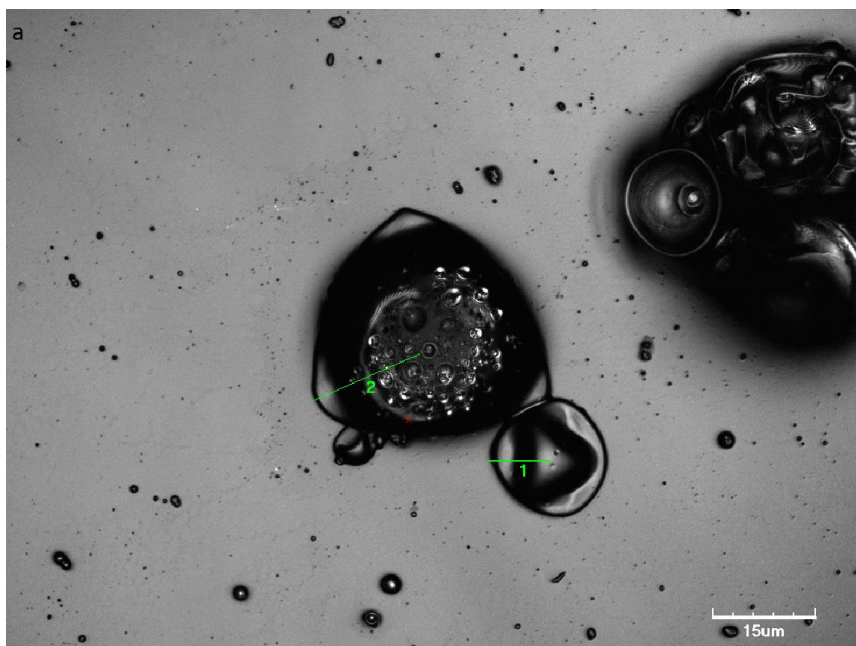


Figure 6: CLSM micrograph (a) and height profiles (b) of dry microcapsules; height/diameter ratio in profile 1 was measured 0.3 and 0.4 in profile 2, respectively.

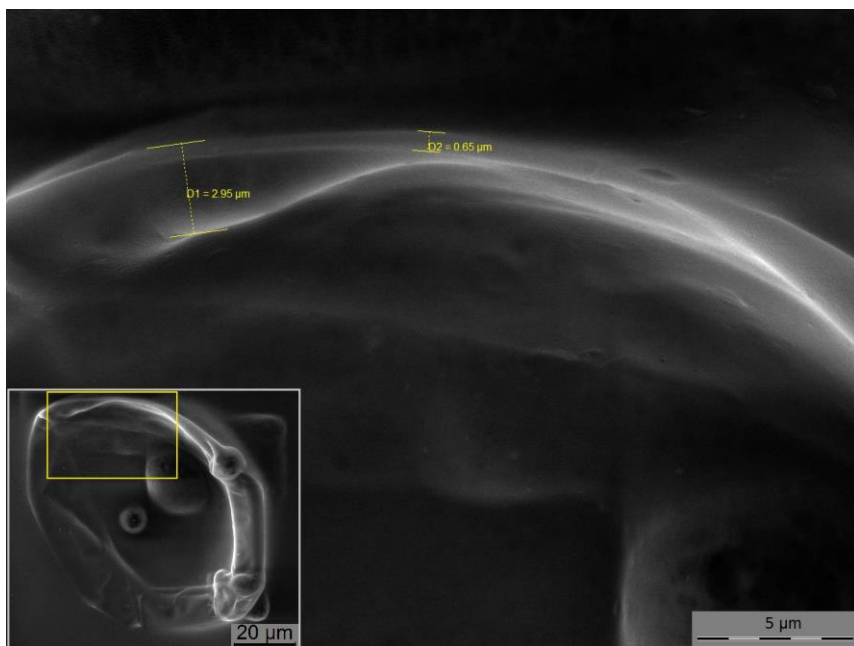


Figure 7: SEM micrograph of shell folding; overall view of microcapsule with highlighted area of interest is shown in the inset.

3.3 Fracture type of microcapsule shell

Since one of major microcapsule release mechanisms of the core material is by breakage, fracture type of shell has been investigated. Release rate depends on the type of fracture. Brittle fracture facilitates more homogenous release over the entire surface of microcapsule due to crack distribution and disintegration of shell into several parts. On the other hand, ductile rupture keeps the shell coherent when microcapsule is broken and the release is more localized due to limited crack propagation from one point. Ductile rupture is also characteristic for tough microcapsules. Such microcapsules are less prone to undesirable cracking, e.g. when mixed into a coating formulation.

Microcapsule sample taken after the end of dosing (see Figure 3) was compressed under microscope. Pressure caused the microcapsules to deform elastically and after exceeding the tensile strength ductile fracture was observed. Micrograph of broken microcapsules with crumpled shells is shown in Figure 8.

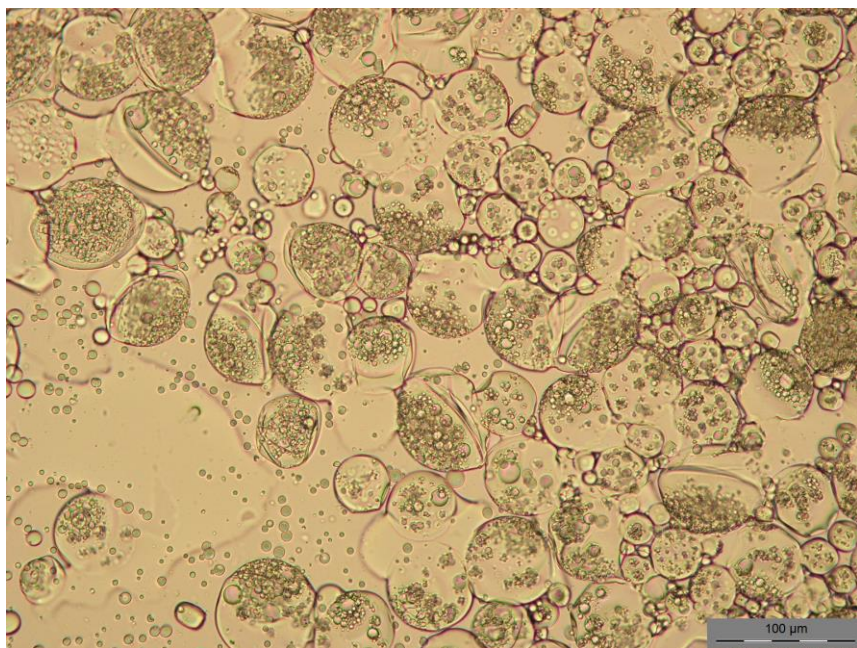


Figure 8: Broken microcapsules with crumpled shells demonstrating ductile fracture.

4 Conclusion

Morphology change of 2-ethylhexyl acrylate/cellulose acetate propionate microcapsules has been described. CAP shell is formed immediately after emulsification of DCM solution in PVA solution. Evaporation of DCM results in osmotic buckling of microcapsules and most resulting microcapsules had bowl-like morphology. These microcapsules flatten on drying due to their only $0.3\ \mu\text{m}$ thick shell which does not support the bowl-like structure sufficiently.

Prepared microcapsules were polydisperse in size with diameter $20\text{--}120\ \mu\text{m}$. DCM droplets on the microcapsule surface were aggregated in partially raspberry-like morphology. The DCM droplets grew in size since the solvent evaporation continued even at ambient temperature. Ductile fracture of microcapsules was observed by rupturing the microcapsules in compression.

Some microcapsules formed irregular crumpled morphology which maintained higher inner volume. Micropores were formed in the shell of such microcapsules on drying. Resulting microcapsule morphology probably relates to evaporation rate and distribution of 2-EHA in microcapsules. These relations shall be further studied because control of microcapsule morphology and pore size offers potential use in controlled release particles.

Even though the 2-EHA/CAP solution in DCM was supposed to follow solvent evaporation mechanism of shell formation by coalescence of polymer rich domains on the emulsified droplets/continuous phase interface, premature formation of CAP shell was observed. In order to prepare core-shell 2-EHA/CAP microcapsules kinetics of shell formation must be deeply understood. Premature formation is probably driven by minimization of surface energy, thus tensiometry shall be performed. The novel microcapsules of 2-EHA/CAP are a promising model system for polymerization inside the microcapsules.

5 References

1. ABULATEEFEH, Samer R a Alaaldin M ALKILANY. Synthesis and Characterization of PLGA Shell Microcapsules Containing Aqueous Cores Prepared by Internal Phase Separation. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2015, **17**(4), 1–7. ISSN 1530-9932. DOI: 10.1208/s12249-015-0413-y
2. PERUMAL, D. Microencapsulation of ibuprofen and Eudragit® RS 100 by the emulsion solvent diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2001, **218**(1–2), 1–11. ISSN 03785173. DOI: 10.1016/S0378-5173(00)00686-4
3. BROCHU, Alice B W, William J. CHYAN a William M. REICHERT. Microencapsulation of 2-octylcyanoacrylate tissue adhesive for self-healing acrylic bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* [online]. 2012, **100 B**(7), 1764–1772. ISSN 15524973. DOI: 10.1002/jbm.b.32743
4. BROWN, E. N., S. R. WHITE a N. R. SOTTOS. Microcapsule induced toughening in a self-healing polymer composite. *Journal of Materials Science* [online]. 2004, **39**(5), 1703–1710. ISSN 00222461. DOI: 10.1023/B:JMSc.0000016173.73733.dc
5. EMPEREUR, Johanne, Mohamed Naceur BELGACEM a Didier CHAUSSY. Silicone Liner-Free Pressure-Sensitive Adhesive Labels. *Macromolecular Materials and Engineering* [online]. 2008, **293**(3), 167–172. ISSN 14387492. DOI: 10.1002/mame.200700292
6. ABDERRAHMEN, R., C. GAVORY, D. CHAUSSY, S. BRIANÇON, H. FESSI a M. N. BELGACEM. Industrial pressure sensitive adhesives suitable for physicochemical microencapsulation. *International Journal of Adhesion and Adhesives* [online]. 2011, **31**(7), 629–633. ISSN 01437496. DOI: 10.1016/j.ijadhadh.2011.06.003
7. GAVORY, Cécile, Robin ABDERRAHMEN, Jean-Pierre VALOUR, Didier CHAUSSY, Mohamed Naceur BELGACEM, Hatem FESSI a Stéphanie BRIANÇON. Encapsulation of a pressure-sensitive adhesive by spray-drying: microparticles preparation and evaluation of their crushing strength. *Journal of Microencapsulation* [online]. 2012, **29**(2), 185–193. ISSN 0265-2048. DOI: 10.3109/02652048.2011.642014
8. GAVORY, Cécile, Robin ABDERRAHMEN, Claire BORDES, Didier CHAUSSY, Mohamed Naceur BELGACEM, Hatem FESSI a Stéphanie BRIANÇON. Encapsulation of a pressure sensitive adhesive by spray-cooling: Optimum formulation and processing conditions. *Advanced Powder Technology* [online].

