



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

ADSORPCE BIOLOGICKÝCH AKTIVNÍCH LÁTEK V KOLOIDNÍCH ROZTOCÍCH AMINOJÍLU

ADSORPTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN COLLOIDAL SOLUTIONS OF AMINOCLAY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Ivana Málková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1643/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Ivana Málková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Adsorpce biologických aktivních látek v koloidních roztocích aminojílů

Zadání diplomové práce:

1. Rešerše na využití aminojílů jako nosiče v medicínských aplikacích a způsobů formulace takovýchto systémů.
2. Na základě rešerše vybrat vhodné biologicky aktivní látky pro studium jejich adsorpce na aminojíl a vybrat vhodnou metodu stanovení.
3. Stanovit adsorpční chování vybraných BAL a potvrdit použitelnost vybrané metodiky.
4. Zhodnotit dosažené výsledky z hlediska vybrané metodiky a z hlediska využitelnosti komplexů aminojíl–BAL v medicínských aplikacích.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Ivana Málková
studentka

doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Tato závěrečná práce navazuje na předchozí studium hořečnatého aminojílu a jeho interakcí s přírodními látkami. Teoretická část je zaměřena na rešerši využití aminojílu jako nosiče v medicínských aplikacích, způsobu jeho formulace, volbu biologicky aktivních látek a vhodnou metodu stanovení. Experimentální část je zaměřena na syntézu aminojílu, přípravu vzorků a studium adsorpčního chování zvolených biologicky aktivních látek za různých podmínek. Experimentální část této práce zahrnuje také ověření vhodnosti použití zvolené UV-VIS spektrometrie ke stanovení adsorpčního chování biologicky aktivních látek v koloidních roztocích aminojílu.

Abstract

This paper builds on a previous study of magnesium aminoclay and its interactions with biological compounds. The theoretical part deals with the research of the usage of aminoclay as a carrier in medical applications, the method of its formulation, the selection of biologically active compounds and a suitable method of verification. The experimental part deals with the synthesis of aminoclay, samples preparation and study of the adsorption behavior of the selected bioactive compounds under different conditions. The experimental part of the paper also includes verification of the suitability of the selected UV-VIS spectrometry to determine the adsorption behavior of the biologically active compounds in colloidal aminoclay solutions.

Klíčová slova

Aminojíl, biologicky aktivní látky, riboflavin, kurkumin, koloidní roztoky, UV-VIS spektrometrie, adsorpce

Keywords

Aminoclay, biologically active compounds, riboflavin, curcumin, colloidal solutions, UV-VIS spectrometry, adsorption

MÁLKOVÁ, Ivana. *Adsorpce biologických aktivních látek v koloidních roztocích aminojílů* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138926>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Filip Mravec.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

Bc. Ivana Málková

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Filipu Mravcovi, Ph.D. za rady a podporu při práci na tomto výzkumu. Současně bych chtěla poděkovat také konzultantovi Ing. Jakubu Duškovi za rady týkající se aminojílů.

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Jílové materiály.....	8
2.1.1	Charakteristika jílových materiálů.....	8
2.1.2	Fylosilikáty	8
2.1.3	Modifikace jílových minerálů	10
2.1.4	Syntetické fylosilikáty	10
2.2	Aminojíl.....	10
2.2.1	Obecně	10
2.2.2	Struktura	11
2.2.3	Vlastnosti	11
2.2.4	Syntéza aminojílu	14
2.3	Biologicky aktivní látky	14
2.3.1	Riboflavin	15
2.3.2	Kurkumin.....	15
2.4	Adsorpce.....	16
2.4.1	Fyzikální adsorpce	17
2.4.2	Chemisorpce	17
2.4.3	Adsorpční rovnováha.....	17
2.4.4	Adsorpční kinetika.....	20
2.5	UV-VIS spektrometrie.....	22
2.5.1	Základní informace a princip metody.....	22
2.5.2	Instrumentace.....	23
2.6	Současný stav problematiky	24
3	Experimentální část	27
3.1	Použité chemikálie.....	27
3.2	Použité přístroje	28
3.3	Syntéza aminojílu	29
3.4	Vlastní příprava vzorků	30
3.5	Výsledky a diskuse	32
3.5.1	Adsorpční kapacita q_E a účinnost adsorpce R	32
3.5.2	Adsorpční izotermy	35
3.5.3	Vliv navážky aminojílu na adsorpční kapacitu q_E a účinnost adsorpce R.....	36
3.5.4	Vliv teploty a doby kontaktu	38
3.5.5	Adsorpční kinetika.....	40
3.5.6	Vliv pH	42
4	Závěr.....	45