- 2014, **25**(1), 292–300. ISSN 15685527. DOI: 10.1016/j.appt.2013.05.004
9. YOW, Huai Nyin a Alexander F. ROUTH. Formation of liquid core-polymer shell microcapsules. *Soft Matter* [online]. 2006, **2**(11), 940. ISSN 1744-683X. DOI: 10.1039/b606965g
 10. LOXLEY, Andrew a Brian VINCENT. Preparation of Poly(methylmethacrylate) Microcapsules with Liquid Cores. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 1998, **208**(1), 49–62. ISSN 00219797. DOI: 10.1006/jcis.1998.5698
 11. DOWDING, Peter J., Rob ATKIN, Brian VINCENT a Philippe BOUILLOT. Oil core-polymer shell microcapsules prepared by internal phase separation from emulsion droplets. I. Characterization and release rates for microcapsules with polystyrene shells. *Langmuir* [online]. 2004, **20**(26), 11374–11379. ISSN 07437463. DOI: 10.1021/la048561h
 12. TORZA, S a S.G MASON. Three-phase interactions in shear and electrical fields. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 1970, **33**(1), 67–83. ISSN 00219797. DOI: 10.1016/0021-9797(70)90073-1
 13. KNOCHE, Sebastian a Jan KIERFELD. Buckling of spherical capsules. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics* [online]. 2011, **84**(4), 8358–8369. ISSN 15393755. DOI: 10.1103/PhysRevE.84.046608
 14. PAULOSE, J a David R NELSON. Buckling pathways in spherical shells with soft spots. *Soft Matter* [online]. 2013, **9**(34), 8227. ISSN 1744-683X. DOI: 10.1039/c3sm50719j
 15. SALMON, Andrew R, Richard M PARKER, Alexander S GROOMBRIDGE, Armando MAESTRO, Roger J COULSTON, Jonas HEGEMANN, Jan KIERFIELD, Pietro CICUTA, Oren A. SCHERMAN a Chris ABELL. Microcapsule buckling triggered by compression-induced interfacial phase change. *Langmuir* [online]. 2016, submitted. ISSN 0743-7463. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b03011
 16. JOSE, Jissy, Marlous KAMP, Alfons VAN BLAADEREN a Arnout IMHOF. Unloading and reloading colloidal microcapsules with apolar solutions by controlled and reversible buckling. *Langmuir* [online]. 2014, **30**(9), 2385–2393. ISSN 07437463. DOI: 10.1021/la500070s

Acknowledgement

This work has been supported by the university internal research project “Functional polymeric materials” (FCH-S-17-4642). V. Švachová (CEITEC BUT) is also acknowledged for conducting SEM measurement and discussions.

Mechanochemical treatment of talc

Jan Bednárek, Jaromír Havlica, František Šoukal

Introduction

Talc is a hydrous magnesium silicate mineral with a composition given by a formula $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$. It is widely used due to its properties like chemical inertness, softness, adsorption properties, etc. in numerous industrial applications, e.g. ceramic, plastic or paper industry. Talc is a monoclinic magnesium-rich phyllosilicate from the group of talc and pyrophyllite ($(\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$). The structure of talc consists of tri-octahedral sheets of magnesium octahedra which are each sandwiched between two sheets of silicon tetrahedra forming so called T-O-T complex which holds together by weak van der Waals forces. The major gangue minerals of talc ore are in most cases carbonates, serpentine and chlorite. [1], [2].

In opposite to metakaolin, which is produced by calcination of kaolin ore at 650-900 °C, it is not possible to prepare roentgen-amorphous dehydroxylated a delaminated talc phase, so called meta-talc, via thermal dehydroxylation. At 870-1 050 °C talc undergoes endothermic dehydroxylation with an immediate recrystallization of a stable crystalline phase, enstatite, and separation of a silica-rich phase, which recrystallizes to cristoballite during further heating. [1], [3]

Tangential strain induced by the mills of different types can cause the delamination and loss of crystallinity of talc. [1], [4], [5], [6]. Subsequent thermal treatment of delaminated talc provides an option to prepare the delaminated a dehydroxylated roentgen-amorphous phase. This material, termed as meta-talc, can be analogical with delaminated and dehydroxylated metakaolin. This work is forced at an influence of mechanochemical treatment in vibrating mill on structure and thermal properties of talc ore. [1]

Experimental

In this work a talc ore Luzenac H70 (Imerys Talc) was used. 25 g sample was milled in vibrating mill VM 4 for 10; 20; 30 and 60 min. The loss of crystallinity of talc ore during mechanochemical treatment was observed with X-Ray diffractometer Empyrean (PANalytical) using $\text{Cu}(K_\alpha)$ radiation at 40 kV and current 30 mA. A simultaneous TG-DTA-EGA analyzer Q600 (TA Instruments) was used for studying dehydroxylation and changes of thermal properties of talc ore. The sample was heated with the heating rate $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ up to 1 000 °C in air.

Results and discussion

X-Ray diffraction of untreated talc showed that talc ore used in this work was mainly composed from talc and clinocllore ($\text{Mg}_3\text{Al}(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_8$), a mineral belonging to a group of chlorites. Other minerals, e.g. dolomite, muscovite or quartz, were present in minor amount.

As shown in Fig. 1, crystallinity of talc ore was reduced significantly during high energy milling. Milling in a vibrating mill for 10 min led to a reduction of material crystallinity to less than a half. However it is also evident that the progress of peak intensity reduction was different for both main components – talc and clinocllore. After 10 min of milling the talc

peak (9.44°) was reduced to about one quarter of its original intensity and since 20 min there was only quite weak progress in its peak intensity reduction. On the other hand, clinochlore peak (12.46°) intensity was reduced more slowly with more significant differences between individual milling times. Just after 60 min of milling the losses of peak intensity are almost similar for both phases. In this diffractogram it is also evident that quartz (26.64°) is only crystalline phase in this sample which did not undergo amorphisation even after long milling periods. The reason of its resistance to mechanochemical treatment lies in its structure and related hardness. Quartz is consisted of silicon and oxygen atoms bonded with a covalent bond and forms a three-dimensional framework which is tougher than parallel sheets of talc, clinochlore or muscovite.

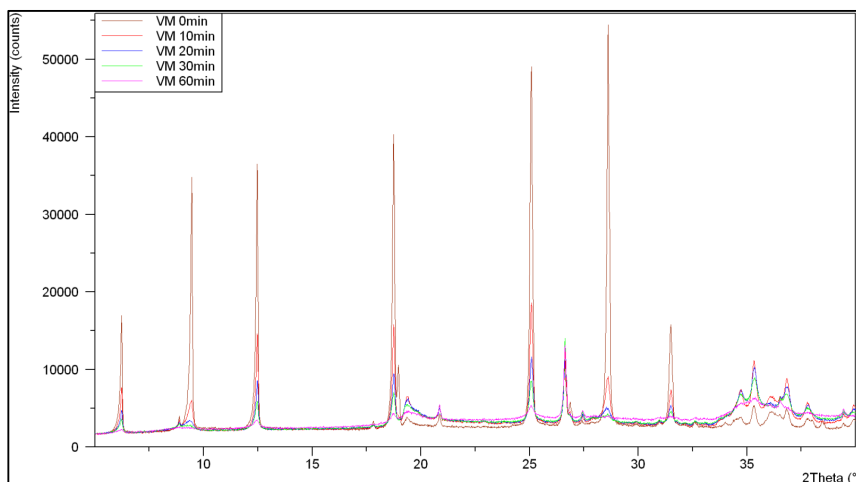


Fig. 1 Effect of milling time in a vibrating mill on crystallinity of talc ore

Thermogravimetric (TG) curves shown in Fig. 2 indicate that loss of weight caused by talc dehydroxylation increased with progressing milling time. First weight loss at about $500\text{--}700^\circ\text{C}$ indicates the dehydroxylation of single octahedral layer placed between two sheets in clinochlore structure. Second weight loss at about $700\text{--}1\,000^\circ\text{C}$ corresponds to dehydroxylation of both talc and clinochlore. Increasing time of mechanochemical treatment led to slight shift of both weight loss areas to lower temperatures. This phenomenon can be explained by gradual amorphisation of sample which leads to enhancement of reactivity.

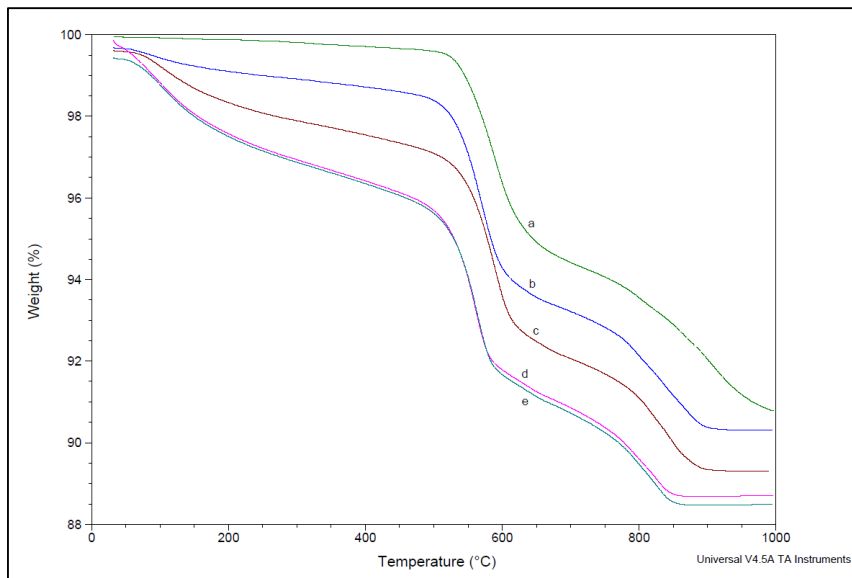


Fig. 2 TG curves of talc ore treated a) 0 min, b) 10 min, c) 20 min, d) 30 min, e) 60 min

As seen at differential thermic analysis curves at Fig. 3, mechanochemical treatment led to forming of water molecules. Endothermic peak at about 100 °C indicates presence of physically bonded water created during milling and adsorbed at talc sample. The amount of physically bonded water in mechanochemically treated sample increases with prolonging of milling period. Another endothermic peak at about 580 °C depicts the dehydroxylation of single octahedral layer of clinocllore. The dehydroxylation temperature shifted to lower values due to mechanochemical treatment. At about 800 °C the sample underwent a dehydroxylation of both main phyllosilicate components which is immediately followed by an exothermic peak. At that temperature a recrystallization of enstatite accompanied with a separation of a silica-rich phase takes place.

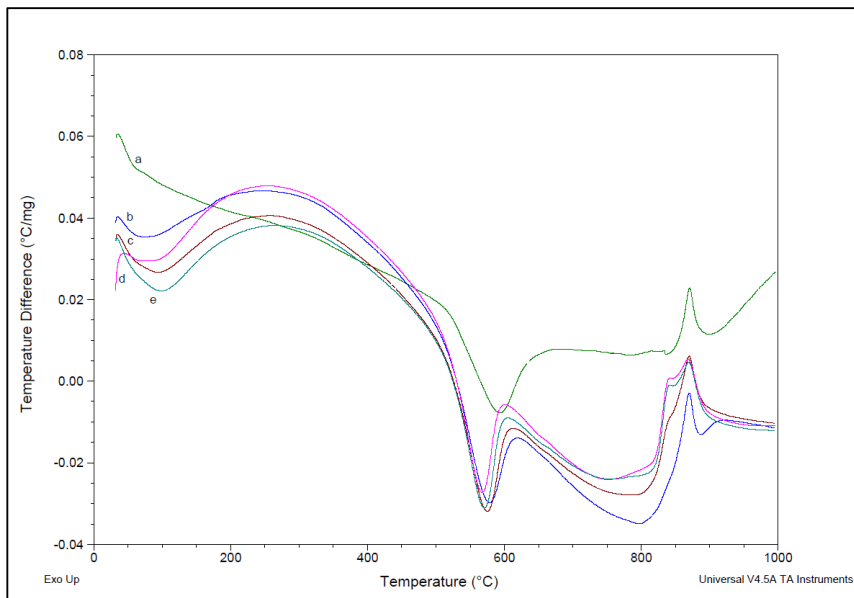


Fig. 3 DTA curves of talc treated a) 0 min, b) 10 min, c) 20 min, d) 30 min, e) 60 min

Conclusion

Talc ore Luzenac H70 consisting mostly of talc and clinochlore was mechanochemically treated in a vibrating mill. Both main phases underwent amorphisation and dehydroxylation due to high energy milling. Some differences in amorphisation progress of both two main phases were observed; the course of talc amorphisation was faster in comparison with clinochlore. Dehydroxylation and water formation were also noticed. Water produced due to mechanochemical activation appeared both as a physical bonded and coordinated in sample structure.

Literature

- [1] PTÁČEK, Petr, Tomáš OPRAVIL, František ŠOUKAL, Jaromír HAVLICA, Jiří MÁŠILKO a Jaromír WASSERBAUER. Preparation of dehydroxylated and delaminated talc: Meta-talc. *Ceramics International* [online]. 2013, **39**(8), 9055-9061 [cit. 2016-02-15]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2013.04.109. ISSN 02728842. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884213005117>
- [2] BABA, Alafara A., Abdullah S. IBRAHIM, Rafiu B. BALE, Folahan A. ADEKOLA a Abdul G.F. ALABI. Purification of a Nigerian talc ore by acid leaching. *Applied Clay Science* [online]. 2015, **114**, 476-483 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.clay.2015.06.031. ISSN 01691317. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169131715300119>
- [3] RASHAD, A. Metakaolin as cementitious material: History, scours, production and composition – A comprehensive overview. *Construction and Building Materials* [online].

- Elsevier, 2013, **41**: 303-318 [cit. 2015-11-10]. ISSN 0950-0618. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950061812009543>
- [4] FLAMENT, Marie-Pierre, Pierre LETERME, Mohamed BIZI, Gerard BAUDET a Anne GAYOT. Study of talcs as antisticking agents in the production of tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2002, **17**(4-5), 239-245 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/S0928-0987(02)00217-8. ISBN 10.1016/0040-6031(94)80219-X. ISSN 09280987. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098702002178>
- [5] YANG, Huaming, Chunfang DU, Yuehua HU, Shengming JIN, Wuguo YANG, Aidong TANG a E.G. AVVAKUMOV. Preparation of porous material from talc by mechanochemical treatment and subsequent leaching. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2002, **17**(4-5), 239-245 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.clay.2005.10.015. ISBN 10.1016/j.clay.2005.10.015. ISSN 09280987. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169131705001493>
- [6] KANO, Junya, Miyuki MIYAZAKI, Fumio SAITO, Shengming JIN, Wuguo YANG, Aidong TANG a E.G. AVVAKUMOV. Ball mill simulation and powder characteristics of ground talc in various types of mill. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2002, **17**(4-5), 239-245 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1163/156855200750172204. ISBN 10.1163/156855200750172204. ISSN 09280987. Dostupné z: <http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/156855200750172204>

Thin Films of Tetravinylsilane Characterized by Spectroscopic Ellispometry

*Martin Bránecký,
Vladimír Čech*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Chemistry
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
E-mail: xcbranecky@fch.vut.cz*

We prepared thin films from vapor of tetravinylsilane (TVS) monomer using plasma-enhanced chemical vapor deposition (PECVD) with a process gas pressure of 2.7 Pa at a monomer flow rate of 3.8 sccm. Thin films were deposited at different powers using continuous wave (10-70 W) and pulsed (2-150 W) plasmas (13.56 MHz). In situ phase-modulated spectroscopic ellipsometer (UVISEL, Jobin-Yvon) operated in range 250-830 nm was used to determine the film thickness and optical properties like refractive index and extinction coefficient in a form of dispersion curves. For a selected wavelength of 633 nm, the refractive index increased from 1.7 to 2.3 and the extinction coefficient was ranging from 0 to 0.15 with enhanced power. The dielectric function of films evaluated by spectroscopic ellipsometry was fitted by Tauc-Lorentz formula to determine the band gap, which decreased from 2.7 eV (2 W) to 0.7 eV (150 W) with enhanced power. The optical properties of films dependent on the power were similar for continuous wave and pulsed plasmas. The deposition rate for continuous wave and pulsed plasmas varied from 82 to 262 nm/min as a function of power.

Keywords: PECVD, Spectroscopic Ellipsometry, Refractive Index, Extinction Coefficient, Band gap

Possibilities of elimination of ammonia slip from technological water in power plants

*Hajzler Jan, Ing.
Opravil Tomáš, Ing., Ph.D.*

*Brno University of Technology,
Faculty of chemistry,
Institute of Materials Chemistry
xhajzlerj@fch.vutbr.cz*

This paper deals the possibilities of eliminating or separation of ammonium shares from technological water from plants; where a secondary method of flue gas denitrification (SCR, SNCR) is introduced. The necessity of ammonium shares elimination arose after introduction of emission cap, which have been tightened since January 2015. The denitrification technologies were installed on devices that did not comply with the new limits. The description of combustion processes, as a fluid, and high temperature combustion of solid fuels, mechanisms of emissions and their reduction options is here introduced. The contents of the ammoniacal nitrogen in technological waters used in electricity and heating facilities to transport, or from which are separated by solid products of some processes such as desulfurization is discussed. Some options of the ammonium salts removal from technological waters are also discussed. The obtained experimental results showed an appropriate method of determination of ammoniacal nitrogen, and the possibilities of its elimination by conversion to insoluble compound. Last but not least, the work deals with the real possibilities of their application in practice.

Keywords: Ammonia slip, SCR, SNCR, Nitrogen determination

Synthesis of Metallic Nanoparticles by Electrical Discharge in the Liquid

Jakub Horák

Anton Nikiforov, Christophe Leys, Ke Vin Chan, František Krčma

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry,
Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
xchorakj@fch.vut.cz*

Nanoparticles synthesis and their application for many different purposes belong to hottest topics of the current research. Commercially offered nanoparticles suffer from agglomeration in time and therefore they are unsuitable for long-term storage. This work deals with development of a new method of preparation silver and copper nanoparticles in-situ. Nanoparticles are prepared by bottom-up process from their inorganic salts solutions by electrical discharge at normal conditions (room temperature and atmospheric pressure). It is observed that particles with size below 100 nm are produced in the cathode zone of the discharge apparatus. Remarkably, the nanoparticles are prepared without use of any stabilization agent and free of agglomeration during the storage. Nanoparticles prepared under various operational conditions were characterized by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) and scanning electron microscopy (SEM). Following research will be focused on nanoparticle properties and quantity improvement. Prepared particles will be consequently used for further research of their antibacterial activity on various substrates.

Keywords: nanoparticles, electrical discharge

Screen Printing and Characterization of Thick Layer Electroluminescence Panels

Michal Hrabal

Lukáš Omasta, Martin Vala, Martin Weiter

*Brno University of Technology,
Faculty of Chemistry,
Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118
612 00 Brno
xchrabalm@fch.vut.cz*

Electroluminescence (EL) is an opto-electrical phenomenon where a material emits light when a strong electric field is applied. The printing of thick layer alternating current electroluminescent (AC-EL) panels is currently the most suitable technology for fabrication of large area, highly patterned light emitting sources. The whole structure can be printed on both glass or polymer substrate so it is possible to prepare flexible devices in various shapes and sizes. Screen printing is ideal technique for preparation of AC-EL panels due to its ability to deposit thick layers with limitless possibility of patterns.

Our device is fully printed via screen printing machine RokuPrint SD 05 where the first layer is a transparent indium-tin oxide (ITO) as a front electrode. Next layer is an active phosphor material (ZnS) with thickness around 30 μm which is covered by double layer of dielectric (BaTiO_3) $\sim 17 \mu\text{m}$ thick. The last layer is silver rear electrode with conductive busbar around 10 μm thick. Thickness of the layers was taken by mechanical profilometer Dektak XT. The working panel is then encapsulated to minimize risk when operating the device. Optimal printing parameters such as velocity of printing, off contact distance, stress, etc. were found when printing on either glass or plastic substrates.

AC-EL panel was connected to an alternating current high frequency power source and irradiance and wavelength of emitted light was taken by fibre optic spectrophotometer. It can be seen from profilometry and optical measurement that critical step is to print the active layer to improve performance of our light emitting panels. More work will be done to achieve smooth and above all homogeneous active layer.

Keywords: Screen printing, Electroluminescence, ZnS, Dielectric, Phosphor

This work was supported by Ministry of Industry and Trade via project No. FV 10278-1, research infrastructure was supported by projects MŠMT No. LO1211 and FCH-S-16-3393.

Hydrogels based on cationic polyelectrolytes

JARÁBKOVÁ Sabína, MRAVEC Filip, SMILEK Jiří, PEKAŘ Miloslav

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
xcjarabkova@fch.vut.cz*

1 Introduction

Polymers can interact with oppositely charged surfactants via electrostatic forces. These electrostatic interactions can form many types of colloids or nanocolloids.¹ Hydrogels are colloidal materials which can be, under proper conditions, prepared by this way. Dispersion phase in gels is in liquid state and dispersed phase (colloidal “particles”) is in solid state. Hydrogels can be formed at sufficiently high concentration of surfactant, the surfactant micelles can act as crosslinking points and gelled material is formed. Surfactant micellar structures form hydrophobic domains in these hydrogels and these domains are in scale of nanometers. Behavior of gels depends on the density of its network.² The combined occurrence of polymers and surfactants is found in such diverse products as cosmetic, paints, detergents, drugs, pesticides and so on.¹ Nanodomains in these gels should be capable of solubilization of hydrophobic substances. If there are no problems of biocompatibility, gels can be used in applications in different fields related to human health. It includes e.g. pharmaceutical, bioengineering, (bio)medicine, drug delivery. These gel materials can be explain as hybrid – hydrophilic-hydrophobic – materials from the point of view of polarity of their constituents.²

This work is focused on the preparation of such gels from positively charged polymers and negatively charged surfactants and on the study of their rheological properties.

2 Experimental

Dextran hydrochloride (powder prepared from dextran of average molecular weight 500 000) was purchased from Sigma Aldrich and used as cationic polysaccharide without further treatment. Sodium dodecylsulphate ($\geq 99.0\%$), cationic surfactant, was purchased from Sigma Aldrich and used as received. Gels were prepared by mixing stock solution of polyelectrolyte and stock solution of surfactant. Stock solutions were prepared in deionized water (Purelab Flex, ELGA) or in 0.15 M NaCl. Stock solutions of dextran hydrochloride were prepared at concentrations of 1 and 4 weight % and stock solutions of surfactant were prepared at concentrations of 100 and 400 mM. Equal volume of stock

solution of polysaccharide and equal volume of stock solution of surfactant was mixing in vials and gel was prepared. Gels were prepared in four different concentrations as given in Table 1. The vials were left on a shaker overnight. Gelation process was completed and gel phase was separated.

Table 1: Final concentrations of substances in prepared gel systems

sample	polyelectrolyte weight %	surfactant mM
1	2	200
2	0.5	50
3	2	50
4	0.5	200

For solubilization tests was used Oil red O as hydrophobic dye. Oil red O was purchased from Sigma Aldrich too. Solubilization capabilities were tested visually. A small amount of oil red O was added to vials with prepared gel systems. They were left solubilize on shaker overnight.

For solubilization test was used prodan as a universal fluorescent probe too. Stock solution of prodan was prepared in acetone at concentration 0.2 mM. Stock solution of prodan was first added to the vials. Final concentration of prodan was 0.2 μ M, acetone was left to evaporate and then the gel preparation followed as described above. Fluorescent spectra were measured at laboratory temperature using Fluorolog (Horiba Scientific) and the excitation wavelength of 361 nm and emission wavelength of 400 – 570 nm.

3 Results and discussion

In this case the aqueous environment had visible influence on the gel formation. Gel was formed only with the sample composition 3 when deionized water was used. In other sample compositions was only clear solutions resulted probably due to the disruption of micelles which then could not serve as crosslinking points. In the environment of 0.15 M NaCl gels were formed in all of sample compositions. The amount of the formed gel was dependent on the concentration of both compounds in the vials. The higher the polymer and surfactant composition formed the higher amount of gel, but concentration of polymer had higher effect of gel amount.

Solubilization tests confirmed the presence of hydrophobic domains in samples 1, 2 and 4. Solubilization effect is showed in Figure 1 (see the red color of the gels and the red color of the supernatants). Red color of supernatants indicates that not all micelles were incorporated into gels. In the case of sample 3 only the gel was colored and sank in colorless supernatant. This means that all micellar structures were incorporated into gel phase so hypothetically this gel phase was strongly hydrophobic and therefore it could be useful for medical applications, especially for hydrophobic drugs (substances).

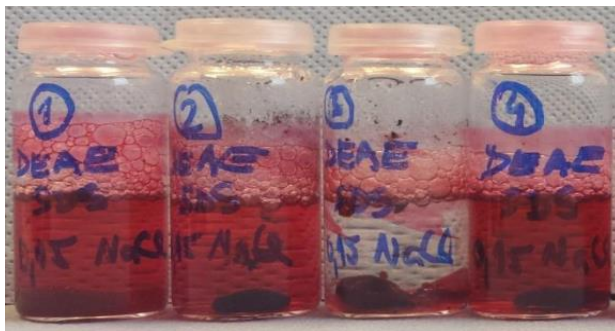


Figure 1: Results of solubilization tests of dextran hydrochloride gels prepared in 0.15 M NaCl.