5	Seznam literatury.....	47
6	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	51
7	Přílohy.....	53
7.1	Absorpční spektra.....	53
7.2	Ostatní grafy.....	61
7.3	Tabulky.....	65

1 ÚVOD

Tato práce navazuje na předchozí bakalářskou práci [1] zaměřenou na studium interakce aminojílu s přírodními látkami. Hořečnatý aminojíl se řadí mezi syntetické funkcionalizované fylosilikáty, které jsou, na rozdíl od přírodních fylosilikátů, snadno rozpustné ve vodě za vzniku koloidních roztoků. Z tohoto důvodu jsou čím dál častěji cílem studií zaměřených na potenciální využití v medicínských aplikacích a příbuzných odvětvích. Vazbou biologicky aktivní látky jako jsou špatně rozpustná léčiva, látky přírodní medicíny nebo jiné tělo prospěšné látky na aminojíl může dojít ke zlepšení vlastností daných látek jako je mechanická stabilita, rozpustnost ve vodě nebo biologická dostupnost v organismu. Problematika adsorpce biologicky aktivních látek na aminojíl je popsána v kapitole 2.6. Pro studium adsorpce biologicky aktivních látek v koloidních roztocích aminojílu byly vybrány ve vodě rozpustný riboflavin, též známý jako vitamín B2 a ve vodě nerozpustný kurkumin. Metoda zvolená pro studium adsorpce byla UV-VIS spektrometrie. Součástí experimentů bylo mimo jiné studium vlivu parametrů ovlivňující proces adsorpce – počáteční koncentrace látek, pH, teplota, a doba kontaktu. Adsorpce je jedním z nejjednodušších chemických procesů a z toho důvodu je cílem této práce, konkrétně je cílem objasnění, zda je možné využít adsorpci k přípravě nových systémů, které mohou být využity v medicínských aplikacích.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Jílové materiály

2.1.1 Charakteristika jílových materiálů

Jílové materiály bývají často a chybně zaměňovány za jíl. Zatímco jíl je přírodní směsný materiál, primárně složený z jemně zrnitých minerálů, dalších doplňkových minerálů a organické hmoty, tak jílové materiály jsou složeny pouze z jílových minerálů. Jílové minerály jsou v kombinaci s přiměřeným obsahem vody zodpovědné za plastičnost jílu a jejich schopnost vytvrdnutí po procesu vysušení nebo vypálení. Jíly vznikají sedimentací a zvětváním, jedná se tedy o přírodní materiál. Oproti tomu jílové minerály mohou být nejen přírodního, ale také syntetického původu. Z pohledu velikosti částic je za jíl považován takový materiál, jehož velikost částic nepřesahuje 4 μm . Jílové minerály jsou bez zrnitostních omezení [2].

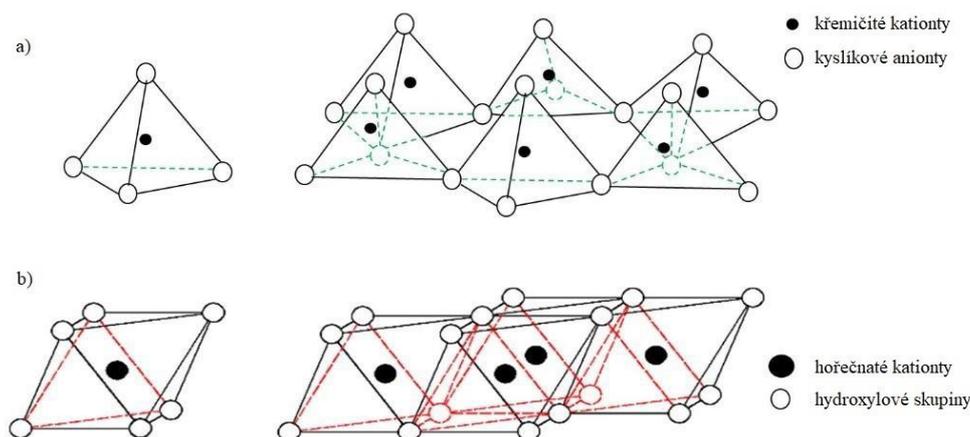
Jíly jsou z největší části tvořeny skupinou jílových minerálů označovanou jako fylosilikáty, pro které je typická vrstevnatá struktura. Dále jsou jíly tvořeny také z krystalických i nekrystalických modifikací SiO_2 , amorfních minerálů skupiny alofanu, zeolity, karbonáty či oxidy a hydroxidy hliníku a železa. Kombinace velmi malých rozměrů jednotlivých krystalů a vrstevnatá struktura dávají jílovým minerálům celou řadu unikátních vlastností. Mezi nejvýznamnější patří schopnost vázat vodu, schopnost sorpce a iontové výměny, chování při zahřívání a reakce s organickými látkami. Množství a způsob, jakým je voda vázána na jílový minerál, podstatně ovlivňují technologické vlastnosti jako jsou například plastičnost, vazkost, tixotropie nebo tvarová stálost. Schopnost jílových minerálů dlouhodobě zadržovat vodu je nezbytná pro rostliny a jejich přežití. Reakce jílových minerálů s organickými látkami umožňují přípravu tzv. organo-jílových komplexů, které jsou využívány v mnoha technologických odvětvích [3].

2.1.2 Fylosilikáty

Termín fylosilikát vychází z řeckého *fyllon*, znamenající list. Jedná se o minerály, pro které je charakteristická vrstevnatá struktura a jsou děleny na planární a neplanární fylosilikáty. V případě neplanárních fylosilikátů dochází k periodickému narušování planární struktury, což způsobuje její ohnutí, případně svinutí [4].

Základní stavební jednotkou fylosilikátových struktur je tetraedr $[\text{SiO}_4]^{4-}$ (Obr. 1). Ten může být v některých případech substituován za $[\text{AlO}_4]^{5-}$ nebo $[\text{FeO}_4]^{5-}$. Tetraedry jsou uspořádány do vrstev tím způsobem, že jsou vázány se sousedními tetraedry třemi vrcholy, tzv. bazálními kyslíky. Vrstvy tetraedrů jsou vůči sobě umístěny ve vodorovné poloze. Čtvrtý vrchol tetraedru je volný a směřuje kolmo na rovinu sítě tetraedrů. Tento kyslík je označován jako apikální. Pouze výjimečně směřují apikální kyslíky v sousedních tetraedrických vrstvách stejným směrem [3][4].

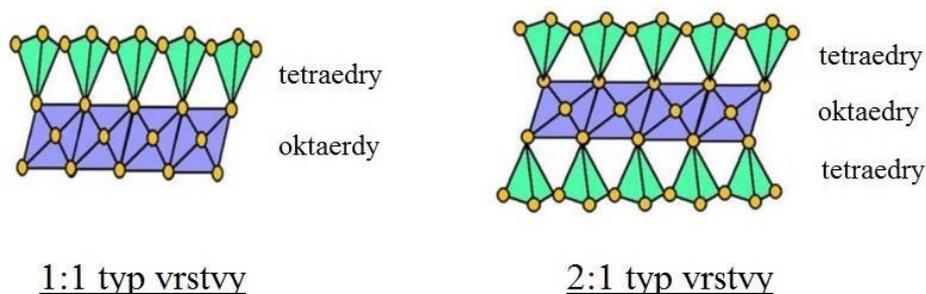
Na tetraedrickou vrstvou bezprostředně navazuje vrstva oktaedrická. Tyto dvě vrstvy sdílí právě apikální kyslíky. Koordinační oktaedry jsou základní stavební jednotkou vrstvy a sousedící oktaedry spolu sdílí stěny. Nejčastěji se v centrech oktaedrů nachází Mg^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Fe^{2+} nebo Fe^{3+} . Méně časté jsou na pozici centrálního atomu kationty Li^+ , Ni^{2+} , Mn^{2+} , V^{3+} , Cr^{3+} a Ti^{3+} . Oktaedrickými anionty mohou být kromě OH^- , také O^{2-} , F^- , případně Cl^- [3][4].



Obr. 1: a) tetraedr a síť tetraedrů s Si^{4+} kationty, b) oktaedr a síť oktaedrů s Mg^{2+} kationty [5]

Vzájemná vazba sítí

Jednotlivé typy sítí mohou být mezi sebou spojeny několika způsoby. První z možností je propojení dvou tetraedrických sítí přes bazální kyslíky pomocí slabých van der Waalsových sil nebo pomocí mezivrstevního kationtu. Spojení tetraedrů a oktaedrů je umožněno přes sdílené apikální kyslíky, případně skrz bazální kyslíky tetraedrické sítě a hydroxylové skupiny oktaedrické sítě, mezi kterými působí vodíkové vazby. V případě propojení tetraedrů a oktaedrů přes apikální kyslíky lze tyto struktury dále klasifikovat na základě typu vznikajících vrstev. Pokud vzniká vrstva typu 1:1, znamená to, že dochází ke spojení tetraedrické sítě a sítě oktaedrické. U vrstvy 2:1 jsou spojeny 2 vrstvy tetraedrů s vrstvou oktaedrů. Vzniká jakási sandwichová struktura, kdy jsou na síť oktaedrů z obou stran navázány sítě tetraedrů. Ty mají opačnou polaritu (Obr. 2)[6].