Figure 2 shows the dependence of both rheological moduli on the deformation frequency. It is clear that mechanical properties of the gels can be controlled in a wide range by the composition of the gelling system. There were measured frequency oscillation tests to obtain both of rheological moduli. Measurements were carried out at constant strain amplitude of 1% and changing the frequency oscillation of the sensor in the range of 0.01 – 200 rad s⁻¹.

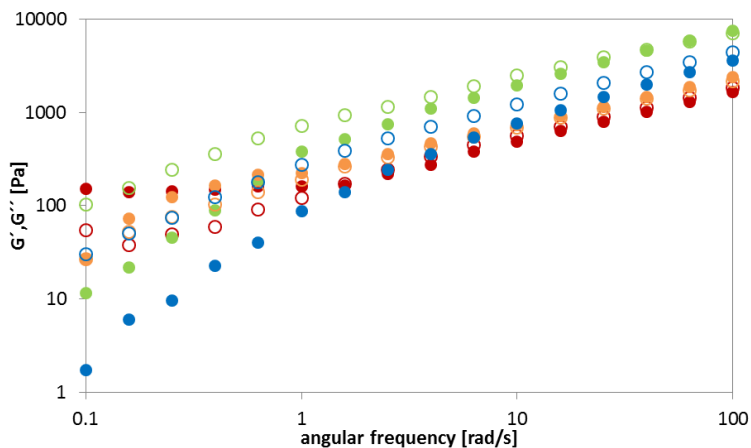


Figure 2: Storage (filled symbols) and loss (empty symbols) moduli of dextran gels prepared in 0.15 M NaCl. Sample 1 (blue), sample 2 (orange), sample 3 (green), sample 4 (red).

In the case of dextran hydrochloride hydrogels both of moduli had a substantially lower values indicating a mechanically weaker materials. Further, the loss modulus for dextran sample composition 1 and 3 is higher than the storage modulus for (almost) all

frequencies. It indicated that these samples were more viscoelastic liquids than true soft solid materials. Both moduli of sample composition 2 had very similar values whereas sample composition 4 showed untypical behavior – the storage moduli was higher (and almost frequency-independent) at low frequencies and then, at medium and high frequencies, practically equal to the loss modulus. Generally, the values of all moduli of all samples increase with the frequency and do not reach the high frequency plateau. This means sparsely crosslinked material with lower crosslinking density.

3.1 Fluorescent probe

As a fluorescent probe was used prodan because is sensitive to its environment and capable of solubilization in both hydrophobic and hydrophilic domains. Prodan is dependent on the polarity of the environment. In cyclohexane is the maximum of emission spectra located at around 401 nm, in ethanol at around 496 nm and in water at around 531 nm. In dextran gels maximum was located at around 477 nm. Thus, in these gels were prodan molecules located in domains of lower polarity. Location of prodan is dependent on the type of polyelectrolyte.

4 Conclusion

Dextran hydrochloride can interact with oppositely charged surfactant SDS and form physically crosslinked hydrogels (under proper conditions). Resulting gel materials contain hydrophobic nanocontainers which are able to solubilize hydrophobic compounds (molecules). Structure and rheological properties depend on the concentration of polyelectrolyte and surfactant. These materials can be used in many applications, especially in medicine for drug delivery systems or topical treatments.

5 References

1. HOLMBERG, K., JÖNSSON, B., KRONBERG, B., LINDMAN, B. *Surfactants and polymers in aqueous solution*. Chichester: Wiley, 2007. 545 p.
2. PEKAŘ, M. *Hydrogels with micellar hydrophobic (nano)domains*. *Front. Mater.*, 2015, vol. 1, article 35. pp. 1-14.

Acknowledgements

This work has been supported by the Czech Science Foundation, project No. 16 – 12477S and by the project LO1211 from National Programme for Sustainability I (Ministry of Education, Youth and Sports).

Characterization of colloid particles by excited-state proton transfer with advanced fluorescence techniques

Jan Kotouček

Miloslav Pekař, Jakub Mondek

*University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
xkotoucek@fch.vut.cz*

1 Introduction

Steady-state and time-resolved fluorescence of α -naphthol and HPTS (8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulphonic acid) in the environment of hyaluronan or PSS (polystyrene sulfonate) complexes with cationic surfactant CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) and Septonex were measured. The measurement was used for characterization of the hydration shell of hyaluronan and his influence on micellar complex of hyaluronan with surfactants. PSS measurement was used to compare the effect of hydration shell on deprotonation characteristics of individual probes. In the complex of PSS with cationic surfactants the presence of significant hydration shell is unanticipated¹. For the determination of deprotonation properties of these fluorophores, steady-state and time-resolved fluorescence of α -naphthol and HPTS in a water and in ethanol mixtures were measured.

Fluorescent probes which have been mentioned above, undergoes proton transfer during excitation. Excited state proton transfer reactions are one of the basic photochemical reactions. These reactions are isomerization reactions in which the individual isomers maintain balance and through tautomerization reactions may move from one isomer to another². The driving force for the photo induced proton transfer is change of acidity or basicity of the functional groups³. In molecules with naphthol or phenol nucleus, because of excitation, shift of electron density from the oxygen atom in functional group to the aromatic nucleus occurs. The result of this shift is rapid increase of acidity in excited molecules compared to the molecules in the ground state². If there is molecule of solvent which can acts like an acceptor of proton, due to the shift of acidity on functional group, deprotonation of functional group (hydroxyl group) can occurs. This deprotonation process is called excited state intermolecular proton transfer or ESPT. Transfer of the hydrogen proton arise anionic form of the fluorophore, which can either react with another molecule, or it can relax on the ground state⁴.

Relaxation to the ground state result in reprotonation and releasing of excess energy in the form of emission from anionic form of the probe with a characteristic bathochromic

shift compared to the emission of neutral form. This shift is due to the large energy losses. Energy losses are due to geometric changes taking place on the molecule during the proton transfer. In the absence of a protons acceptor tautomerization reactions and formation of anionic or cationic forms of the probe can be suppressed. The whole process of proton transfer strongly depends on the nature of the environment, its ability to form a hydrogen bond and on the conformation of the molecule^{4,5}.

Another possibility for an excited state proton transfer is intramolecular proton transfer or ESIPT. In that case, the acceptor and the proton donor group is located on the same fluorophore at a given distance and in the correct orientation to form the intramolecular hydrogen bond⁴. In many cases, excited state proton transfer can result in a dual emission spectrum. Dual spectrum is consisting from the emission spectrum of the neutral form and in the emission spectrum of the anionic or cationic form of the molecule.

As mentioned earlier, fluorescent properties of fluorescent probes were measured in different environments of micellar solution of cationic surfactants with complex of anionic polymers, hyaluronan or PSS. Solutions of micellar colloids at low concentration show a characteristic course of the physical properties depending on the concentration. Micellar colloids, at low concentration, forms true solutions. At higher characteristic concentrations, hydrophobic parts of the molecules try to minimize contact with the solvent and aggregates are formed. This concentration is called the critical aggregation concentration (CAC). Further increases of concentrations, up to critical micellar concentrations (CMC), structures like micelles are formed⁶.

2 Experimental

Hyaluronan (1500 – 1750 kDa) was purchased from Contipro Biotech s.r.o. Referent polymer, PSS (1 MDa) was purchased from Sigma-Aldrich Chemistry. Cationic surfactants, CTAB was purchased from Sigma-Aldrich Chemistry and Septonex was purchased from GNB Chemistry.

To characterize the resulting complexes two fluorescent probes undergoing proton transfer in the excited state were used, namely, α -naphthol and HPTS both were purchased from Sigma Aldrich and used as received.

The concentration of the probe in the samples for determination of the effect of the surfactant on hydration of the probe was for α -naphthol $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ and $5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ for HPTS. Constant concentration of hyaluronan or PSS in the sample was $7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Surfactant concentration was in ranged from 0 to $2 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. For determination of the effect of hyaluronate on hydration of the probe concentration of probes as was the same as in was mentioned above. The surfactant concentration was constant for each row 3 mM, 5 mM, 7 mM, 10 mM and 20 mM. The concentration of hyaluronan or PSS in the row was in ranged from 0 to $15 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. The total volume of one of each sample, using deionized water as the solvent, was 5 cm^3 .

For measurement of the fluorescence spectra of the fluorophores Fluorolog system was used. For measurement of the lifetimes Fluorocube system was used, both systems are from Horiba Scientific. From these measurements, deprotonation rate constant⁷ and dissociation constant were calculated⁸.

3 Results and discussion

Emission characteristic of α -naphthol for the various surfactants were significantly different. While in the system of hyaluronan – CTAB, fluorophore was solubilized between the interface of polymer and micelles Stern layer (*Figure 1*). Around micelles hydration shell is formed, which then passes into bulk of water. This hydration shell is merged with hydration shell of hyaluronan chain.

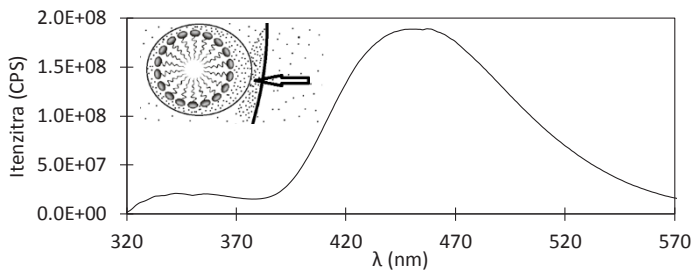


Figure 1: Emission spectrum of α -naphthol in complex of hyaluronan – CTAB, with emission maximum of anionic form located around 460 nm and emission maximum of neutral form located around 350 nm. Schematic representation of the position of the probe in the complex of micelles and the chain is insert.

In the complex of hyaluronan – Septonex, α -naphthol, due to the decreasing in the fluorescence intensity anionic form and increasing of fluorescence intensity of the neutral form, was solubilized into the hydrophobic part of the micelle. Schematic representation is given in *Figure 2*.

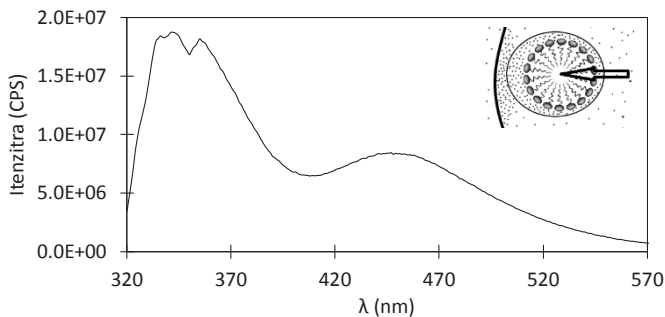


Figure 2: Emission spectrum of α -naphthol in complex of hyaluronan – Septonex, with emission maximum of anionic form located around 460 nm and emission maximum of neutral form located around 350 nm. Schematic representation of the position of the probe in the complex of micelles, and the chain is inserted

Differences in the individual surfactants are shown in different dissociation constants, pK_a^* when the micelles of Septonex, where α -naphthol is not affected by hydration shell of hyaluronan and dissociation constants achieve the same numbers as in the case of 60% ethanol (Table 1). The same trend can be observed on dissociation constants in the polymer PSS. Where hydration shell is unanticipated and thus do not affect even the CTAB micelles. Compared PSS – CTAB at hyaluronan – CTAB, impact of the hydration shell is noticeable, dissociation constant pK_a^* reaches lower values in average. In an organized environment like micelles, proton transfer rate is considerably slowed down compared to the bulk of water. The rate of proton transfer in hyaluronan – CTAB system is higher in average compare to the values in the system of Septonex (Table 2). Due to the different location and hydration of probe. In the micellar solution of the individual surfactants (3 to 20 mM) concentration of hyaluronan was also increased. Increasing the concentration of hyaluronan in micellar solution of surfactant showed an insignificant influence on the emission characteristics of the fluorophore. But there is a noticeable impact overall surfactant concentration. With increasing concentrations of Septonex fluorescence intensity of deprotonated form were reduced and the increasing intensity of fluorescence neutral form of the probe was recorded. Also, deprotonation constants 20mM Septonex were different compared to 3mM more than doubled.

Table 1: Dissociation constant in excited state of α -naphthol in different mixtures of ethanol in water and in different complexes of hyaluronan (Hya).