Obr. 2: Typy fylosilikátového vrstvení [1]

Prostor mezi dvěma vrstvami ve struktuře fylosilikátů se označuje jako mezivrství, případně mezivrstevní prostor. Jedna vrstva a přilehlé mezivrství pak tvoří základní strukturní jednotku, která představuje úplné složení daného fylosilikátu. V závislosti na struktuře mohou být jednotlivé vrstvy elektricky neutrální nebo mít vlivem některých substitucí záporný elektrický náboj. Velikost náboje přímo ovlivňuje mechanismus, kterým jsou vrstvy vázány k sobě. Pokud je elektrický náboj malý, pak jsou vazby mezi vrstvami zprostředkovány slabými mezimolekulárními interakcemi nebo vodíkovými můstky skrz molekuly vody. V případě,

že velikost náboje přesahuje hodnotu 0,5, je spojení vrstev zajištěno mezivrstevními kationty. Ty bývají nejčastěji jednomocné, např. K^+ a Na^+ , výjimečně Ca^{2+} [6].

2.1.3 Modifikace jílových minerálů

Přírodní i modifikované jílové minerály mají velký technologický význam. Jsou také důležitým materiálem základního a aplikovaného výzkumu, a to díky jejich všudypřítomnému výskytu, nízkým cenám a nezávadnosti vůči životnímu prostředí. Ve formě disperzních roztoků vykazují inertnost, stabilitu, reaktivitu nebo katalytickou aktivitu. Nevýhodou přírodních jílových minerálů je ovšem jejich hydrofobicita a s ní spojená nepřilíš dobrá schopnost sorpce nepolárních organických molekul. Tento problém lze vyřešit modifikací, konkrétně zabudováním organické látky do mezivrstevního prostoru např. jednoduchou iontovou výměnou. Organickými molekulami, využitými jako surfaktanty v modifikovaném jílovém minerálu, mohou být kvartérní amoniové, pyridinové nebo fosfoniové soli s různě dlouhými alkylovými řetězci. Tímto procesem dochází ke vzniku anorganicko-organického komplexu, který už sorpci nepolárních organických látek umožňuje. Organicky modifikované jílové minerály jsou využívány napříč průmyslovými odvětvími od kosmetických přípravků, přes barevné pigmenty, reologická činidla, žáruvzdorné povlaky, po přípravu kompozitních polymerních materiálů nebo sorpčních materiálů organických polutantů z ovzduší, vod i půdy [7].

2.1.4 Syntetické fylosilikáty

Hlavním cílem chemické syntézy je příprava požadovaného produktu o vysoké čistotě, v co největším množství a za dosažitelných experimentálních podmínek. Nejvýhodnějším způsobem pro přípravu modifikovaných fylosilikátů je jednokroková reakce za nízkých teplot, při které dochází ke kopolymerizaci vybraných vícemocných kationtů (Mg^{2+} , Ni^{2+} ...) s trialkoxysilanem v alkalickém prostředí. Výhody synteticky připravených fylosilikátů, v porovnání s přírodními, spočívají v jejich vysoké čistotě, homogenitě a kontrolované porositě. Přírodní fylosilikáty často obsahují nečistoty, například ve formě různých iontů, které výrazně ovlivňují jejich vlastnosti. Potenciál těchto hybridních materiálů spočívá v možnosti návrhu sledu reakcí, které umožní inkorporaci dalších organických molekul do struktury fylosilikátu. Inkorporované organické molekuly mohou obsahovat aktivní centra, která lze využít k dalším chemickým reakcím a interakcím [8].

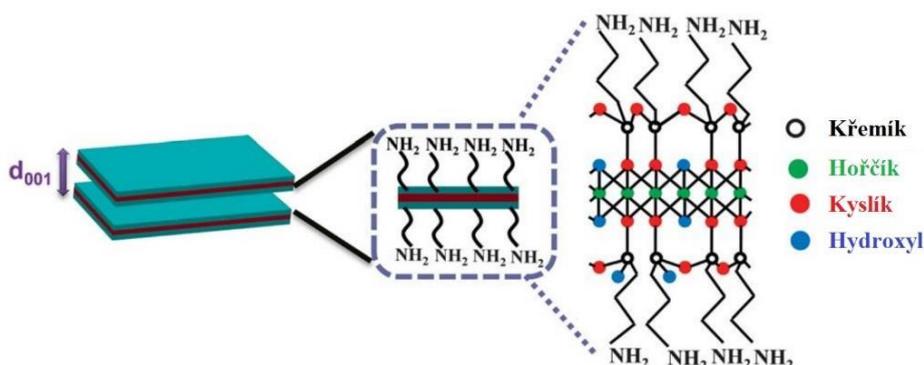
2.2 Aminojíl

2.2.1 Obecně

Syntetické aminojíly jsou velkou a významnou skupinou fylosilikátů, a to díky jejich jednoduché přípravě, sorpčním schopnostem, termální a mechanické stabilitě, či nízké toxicitě. Jedná se o hybridní anorganicko-organické materiály, ve kterých jsou funkcionalizované organické molekuly vázány k anorganické matici kovalentními vazbami. Aminojíly nacházejí uplatnění v mnoha aplikacích, mezi které patří mimo jiné katalýza, nosiče léčiv, odstraňování organických polutantů nebo různé formy senzorů [9].

2.2.2 Struktura

Aminojíl patří do skupiny fylosilikátů se strukturou 2:1. Jeho krystalová mřížka je tvořena dvourozměrnými vrstvami, konkrétně dvěma vrstvami tetraedrů s Si^{4+} centrálními atomy a kyslíkovými anionty. Mezi tetraedrickými sítěmi je jedna vrstva oktaedrů, jejichž centrálními atomy jsou nejčastěji hořčík nebo hliník. Dále oktaedrická síť obsahuje také hydroxylové skupiny. Jednotlivé vrstvy mezi sebou sdílí apikální kyslíky. Tloušťka vrstvy je kolem 1 nm a boční rozměry se pohybují v rozmezí 300 Å až do několika mikrometrů, v závislosti na typu silikátu. Pravidelné mezery, které vznikají mezi jednotlivými vrstvami při organizaci do stohů, jsou způsobeny přítomnými Van der Waalsovými silami. Tyto mezery se nazývají mezivrstvi, nebo také galerie. Při izomorfních substitucích ve vrstvách (např. Mg^{2+} nahrazen za Li^+ nebo Al^{3+} nahrazen za Mg^{2+} , případně Fe^{2+}) dochází ke vzniku záporných nábojů. Ty jsou vyváženy kationty alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin přítomných v mezivrstvi. Hydrofilní fylosilikáty lze upravit, aby měly organofilnější charakter tím způsobem, že hydratované kationty v mezivrstvi jsou vyměněny za kationtové povrchově aktivní látky, například alkylfosfonium nebo alkylamonium. Na anorganickou matici aminojílu je kovalentní vazbou navázána organická aminopropylová skupina. Jako obecný vzorec hořečnatého aminojílu se uvádí $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3]_8\text{Si}_8\text{Mg}_6\text{O}_{16}(\text{OH})_4$ (Obr. 3) [10][11].



Obr. 3: Struktura hořečnatého aminojílu [11]

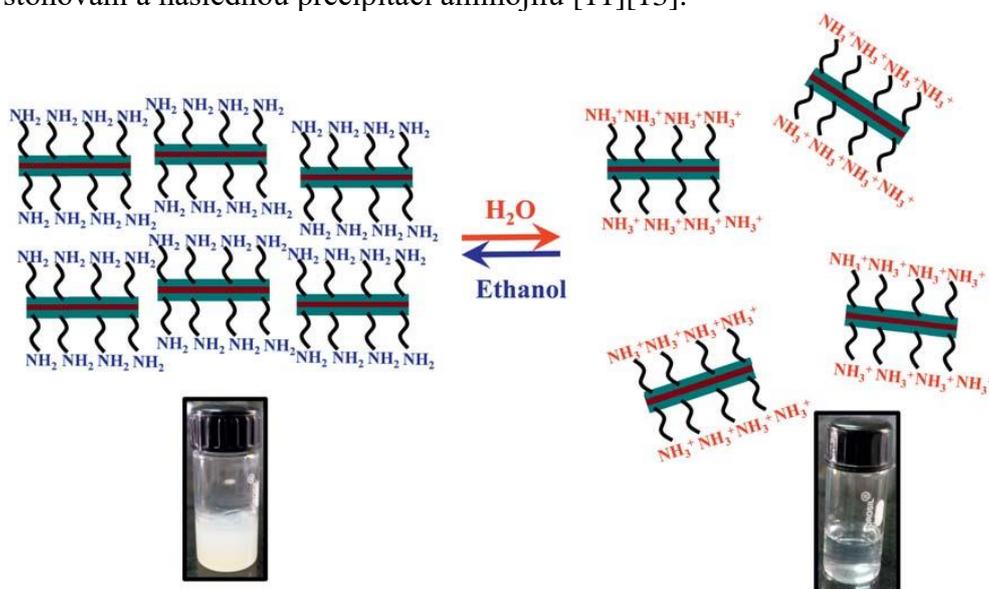
2.2.3 Vlastnosti

Chemické složení je hlavním faktorem ovlivňující povrchové vlastnosti aminojílu. Vlastnosti ovlivňuje počet atomů kyslíku ve struktuře, množství hydroxylových skupin, typ kationtů v mezivrstevním prostoru a nedokonalosti ve struktuře. Postranní organoskupiny, konkrétně jejich typ a délka řetězce, jsou závislé na volbě organotrialkoxysilanu [2][12].