EtOH (%)	pK_a^*
100	-
90	2.96
80	2.66
60	2.48
20	2.42
10	0.41
0	0.32
Hya – Septonex	2.0
Hya – CTAB	1.5
PSS – Septonex	2,3
PSS – CTAB	2.1

Table 2: Deprotonation constant in different complex of hyaluronan (Hya).

System	k_{pt} (ns ⁻¹)
Hya – Septonex	2.3
Hya – CTAB	3.3
PSS – Septonex	1.5
PSS – CTAB	1.9

HPTS measurement confirmed the interaction of the surfactant and hyaluronan before reaching the critical micelle concentration. All emission spectra anionic form HPTS in hyaluronan showed a similar pattern (Figure 3). Before the critical aggregation concentration there was a slight decrease in the intensity. The decrease reached a minimum with first creation of aggregates. Then there is a reorganization of the entire

system and the emergence of classical micelles. Which leads to self-quenching probe, accompanied by a sharp decrease in fluorescence intensity.

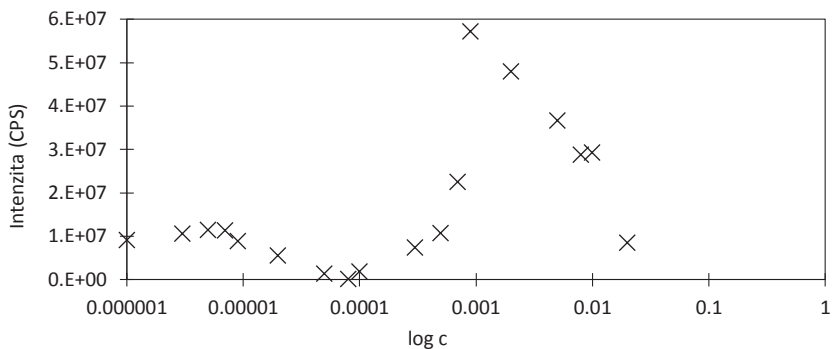


Figure 3: Plot of emission intensity (in maximum) of HPTS anionic form on logarithm of the concentration of CTAB in complex with hyaluronan.

4 Conclusion

Due to solubilize α -naphthol in the Stern layer, it would be expected that due to the growing concentration of CTAB and hyaluronan interfacial surface, hydration surface, become larger and thereby increase the fluorescence intensity of both anionic and neutral emission form of the probe would grow. Therefore, it can be assumed that if the hydration shell of hyaluronan occurred along the entire length of his chain, there would be significant changes in the deprotonation characteristics of the of the neutral form of the fluorophore. In this case, it appears that the hydration shell is concentrated nearby to the negative charge of dissociated carboxyl groups, where there is also interaction with the positively charged surfactant, and α -naphthol is solubilized in the resulting interfacial.

5 References

1. MONDEK, Jakub a Miloslav PEKAŘ. The change in excited-state proton transfer kinetics of 1-naphthol in micelles upon the binding of polymers: The influence of hyaluronan hydration. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2015, 129, 168-174 [cit. 2017-03-05]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.04.060. ISSN 01448617. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861715003768>
2. CHOWDHURY, Papia, Rakesh KUMAR, Prakash CHANDRA SATI a Anirban PATHAK. Study of Proton Transfer Reaction Dynamics in Pyrrole 2-Carboxyldehyde: Department of Physics and Material Science & Engineering [online]. Jaypee Institute of Information Technology University, Noida, 2013 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://arxiv.org/pdf/0901.3830.pdf>

3. WAN, Peter. a Deepak. SHUKLA. Utility of acid-base behavior of excited states of organic molecules. *Chemical Reviews* [online]. 1993,93(1), 571-584 [cit. 2017-03-05]. DOI: 10.1021/cr00017a024. ISSN 0009-2665. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr00017a024>
4. VETOKHINA, Volha. Spectroscopy, photophysics, conformational equilibria, and photoinduced tautomerization in selected bifunctional proton donor-acceptor azaaromatic molecules: Institute of Physical Chemistr [online]. Polish Academy of Sciences ul. Kasprzaka 44/52, O 1-224 Warsaw, 2012 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: http://rcin.org.pl/ichf/Content/26026/WA333_44315_F-B444-13_Vetokhina.pdf. Vedoucí práce Prof. dr hab. Jerzy Herbich.
5. PINAKINBHAI JANI, KRUPA. THE PHOTOCITIZED REACTION AND MECHANISM OF 8-HYDROXY QUINOLINE-5-SULPHONIC ACID USING METHYLENE BLUE (MB) AS PHOTOCITIZER. *Sci. Revs. Chem. Commun* [online]. Government Science Collage, GANDHINAGAR (Guj.) INDIA, 2014, 69-79 [cit. 2017-03-05]. ISSN 2277-2669. Dostupné z: [http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2014/4_182_4\(2\)2014_SRCC.pdf](http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2014/4_182_4(2)2014_SRCC.pdf)
6. BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav [online]. Vyd. 6., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010 [cit. 2017-03-06]. ISBN 978-80-7080-745-3. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/obalka-1.html
7. GIESTAS, Leticia, Chang YIHWA, João C. LIMA, Carolina VAUTIER-GIONGO, António LOPES, Antonio L. MAÇANITA a Frank H. QUINA. The Dynamics of Ultrafast Excited State Proton Transfer in Anionic Micelles + [online]. [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1021/jp0265900. ISBN 10.1021/jp0265900. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp0265900>
8. Excited-state properties of 2-naphthol (the acidity constants): INTRODUCTION. In: California State University, Northridge [online]. Northridge, 2009 [cit. 2017-03-07]. Dostupné z: <https://www.csun.edu/~jeloranta/CHEM355L/experiment6a.pdf>

Acknowledgements

This work has been supported by the Czech Science Foundation, project No. 16 – 12477S and by the project LO1211 from National Programme for Sustainability I (Ministry of Education, Youth and Sports).

Effect of Solvent in the Deformation Behavior of Hydrogels

Eva Kulovaná

Jan Židek

Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Science

Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic

xckulovana@fch.vut.cz

1 Introduction

Solvents have a crucial influence on the properties of materials^{1,2}. Hydrogels are macromolecular networks swollen in water that absorb large amounts of water. Ions bridging the macromolecular chains serve as the common model of ionomer crosslinks³. The good example of such a crosslink is the alginate with Ca^{2+} ions. They have a strong influence on the viscoelastic properties⁴. In our model, the molecule of water has only a partial charge on oxygen. It is not sufficient to create strong ionic crosslinks, but some effect on behavior can be expected. Hydrogels can be classified into chemically and/or physically-crosslinked networks and each type of network has different mechanical properties. Hydrogels are usually weak and brittle, therefore in last years the interest in tough hydrogels increased. Tough hydrogels can be classified according to network structure⁵, this article is mainly focus on hybrid networks (chemically and physically-crosslinked networks).

The aim of this article is focused on the effect of the solvent in the deformation behavior of hydrogels. The subject of our study is to clarify how the water influences the viscoelastic behavior of hydrogels. When the water is closed to two macromolecular chains, it can form 'water bridges', as well as chemical crosslinks form the bridging of molecules. Chemical crosslinks will be analyzed by hybrid models, on the other hand water bridges will be analyzed by the variation of partial charge on polyethylene glycol chain. The investigation should reveal the dynamic structural changes during the forward and reverse deformation, so the solvation of hydrophilic chains that can be controlled by partial charge on the deformation will be studied. From the partial charge Bjerrum length can be calculated, which is a criterion that classifies the networks according to the presence of water in solvation zone. Finally, the structural recovery of both chemical and water crosslinks will be mapped.

2 Experimental

Physical and hybrid models were created by molecular dynamics using GROMACS software⁶. The initial simulation box was set as a cube with 5 nm side length. The box was deformed at deformation rate of 0.1 ns⁻¹ in the direction of the z-axis. Along the x(y)-axis, the model box was compressed in order to keep the volume constant. The energy density was recorded during the simulation.

The real representation of hydrogel visualized by VMD software⁷. The original model of gel was proposed to mimic the real hydrogel with physical crosslinks (PCLs) in the form of acrylic acid (AA) clusters⁸. The structure of hydrogel was formed by hydrophilic polyethylene glycol (PEG) chains crosslinked by micelles of poly-lactide glycolide (PLGA) and acrylic acid (AA). Real hydrogels are mostly composed of micelles. The real micelles are reduced in our models to the minimalistic structure of interacting clusters of AA. The core of micelle was made of physically interacting acrylic acid (AA) groups, whereas the shell was formed by hydrophilic PEG chains. Micelles (physical crosslinks PCLs) were connected by flexible PEG chains that were considered entangled and periodic. The model involved eight chains, each chain consisted of 20 AA groups and 60 monomeric units of PEG, where each AA group alternated with 3 monomeric units of PEG. Between two AA groups strong interaction (50 kJ mol⁻¹) was set. The simulation box was solvated by 2447 molecules of water using standard Simple Point Charge (SPC-E) model of water. Before the equilibration the interacting AA groups were distributed uniformly. After the equilibration of the polymer network with water the AA groups were assembled to the clusters.

The chemical cross-link (CCL) was simulated as additional bonding interaction between two atomic groups. Crosslinks were added between the closest segments of two neighboring chains (intrachain CCLs were not taken into account) so that original structure of the physically crosslinked network kept unchanged. The atomic pairs for formation of CCLs were assumed to follow three conditions:

- A CCL can be formed only between two carbon atoms from PEG chain. Thus, oxygen atoms and AA groups were excluded from the formation of cross-link.
- Distances of initial atomic groups that were able to form a CCL must be shorter than 0.4 nm.
- The atomic groups forming a CCL must belong to different macromolecular chains to prevent formation of chain loops.

In every simulation box approximately 120-150 pairs that were able to form CCL were found. The number of CCLs was added in range 0 to 64 CCLs per box. However, the number of CCL depended on the size of simulation box. From this reason the number of CCLs was converted to structural parameter *cpc* (abbreviates chemical/physical crosslink ratio), which was independent on the size of simulation box. Hence, the key structural parameter *cpc* can be expressed as a ratio of number of chemical crosslinks (n_{CCL}) relative to number of AA clusters (physical crosslinks n_{PCL}) in the simulation box:

$$cpc = \frac{n_{CCL}}{n_{PCL}} \quad (1)$$

The PCLs were formed spontaneously, and their number cannot be controlled. On the other hand, the CCLs were formed randomly, they mostly appeared in vicinity of PCLs. Hence, a structural component PCL/CCLs was defined. Such combined structural

components were marked as hybrid crosslinks, which enabled us to define the four structural types of network.

2.1 The physical and chemical crosslinks

First, deformation behavior of physical and hybrid models (with physical and chemical crosslinks) was studied. The dependence of deformation behavior on the type of network was summarized in Table 1:

Table 1: The dependence of deformation behavior on the type of network

cpc	Description of network	Crosslinks	Deformation behavior
0.00	Chemically uncrosslinked	Only PCL	Physical type of network with softening phase
0.70	Lightly chemically crosslinked	$n_{\text{CCL}} < n_{\text{PCL}}$	Similar to purely physical network
1.45	Moderately chemically crosslinked	$n_{\text{CCL}} > n_{\text{PCL}}$	Between physical and covalent type of network
3.05	Strongly chemically crosslinked	$n_{\text{CCL}} > n_{\text{PCL}}$	Covalent type of network

With increased degree of chemical crosslinking, the network was structurally more similar to the covalent network. It was assumed that the additional chemical crosslinking would inhibit the hysteresis. Hence, the degree of chemical crosslinking was gradually increased and hysteresis during deformation was detected for different networks. The hysteresis vanished, when the concentration of chemical crosslinks reached approximately 3 CCLs per one PCL ($cpc = 3.05$). The other networks up to $cpc = 1.45$ show deformation behavior similar to the physical network $cpc = 0$. The network with $cpc = 1.45$ shows hysteresis, however the network with $cpc = 3.05$ was completely elastic. Hence, if the network includes enough chemical crosslinks, the network response can be considered as elastic.

2.2 Water bridges

Further, variations of charge on polyethylene glycol chain of physical model were investigated. Model molecular chains presented in this work have a variable charge on oxygen from 0 to -1 . Such range is larger than usual charges in real materials. The partial charges in polyethylene glycol were calculated by extended Hückel analysis. The positive charge on CH_2 group was $(+0.175e)$ and $(-0.35e)$ on oxygen. The value e is elementary charge. The extended Hückel analysis probably underestimates the absolute value of charge on the chains. The real charges on PEG are probably $(\delta_{\text{CH}_2} > 0.175)$ and $(\delta_{\text{O}} < -0.35e)$. The range of accessible partial charges is relatively broad from -0.35 polyethylene glycol to -0.75 in proteins. In this range one can influence the charge by composition. Much higher charges (< -1) can be reached by dissociation of ionic bond, but in this case, the electrostatic equilibrium influences also the acid basic equilibrium.

All deformation functions show certain hysteresis (Fig.1). It was observed in our model, that hysteresis grows with the charge on the hydrogel network. However, the contribution of charge was not linear. It seems that the properties change sharply at a certain charge. Up to $\delta_{\text{O}} = -0.4$ the charge does the viscoelasticity is small. The network

with partial charge $\delta_o = -0.6$ has slightly larger hysteresis than previous networks, but it is still very similar to the networks with low charge ($\delta_o = 0$ to -0.4). Starting from the charge $\delta_o = -0.8$, the networks are significantly viscoelastic. It is known that the presence of highly charged groups plays a role in hysteresis of deformation and there is sharp change in properties between charge $\delta_o = -0.4$ and -0.8 . Even the small change on oxygen shows certain hysteresis. There is not observed qualitative change of behavior. Moreover, the classification of the limit network with charge $\delta_o = -0.6$ according to Fig.1 is ambiguous, whether it is still the network with low charge or with high charge. Thus, the presence of ‘water bridges’ appears up charge $\delta_o = -0.6$ and causes the more viscoelastic response of network.

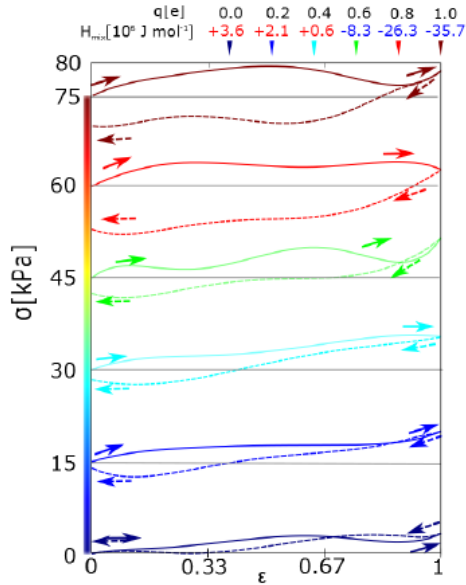


Figure 1: Stress strain curves of forward-reverse shear deformations for networks with different partial charges. Charges on oxygen from PEG were $\delta_o = 0.0$ to -1.0 . Solid lines are forward deformation, dash lines are reverse deformation. All curves show the hysteresis. The curves for $\delta_o = 0.20 - 1.0$ were shifted equidistantly along the y-axis for better visibility.

Next, it was analyzed the presence or absence of the connection of two macromolecular chain (bridging molecules). A network with a partial charge of -1.0 has up to 141 molecules of water per simulation box, network with partial charge -0.8 has 79 molecules per simulation box, and the network with -0.6 charge 5 molecules per simulation box. Networks with charges of -0.4 to 0.0 have no such molecule. The expected change in structure is between -0.6 and -0.8 as was observed by deformation response. Recently, the influence of covalent crosslinks was investigated⁹. We have proposed the input variable ratio number covalent/number physical crosslinks: *cpc*. Analogously, one can recalculate the number of water bridging molecules to the number of physical

crosslinks (wpc). In this case $wpc_{-1.0} = 7.05$, $wpc_{-0.8} = 3.95$, $wpc_{-0.6} = 0.25$, and $wpc_{\geq -0.4} = 0$. The comparison of values of cpc and wpc enables one to see the difference between the acting of the covalent crosslinks and the water bridges. In general the addition of covalent crosslinks shifts the deformation behavior to a more elastic behavior, whereas the water bridges cause increased viscoelasticity.

2.3 Recovery

Finally, the structure recovery of the damage that occurred in the network during deformation was analyzed, because hysteresis can be structural interpreted. Consider the points A , B , C denoting distinct stages in our simulations. Each point corresponds to different stretching degrees (10 %, 50 %, and 100 %, respectively). The simulation duration was 10 ns, 50 ns, and 100 ns. Each point can be reached in two ways: either by slow deformation directly to the point A , or by rapid deformation to point A_0 where by the deformed sample will be kept subsequently for the remaining time $A' - A_0$. The samples A and A' differ by their deformation history, otherwise they have the same macroscopic properties. Cluster shape modification and segmental hops were not included as criteria of recovery.

The time dependence of the volume fraction of physical clusters (Figure 2a,) for slow deformation and for deformation with waiting in stretched state was observed. The slowly deformed sample is always less damaged than the quickly deformed one. We found that a weakly crosslinked material, which has been deformed quickly, displays recovery and regenerates to the same degree as during slow deformation. At 100 % deformation, structure recovery is not observed and one finds unidirectionally oriented fibrils of individual macromolecules as persisting stable elements in the structure which remain even after unloading.

Analogously, there was investigated the effect of water crosslinks (Figure 2b). When the charge of macromolecular chains equaled to -1.0 ($\delta_0 = -1.0$ and high content of WCL), no recovery was observed. When the charge of macromolecular chains equaled to zero ($\delta_0 = 0.0$ and no WCL), after deformation the recovery is observed. When the charge of macromolecular chains equaled to -0.24 ($\delta_0 = -0.24$ and no WCL), the solvent plays a crucial role.

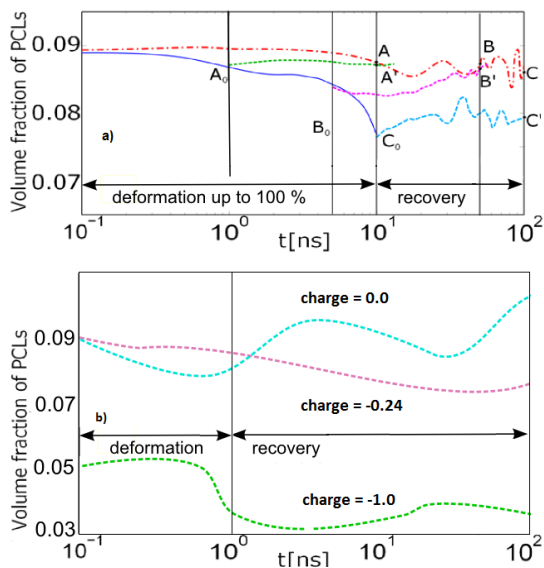


Figure 2: Structural recovery of network damage: a) Variation of the volume fraction of PCLs for $cpc = 0.7$ during the two simulations. b) Variation of the volume fraction of PCL for charges 0.0, -0.24 and -1.0.

3 Conclusion

The interaction of macromolecule and solvent and its influence to the deformation properties was investigated. The solvent in this case water can form hydrogen bonds with macromolecular chain and influence its deformation response. The formation of hydrogen bonds leads to increase of solvation of macromolecular network. The structure of hydrogels' model was formed by hydrophilic polyethylene glycol (PEG) chains crosslinked by micelles of poly-lactide glycolide (PLGA) and acrylic acid (AA). Micelles (physical crosslinks PCLs) were connected by flexible PEG chains that were considered entangled and periodic. The model shows various degree of solvation of macromolecule. The degree of solvation is controlled by electric charge on the macromolecules. The model enables one to detect structural response during deformation, particularly distribution of water.

The results revealed the presence of water in the vicinity of polymer chain. At low charges on the chain, the change of deformation behavior was not observed, although the solvation was detected. At high charge on the chain, the change of deformation behavior was observed. This is due to the fact that the water here works as weak bridge between two macromolecules (WCL). The water molecule can be attracted by one or two hydrogens to one macromolecular chain of polyethylene glycol or can connect two macromolecular chains. The deformation response of physical network with WCLs is more viscoelastic than network without solvation. The acting water crosslinks were

analyzed analogously to covalent crosslinks, which were formerly added to physical network. The deformation of hybrid covalent/physical network is more elastic. It seems that the presence of WCL causes the viscoelastic response, whereas the presence of CCL (covalent crosslinks) causes the elastic response. The solvation influences also structural recovery after deformation. At 100 % deformation, structure recovery of physical network is not observed and the permanent fibrillar structure is observed. Analogously, when the charge of macromolecular chains equaled to -1.0 , no recovery was observed. When the charge of macromolecular chains equaled to zero, recovery was observed. However, it seems that the presence of WCL has not the essential role in the recovery. The model provides the information about the control of properties of hydrogels by partial charge on the macromolecule. The partial charge in real material can be influence by selection of appropriate material of the macromolecular phase.

4 References

1. Maspoch, D., Ruiz-Molina, D., Wurst, K., Domingo, N., Cavallini, M., Biscarini, F., Tejada, J., Rovira, C., Veciana, J.: A nanoporous molecular magnet with reversible solvent-induced mechanical and magnetic properties. *Nature materials*. 2003, vol. 2, pp. 190-195.
2. Seddon, K., Stark, A., Torres, M. J.: Influence of chloride, water, and organic solvents on the physical properties of ionic liquids. *Pure and Applied Chemistry*. 2000, vol. 72, pp. 2275-2287.
3. Sun, J.-Y., Zhao, X., Illeperuma, W. R. K., Chaudhuri, O., Oh, K. H., Mooney, D. J., Vlassak, J. J., Suo, Z.: Highly stretchable and tough hydrogels. *Nature*. 2012, vol. 489, pp. 133-136.
4. Yang, C. H., Wang, M. X., Haider, H., Yang, J. H., Sun, J.Y., Chen, Y. M., Zhou, J., Suo, Z.: Strengthening Alginate/Polyacrylamide Hydrogels Using Various Multivalent Cations. *ACS Applied Materials*. 2013, vol. 5, pp. 10418-10422.
5. Peak, C. W., Wilker, J. J., Schmidt, G.: A review on tough and sticky hydrogels. *Colloid and Polymer Science*. 2013, vol. 291, pp. 2031-2047.
6. Hess, B., Kutzner, C., Spoel, D. van der, Lindahl, E.: GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2008, vol. 4, pp. 435-447.
7. Humphrey, W., Dalke, A., Schulten, K.: VMD: Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*. 1996, vol. 14, pp. 33-38.
8. Zidek, J., Milchev, A., Vilgis, T. A.: Dynamic behavior of acrylic acid clusters as quasi-mobile nodes in a model of hydrogel network. *Journal of Chemical Physics*. 2012, vol. 137, pp. 244908-.
9. Zidek, J., Jancar, J., Milchev, A., Vilgis, T. A.: Mechanical Response of Hybrid Cross-Linked Networks to Uniaxial Deformation: A Molecular Dynamics Model. *Macromolecules*. 2014, vol. 47, pp. 8795-8807.

Involvement of photovoltaic panels and heat pumps for family houses and their subsequent regulations to obtain maximum energy self-sufficiency

*Petr Levek
Josef Kotlik*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry,
Institute of Environmental Chemistry
Purkyňova 118, 612 00 Brno
petr.levек@vut.cz*

For more than 15 years of photovoltaic panels and their use for house owners in a conventional manner using renewable resources. The number of households using photovoltaic panels are growing every year despite a reduction in government subsidy programs in photovoltaics. Thanks to the reduction in purchase prices, particularly of photovoltaic panels, it is not today that this kind of solar energy is unavailable for homeowners who want to gain many benefits from renewable sources. This does not mean however, that the customer is already interested in a return, on the contrary, it is still one of the major factors in the selection system. Another major factor in the selection is the possibility of achieving energy self-sufficiency in the shortest possible time.

The best systems with optimum involvement for houses with a yield of 12 to 15 years, use solar panels, battery repository, and heat pumps at the same time. The combination of these systems seems to be according to the results of measurements optimal and could during its lifetime achieve with proper regulation values up to 70% of energy self-sufficiency. It is therefore obvious that to achieve similar energy self-sufficiency and acceptable return leads in addition to the optimal implementation of appropriate elements, reduce consumption, use modern energy-saving appliances, efficient use of energy needed, in particular the possibility of regulation, thanks to the data and predictions. For larger investments, but automatically lengthening the payback period of up to unprofitable levels can according to long-term monitoring and results achieve complete energy independence much earlier. Our aim during the project with the participation of companies such as Ekoenergie.org, is to not increase investments in similar systems or achieve better values, but rather reduce investments for faster returns and increase energy self-sufficiency with the assistance of maximum optimization and proper regulation on the basis of long-term results of our measurements and tests. With the use of our results and regulation, we plan to achieve energy self-sufficiency level of around 80%, in the first year from the date of commissioning of the system.