Unikátní vlastností aminojílu je jeho schopnost dispergace v polárních rozpouštědlech, například ve vodě. Exfoliace je umožněna protonací aminoskupin na koncích organických řetězců. Proces exfoliace je možné zvrátit přidáním méně polárních rozpouštědel, například ethanolu (Obr. 4). Pomocí ultrazvuku lze exfoliované vrstvy v roztoku dále rozbít až na nanostruktury o velikosti 30 až 150 nm a tloušťkou 2-4 nm. Takto připravené oligomerní jílové jednotky se pak mohou seskupit kolem biomolekul jako jsou enzymy a deoxyribonukleová kyselina (DNA) a vytvořit funkční hybridní materiály [11].

Stupeň exfoliace aminojílu lze poměrně jednoduše kontrolovat změnou hodnoty pH disperzního prostředí. Hodnota zeta potenciálu aminojílu při pH 9,6, tj. bez jakýchkoliv

úprav pH, je +25 mV, což je zapříčiněno protonací aminoskupin. V koncentračním rozmezí od $1,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ do $5,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ se hodnota zeta potenciálu hořčnatého aminosjálu pohybuje mezi +20 mV a +30 mV. Přidáním nízko polárních rozpouštědel dochází k deprotonaci, což způsobí stohování a následnou precipitaci aminosjálu [11][13].



Obr. 4: Schéma exfoliace aminosjálu [11]

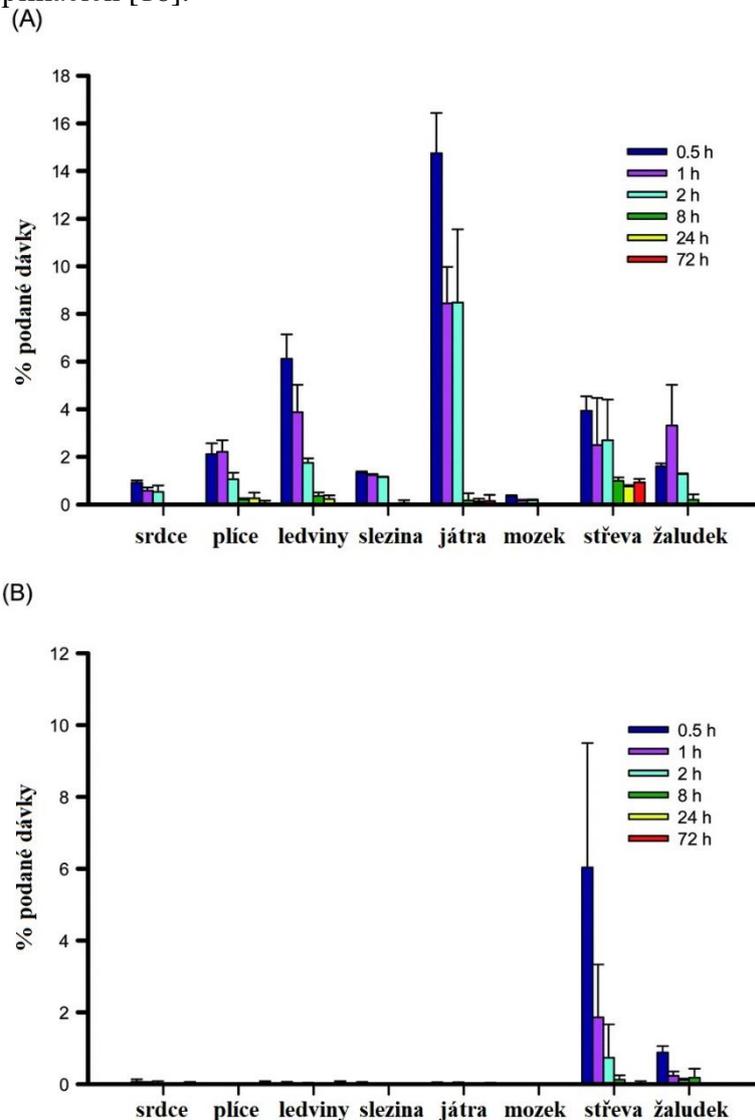
Kladně nabitě vrstvy aminosjálu se ukázaly být dobrým síťovacím činidlem pro organické polymery, umožňující tvorbu nanokompozitních hydrogelů a filmů se zlepšenými mechanickými vlastnostmi. Aminosjál lze použít také jako nosič chromoforů (který je dispergovatelný ve vodě) umožňující účinný přenos energie při sběru světla. Kladný náboj aminoskupin spojený s pH byl zkoumán v kombinaci s léčivými a dalšími negativně nabitými molekulami, možností jejich enkapsulace a následným uvolněním. Lze jej využít ke stabilizaci kovových nanočástic, které jsou využívány v katalýze, optice, biologii a dalších odvětvích [11].