Keywords: Photovoltaics, solar panels, regulation, energy self-sufficiency

Comparison of peroxides for radical induced grafting of maleic anhydride onto polypropylene via reactive extrusion

Jana Matláková
František Kučera, Josef Jančář

Jana Matláková
Brno University of Technology, Faculty of chemistry, Department of Materials Chemistry
Purkyňova 464/118, 61200 Brno
xcmatlakova@fch.vutbr.cz

Efficiencies of two peroxides were tested in the course of the free radical-induced modification of polypropylene (PP) using maleic anhydride (MAH) as monomer. The influence of the initiator structure, decomposition mechanism and concentration on the grafting yield was observed and it was found that the grafting yields is influenced by the structure of the generated primary radicals and their reactivity. The experimental results compared grafting yields of MAH onto PP initiated using trifunctional 3,6,9-triethyl-3,6,9-trimethyl-1,4,7-triperoxonan (Trigonox 301) and bifunctional 2,5-dimethyl-2,5-bis(*tert*-butylperoxy)hexan (Luperox L101). The decomposition mechanism of Trigonox 301 was suggested based on the similarity to another trifunctional peroxide. The area of the theoretical values of the initial grafting rate R_g has been determined and subsequently compared with the experimental values of R_g . The influence of the structure and concentration of the peroxide was evaluated using the melting flow rate (MFR) and the rheological curves of PP-*g*-MAH.

Keywords: grafting, polypropylene, reactive extrusion, maleic anhydride

Screen Printing of Organic Electrochemical Transistor for real-time cell culture monitoring

Lukáš Omasta

*Ota Salyk, Stanislav Stržiteský, Michal Hrabal,
Martin Vala, Martin Weiter*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry,
Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
xcomastal@fch.vutbr.cz*

Organic electronic devices offer a convenient solution for bioelectronic sensor applications due to the biocompatibility of organic semiconductors and biologic tissues. So-called biosensors can convert electrochemical processes connected to cell membranes into electronic signals. A matrix of such biosensors can simultaneously scan a number of biological samples as well as living tissue in the body. Device with great potential which arise from this field is the organic electrochemical transistor (OECT), which can be easily patterned by printing, individually functionalized, and directly interfaced with biomolecules and living cells. In our research we focused on preparation and characterization of OECTs based on conductive polymer (poly(3,4-ethylenedioxythiophene) doped with poly(styrene sulfonic acid) (PEDOT:PSS) as the active layer. The microplate with multielectrode array of 96 OECTs was developed and fabricated by screen printing method. It consists of a 12x8 chimney – well array with transistors on the bottom. The OECT is circular with a channel of 1.5 mm² in the centre surrounded by the circular gate electrode. The device is designed for electrogenic cells monitoring. For this purpose we designed multi-layered OECT with lateral architecture. All layers were screen printed on flexible substrate polyethylene naphthalate (PEN) using semiautomatic screen printing device RokuPrint SD 05. Electrical properties of screen printed OECTs were investigated by testing output, transfer and transient characteristics in phosphate buffered saline (PBS). The device was also tested on 3T3 fibroblasts cell culture and the sudden environmental changes were recorded.

Keywords: organic electrochemical transistor, PEDOT:PSS, screen printing, organic electronic

This work was supported by Czech Science Foundation via project No. 17-24707S, research infrastructure was supported by projects MŠMT No. LO1211 and FCH-S-16-3393.

Development of Novel Chiral Biphenyl-Based Bis(thiourea) Organocatalysts for Asymmetric Henry Reaction

Jan Otevřel
Pavel Bobál

UVPS Brno, Faculty of Pharmacy, Department of Chemical Drugs.
Palackého 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic.
otevrelj@vfu.cz.

The stereoselective Henry reaction is a powerful C–C bond forming process providing a source of enantioenriched nitroaldols, which are ubiquitously used as building blocks for pharmaceuticals and agrochemicals.

In the organocatalyzed asymmetric Henry reaction, the homogeneous chiral thiourea catalysts proved their excellent effectiveness and selectivity. However, the currently known chiral thiourea organocatalysts for the enantioselective nitroaldol reaction of aromatic aldehydes are associated with limited possibilities of further functionalization of their structure, expensive resolution agents, difficult low-yield syntheses involving precious transition-metal complexes and chromatographic purification, cumbersome isolation of the final nitroaldol products from the reaction mixture and none or low (predominantly *anti*) diastereoselectivities.

In our current work, we focused on a simplification of the chiral backbone of the catalysts to the “bare minimum” and present the four novel C₂-symmetric bis(thiourea) organocatalysts based on axially chiral biphenyls. Catalysts were prepared via high-yield and scalable syntheses avoiding transition-metal complexes, protecting groups and chromatography using inexpensive resolution agents. Modification of a chiral biphenyl backbone allowed us to incorporate tertiary amine functionalities to the structure of the catalysts that eliminates the need of auxiliary base during the reaction. All synthesized catalysts were fully structurally elucidated and prepared in both enantiopure forms. The above organocatalysts were tested in the asymmetric Henry reaction of mainly aromatic and heteroaromatic aldehydes with linear nitroalkanes. Under the optimized reaction conditions, the excellent chemical yields (up to 99%), very good to excellent enantioselectivities (up to 97% ee) and remarkable *syn*-diastereoselectivities (up to 10:1) were observed, especially for the electron-deficient substrates.

The viability of the newly developed catalytic process, offering operationally simple isolation of the respective β -nitroalcohols, was proved in syntheses of enantiopure (*S*)-econazole and (*R*)-mirabegron a late-stage intermediate.

The preliminary kinetic and spectroscopic experiments were conducted in order to gain better insight into the reaction mechanism of the above transformation. Accordingly, quite interesting temperature and solvent effects were observed.

Keywords: bis(thiourea) organocatalysts, asymmetric synthesis, enantioselective Henry reaction, *syn*-diastereoselectivity, mirabegron, econazole.

The study of aging of writing inks in blue ballpoint pens by GC-MS

*Silvia Parciová
Aleš Ház, Milena Reháková*

*Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology,
Institute of Natural and Synthetic Polymers, Radlinského 9, 812 37, Bratislava, Slovakia
silviaparciova@gmail.com*

Documents have been used for many centuries. A breakthrough period of their use is a period of the Industrial revolution. In forensic examination of documents, very frequently questions are concerning authenticity of documents and period of their creation. Chemical analysis of writing inks is one of the ways how to answer these questions.

The aim of this work was to study the aging process of ballpoint pen inks, characterized by the evaporation of volatile solvents. The most common solvent in blue ballpoint pens is 2-phenoxyethanol (PHE). It was found in more than 80 % of the blue ballpoint pens in different concentrations. To analyze a quantity of volatile solvent was used method of gas chromatography with mass spectroscopy (GC/MS), which combines high separation effectiveness gas chromatography with specific detection of the mass-spectrometer. We can also obtain information on the structure of unknown participating substances. We were used two different methods in this experiment. The first one compared the content of 2-phenoxyethanol in fresh samples of extracted inks with the samples which were subjected to the thermal aging. The second one used a derivatization of inks samples before analyzing. The samples in the first method were prepared in two series. One part of inks spread on office paper was fresh and the second part was subjected to the thermal aging at $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, 70 minutes. The samples of both series were cut on small pieces, put into micro vials and poured extracting agent – acetonitrile with internal standard – diphenylamine. The samples in the derivatization method were cut on small pieces, too, put into micro vials and sealed by derivatization mixture containing tetrahydrofuran, pyridine and MSTFA in a ratio 5:1:1. The measurements were realized on the device GC 7890A Agilent Technologies; capillary GC column HP5-MS (Agilent; 30 m, 250 μm internal diameter, 0,25 μm film thickness of stationary phase).

Trying both mentioned methods we decided to use the first one. Based on the results of the method comparing the content of 2-phenoxyethanol in samples subjected to the thermal aging with non-aged samples we can say if the analyzed document is older or younger than 2 years. The disadvantage of using the method in practice is the destructivity. In further experiments, it is necessary to determine the smallest analyzable amount of sample.

Nanoscratch Testing of Thin Films Prepared by Plasma Polymerization from the Vapour Phase of Tetravinylsilane Monomer

*Tomáš Plichta
Vladimír Čech*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials Chemistry
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, Czech Republic
tomas.plichta@vut.cz*

One of the most important properties that determined application possibilities of thin films is their adhesion to the substrate. Value of the critical load obtained by nanoscratch test is the normal force which is evaluated from the measured load curves and corresponding to the first significant lateral force component fluctuation which correlates with the adhesion failure of the film. In addition, this critical load is load at which the adhesive failure occurs in the scratch track observed by atomic force microscopy.

Thin films of hydrogenated amorphous carbon-silicon (a-SiC:H) alloy were deposited on silicon wafers from tetravinylsilane (TVS) monomer by plasma-enhanced chemical vapor deposition (PECVD). The pretreatment of silicon wafers was carried out with argon or oxygen plasmas (10 sccm, 5.7 Pa, 5-200 W) using continuous wave for 10 min to clean the surface from adsorbed gases and reach reproducible adhesion of films. A mass flow rate of TVS used for film deposition was 3.8 sccm at a pressure of 2.7 Pa. Pulsed plasma was employed to deposit thin films at an effective power ranging from 2 to 150 W. Thin films of 0.1 μm thickness were tested by scratch test using a conical (90°) diamond tip (radius of 1 μm) with the peak load of 6 mN at a loading rate of 12 mN/min and using a scratch length of 10 μm .

Measurements demonstrated that the scratch test resulted in the same values of the critical load over the entire surface of the samples regardless of the exact position on the sample. Good reproducibility of the film adhesion was found for the individual depositions. It was discovered that the critical load also does not depend on the loading rate. Different powers (5-200 W) applied for wafer pretreatment with argon or oxygen plasmas did not affect the film adhesion. We revealed that the critical load for a-SiC:H films increased with enhanced power from 1.6 mN (2 W) up to 4.6 mN (75 W) and was invariable for higher power 4.4 mN (150 W). No aging effects were observed in the first 850 days after film deposition.

Keywords: PECVD, thin films, adhesion, nanoscratch test.

Full printed organic electrochemical transistors

*Stanislav Střiteský, Lukáš Omasta,
Martin Weiter*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Material Research Centre
Purkyňova 464/118, 612 00, Brno, Czech Republic
xcstritesky@fch.vutbr.cz*

The organic electrochemical transistor (OECT) has a potential for development of innovative biomedical devices. The straightforward fabrication, low-cost printing techniques, individually functionalized and directly interfaced is an advantage of printed OECT. Our research is focused on preparation and characterization of fully printed OECT based on poly(3,4 ethylenedioxythiophene) doped with poly(styrene sulfonic acid) (PEDOT:PSS) as the active layer and printed gold resin as biocompatible electrodes. Here, we printed electrochemical transistor with planar architecture consisting of gold resin to form circuit matrix, PEDOT:PSS as an active layer and silicone rubber to mask and insulate underlying structures. Gold resin was printed by Fujifilm Dimatix Material Printer (DMP) 2800 on glass slide. All other layers were screen printed on annealed (450°C) glass slide using semi-automatic screen printing device RokuPrint SD 05. Devices were prepared using commercially available PEDOT:PSS Clevios S V3. Electrical properties of printed OECTs were investigated by testing output and transfer characteristics in phosphate buffered saline (PBS). The maximum transconductance 4 mS was achieved. The OECTs were used for cultivation of cardiomyocytes. This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (project 17-24707S) and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project LO1211).

Keywords: OECT, PEDOT:PSS

Effect of counterion on rheological properties of hydrogels prepared from hyaluronan and oppositely charged surfactant

*Tomáš Velcer
Miloslav Pekař*

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Physical and Applied Chemistry
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic
xcvelcer@fch.vut.cz*

1 Introduction

Interaction between surfactant and polymer has been engaged in a lot of scientific studies worldwide. Using appropriate types of substances, concentrations and the right choice of environment, the phase-separated hydrogels can be prepared. Thanks to its unique viscoelastic properties and ability to absorb large amounts of water there is their importance not only in the various types of industry, but particularly in medical applications. Hydrogels are successfully used in cosmetology and dermatology, due to their hydrophilic nature and ability for hydration and skin regeneration as well as they can form scaffolds for tissue engineering.