Povrchové funkční aminoskupiny jsou zodpovědné za antimikrobiální účinek aminosjálu, který způsobí smrt bakterií v průběhu několika hodin. Antimikrobiální účinek je vyšší u gramnegativních bakterií než u grampozitivních zástupců. Mechanismus účinku tedy spočívá v depolarizaci membránové struktury mikrobiálních organismů protonovanými aminoskupinami, což vede k úniku obsahu buňky do jejího okolí a způsobí její smrt. Podobné účinky byly pozorovány také u antimykotických studií [14].

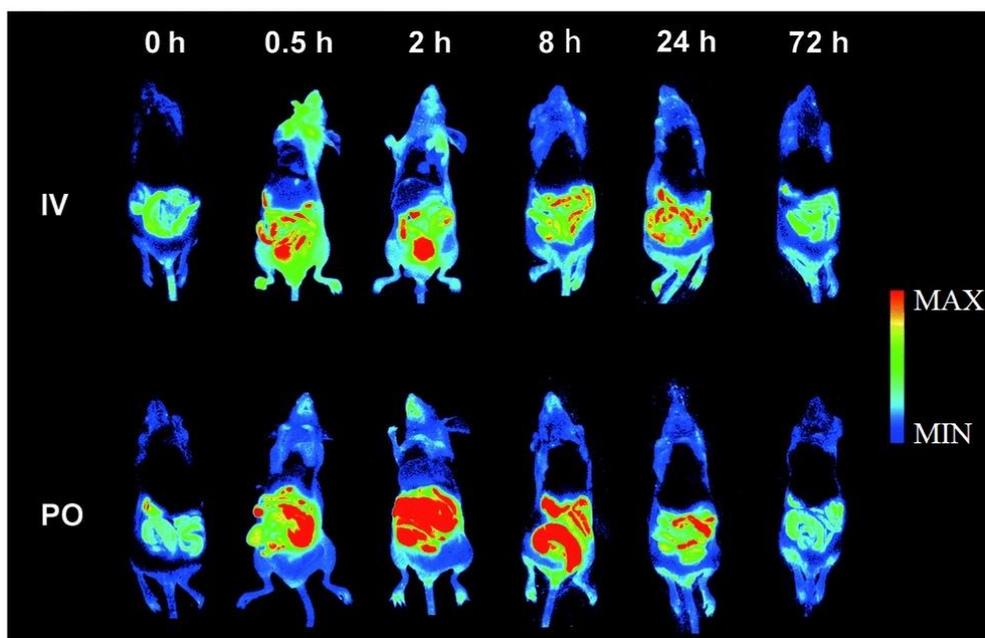
Před jakýmkoliv využitím přírodních či syntetických látek v medicínských aplikacích je nutné znát jejich toxikologické vlastnosti. Cytotoxicita aminosjálu byla studována jak na zdravých lidských buňkách (kožní fibroblasty CCD-986sk a plicní fibroblasty MRC-5), tak na buňkách rakovinových (plicní a střevní epitelové buňky A549 a HT-29), konkrétně závislost cytotoxicity na proměnné koncentraci aminosjálu a na době expozice. Aminosjál výrazně neovlivňuje viabilitu buněk v širokém rozmezí koncentrací od $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ až do $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$, s výjimkou buněk typu A549, u kterých má aminosjál tendenci blokovat viabilitu při koncentraci $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$. Ani dlouhá doba expozice nemá vliv na životaschopnost a proliferaci buněk. Nízkou cytotoxicitu potvrzuje také fakt, že i při vysokých koncentracích ($1000 \mu\text{g}/\text{mL}$) způsobil aminosjál minimální buněčnou smrt. V porovnání s např. oxidem železitým, oxidem

křemičitým nebo jednostěnnými uhlíkovými nanotrubicemi, které jsou toxické pro buňky se hořčnatý aminojíl jeví jako vhodný kandidát pro využití v medicíně, kosmetologii a dalších oborech [15].