The greatest effort is the use of hydrogels in the targeted drug delivery whose idea is closing, usually non-polar active substance or drug into a particular type of carrier that is able to deliver the drug to the affected tissue, thereby preventing the action of cytostatic effects of the drug to healthy tissue. The carrier should also guarantee prolonged circulation of the drug in the blood circulation system and usage of a lower effective concentration of the drug. Targeted drug delivery finds application in a number of diseases however it is contemplated for the use in the field of cancer treatment the most. A number of substances useful as a carrier are examined and they are generally based on liposomes, dendrimers, polymeric micelles or just hydrogels^{1,2,3,4}. Due to their specific structure, hydrogels release the drug more gradually and more slowly. Porosity of the gels also allows permeation of oxygen and nutrients. At last, substances that form hydrogels, must be biocompatible and biodegradable, nontoxic, and with appropriate physical and chemical properties. Anionic polysaccharide hyaluronan seems as one of the suitable candidate for the post of carriers.

Hyaluronan is hydrophilic substance known for strong water-binding. It is commonly located in human body. After its discovery, hyaluronan was gradually applied in many fields like ophthalmology, cosmetology and eventually in the wounds-healing.

Moreover it has been found that hyaluronan has a unique sensitivity to receptors which are overexpressed by tumor tissue. This fact can be used specifically for targeted drug delivery. However, unmodified hyaluronan is hardly able to dissolve the non-polar substances. One possibility is to use the aforementioned electrostatic interactions with cationic substances, usually surfactants, to form a phase separated hydrogel^{5,6}.

The aim of this study is to investigate the preparation and properties of the gels based on hyaluronan and oppositely charged surfactants. Three representatives of surfactants with the same hydrocarbon chain but different counterion, namely cetyltrimethylammonium bromide, chloride and p-toluensulfonate (CTAB, CTAC, CTAT), were selected for comparison. The basic characterization is made using the method of rheology. Viscoelastic behaviour of the samples is discussed regarding the usage of these gels in the field of medical application.

2 Experimental

Hyaluronan hydrogels are prepared by phase separation method. It is based on mixing the proper amount of hyaluronan and surfactant solutions or their powder forms. 0.15 M NaCl is used as a solvent. Samples are then left for 24 hours or centrifuged for 15 mins at 3500 rpm. Methods of preparation are marked as no. 1, 2, 3 or 4 for powders-standing, solutions-standing, powders-centrifuge or solutions-centrifuge. Composition of prepared hydrogels is described below. Stock solutions of hyaluronan and surfactants underwent the measurements as well.

- 2 % Hya + 200 mM surfactant
- 2 % Hya + 50 mM surfactant
- 0.5 % Hya + 200 mM surfactant
- 0.5 % Hya + 50 mM surfactant

2.1 Viscoelastic properties

All rheology measurements were conducted with DISCOVERY HR2 rotational rheometer which is provided by TA Instruments. Experiments were at 25 °C using the parallel plates geometry with radius of 20 mm. For *strain sweep test* there was a constant oscillation frequency value of 10 rad s⁻¹. Deformation amplitude range has been changing in between 0.01–1 000 %. Phase angle δ was obtained using the Eq. (1) which combines values of G' and G'' (elastic and viscous moduli, respectively). The use of phase angle is just for clarity of the diagrams. Phase angle values below 45 ° represent solid-like material and on the contrary values above 45 ° represent liquid-like material.

$$\operatorname{tg}(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (1)$$

Fig. 1 shows the influence of the preparation method in case of Hya-CTAT hydrogels. Two samples of gels marked as “the most rigid” and “the least rigid” were selected for each preparation method. The most rigid gels were practically always that

ones with 200 mM concentration of surfactants. This means that hyaluronan has enough amount of surfactant to form a dense, rigid net. On the other hand samples that contain 50 mM of surfactant seem to be the least rigid.

Influence of the preparation method especially centrifugation causes the difference in the most rigid gels. Centrifugal force makes the inner structure of gels denser which leads to forming even more rigid gel. However in the case of the least rigid gels there is an opposite effect that indicates that either centrifugal force cannot help the particles to bound tougher with each other to form more rigid net.

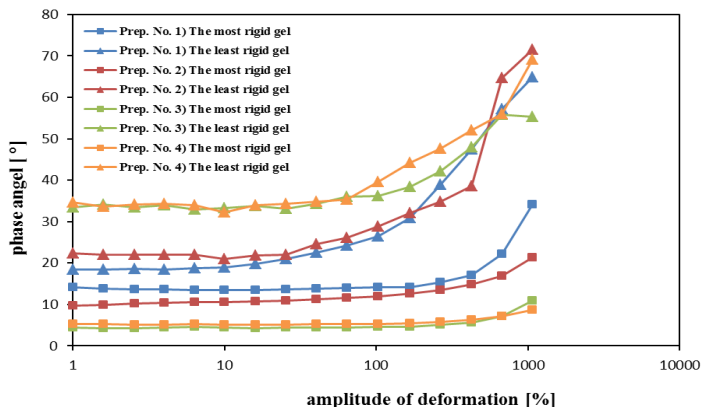


Figure 1: Viscoelastic properties of Hya-CTAT gels depending on preparation method

Fig. 2 represents the comparison of Hya-CTAT gels with other selected samples Hya-CTAB or Hya-CTAC respectively, each of them prepared by method no. 2. This results show the bigger rigidity of Hya-CTAT gels even in “the least rigid” samples over the other representatives. The behaviour of Hya-CTAT gels should seem to be ideal, but there is the necessity to consider the future application.

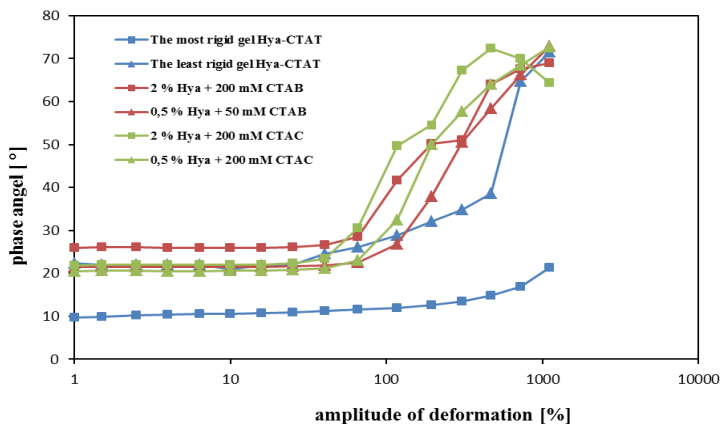


Figure 2: Comparison of viscoelastic properties of Hya-CTAT gels with other representatives

2.2 Flow behaviour

Following chapter describes viscosity of the Hya-CTAT samples in the range of shear rates from 0.02 to 200 s^{-1} . For clarity of the results there are logarithmic scales used in the graphs.

Fig. 3 represents the dependence of the viscosity on the shear rate. Hya-CTAT samples are compared in a way of preparation method which includes two representatives for each method named as "the highest viscosity" gels and "the lowest viscosity" gels resulting in no effect of preparation method. Hya-CTAT representatives correlate with previous measurements as the highest viscosity ones are gels with 200 mM concentration of surfactants and the lowest viscosity gels contain surfactant in concentration of 50 mM. The difference in zero shear rate can be observed over the three orders and all gels evince Newtonian behaviour. Using the higher shear rate, the curves have the tendency to decrease in pseudoplastic manner leading to the same value of viscosity. That means that the consistent and competitive gels can be prepared regardless the preparation method. The decreasing tendency of viscosities indicates that gels can reach the desirable viscosity of e.g. human eye with the certain shear rate of the blink of an eye thus the hydrogels like these can be used for ophthalmic applications.

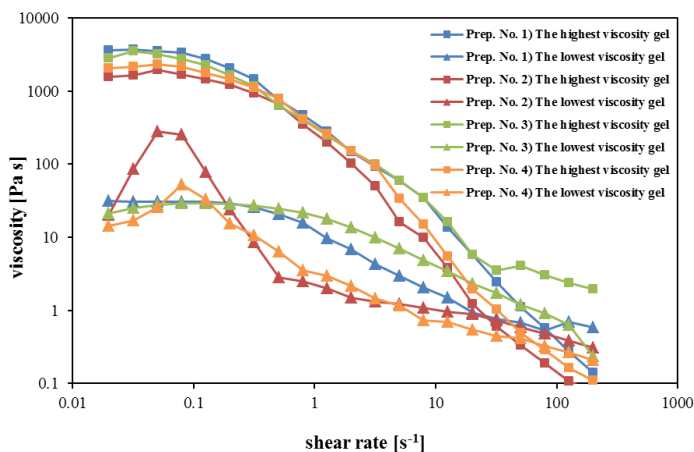


Figure 3: Flow behaviour of Hya-CTAT gels depending on preparation method

4 Conclusion

This study revealed the basic characterization of hydrogels based on hyaluronan with oppositely charged surfactants. From the results of rheological measurements the fact arised that properties of final gels can be changed by changing the concentration of input components. Incorporation of hyaluronan into gels appears to be desirable with respect to bioactivity targeting ability with the tumor tissue.

5 References

1. Hrubý, M., Kučka, J., Kozempel, J., Lebeda, O.: Cílené polymerní nosiče léčiv v terapii nádorových onemocnění. *Chemické listy*, 2006 vol. 100, pages 10-16.
2. Jones, M., Leroux, J.: Polymeric micelles – a new generation of colloidal drug carriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1999, vol. 48, pages 101-111.
3. Haley, B., Frenkel, E.: Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. *Urologic Oncology: Seminar and Original Investigations*. 2008, vol. 26, pages 57-64.
4. Kwon, G. S., Okano, T.: Polymeric micelles as new drug carriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1996, vol. 21, pages 107-116.

5. Brown, T.: The development of hyaluronan as a drug transporter and excipient for chemotherapeutic drugs. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2008, vol. 9, issue 4, pages 253-260.
6. Prestwich, G. D.: Biomaterials from chemically-modified hyaluronan. *Glycoforum* [online], 2001, [cit. 30. 12. 2013].

Acknowledgement

This work has been supported by the project LO1211 from National Programme for Sustainability I (Ministry of Education, Youth and Sports) and by the project 16-12477S from The Czech Science Foundation.

Hledáte práci ve stabilní firmě? Chcete být součástí týmu, který se podílí na výzkumu a výrobě, které mají skutečně smysl? Láká Vás možnost práce v moderním prostředí s nejlepším vybavením? Pokud si navíc přejete pracovat v kolektivu motivovaných lidí, jste na správné adrese. Synthon je rostoucí špičková mezinárodní farmaceutická společnost a leader v oblasti humánních generických léčiv. Naším posláním je zajištění finančně lépe dostupné zdravotní péče prostřednictvím vysoce kvalitních generických přípravků. Sídlo společnosti se nachází v Nizozemsku a pobočky má v dalších sedmi zemích. Pobočka v Blansku se zaměřuje na vývoj a výrobu aktivních léčivých substancí (API), disponuje dvěma výrobními halami, moderním centrem výzkumu a vývoje a pracuje zde přes 220 zaměstnanců.



NABÍZÍME VÁM

- moderní pracovní prostředí a špičkové vybavení
- zázemí mezinárodní firmy
- přátelská a podporující atmosféra
- práce, která má skutečný smysl
- nadstandardní péče o zaměstnance a firemní benefity (týden volna navíc, příspěvky na životní a důchodové připojištění, příspěvek na stravování ad.)
- podpora při dojíždění a přestěhování
- společenské a sportovní aktivity

POŽADUJEME

- talentované absolventy chemických oborů, kteří chtějí dělat smysluplnou práci
- kolegy, kteří přemýšlí v souvislostech a uvažují o svojí práci v širokém kontextu
- týmové hráče, kteří se rádi dělí o své znalosti a zkušenosti

KONTAKT

Renata Šebelová

Recruiter

T: +420 516 427 569 | M: +420 727 971 593 | www.synthon.com