Další faktory potřebné k určení, zda je aminojíl potencionálně vhodný k terapeutickému využití je znalost jeho biodistribuce a *in vivo* farmakokinetiky. Yang a kol. studovali *in vivo* farmakokinetiku a biodistribuci hořčnatého aminojílu značeného fluorescenčním barvivem Cy5.0 na myších. Aminojíl byl podán myším jak intravenózně, tak orálně. Po intravenózním podání byl aminojíl velice rychle distribuován do různých orgánů včetně jater, ledvin, střev, žaludku, plic a srdce. S výjimkou žaludku bylo dosaženo maximální hladiny aminojílu v orgánech už po 30 minutách od podání (Obr. 5). Stejně tak došlo následně k rychlému poklesu koncentrace a po 2 hodinách bylo množství aminojílu v orgánech zanedbatelné. V případě orálního podání byl aminojíl detekován majoritně ve střevech a žaludku. Studie probíhala v intervalu 72 hodin, během kterých byl značený aminojíl vyloučen z těla močí a exkrementy bez jakékoliv změny. Rychlá distribuce v organismu a poměrně krátký retenční čas v orgánech bez náznaku akumulace podporují možnost využití aminojílu v medicínských aplikacích [16].



Obr. 5: Biodistribuce Cy5.0-aminojíl (A) intravenózně, (B) orálně [16]



Obr. 6: Fluorescenčně zobrazené vyloučení Cy5.0-aminogelu z myši po intravenózním (IV) a orálním (PO) podání [16]

2.2.4 Syntéza aminogelu

Aminogel lze připravit jednoduchou sol-gel metodou za laboratorní teploty a atmosférického tlaku. Prekurzory syntézy jsou sůl kovu (Mg, Ca, Cu, Zn, Al...) a organotrialkoxysilan. Základní anorganickou kostru hořečnatého aminogelu tvoří hexahydrát chloridu hořečnatého (0,84 g), který je rozpuštěn v ethanolu (20 g). Vzniká čirý a bezbarvý roztok. Za rychlého míchání je po kapkách přidán 3-aminopropyltriethoxysilan (1,3 mL, APTES). Po přidání APTES okamžitě dochází k tvorbě mléčně bílého precipitátu. Suspenze je míchána přes noc a následně je precipitát oddělen od kapalné fáze centrifugací. Precipitát je promyt ethanolom (3 × 50 mL) a sušen v sušárně při 40 °C za vzniku bílých krystalků. Exfoliovaný aminogel se připraví rozpuštěním vysušených krystalků v deionizované vodě za sonifikace [17].

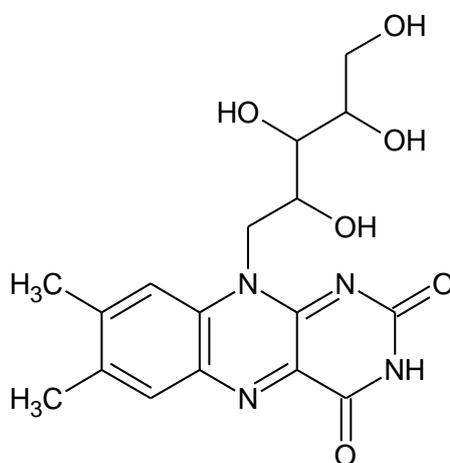
2.3 Biologicky aktivní látky

Biologicky aktivní látky, označovány také jako bioaktivní látky, jsou chemické sloučeniny vyskytující se v malém množství v rostlinách a některých potravinách (ovoce, zelenina, ořechy atd.). Tyto látky mají pozitivní vliv na lidský organismus a často bývají součástí metabolických drah. Biologicky aktivní látky se široce liší chemickou strukturou a funkcí a na základě těchto faktorů jsou rozděleny do skupin. Příkladem lze uvést karotenoidy, flavonoidy, fytosteroly, polyfenolové látky, koenzym Q nebo karnitin. Vzhledem k tomu, že vitamíny a minerály vyvolávají farmakologické účinky, jsou i tyto skupiny chemických sloučenin kategorizovány jako bioaktivní látky. Velké množství biologicky aktivních látek má antioxidační, antikarcinogenní, protizánětlivé a antimikrobiální účinky. Některé látky jsou součástí prevence proti kardiovaskulárním onemocněním [18][19].

2.3.1 Riboflavin

Riboflavin (Obr. 7), taktéž známý jako vitamín B₂, je jeden ze zástupců hydrofilních vitamínů. Řadí se do skupiny flavinů a má žlutou až oranžově žlutou barvu. Stejně jako všechny ostatní vitamíny je riboflavin esenciální látkou, kterou není lidské tělo schopno syntetizovat a je nutné jej přijímat ve stravě. Lidské tělo riboflavin neukládá, a proto musí být neustále doplňován. Je prekurzorem enzymových kofaktorů, například FMN a FAD, který je součástí dýchacího řetězce a jeho redukovaná forma FADH₂ součástí Krebsova cyklu. Nedostatek vitamínu B₂ může vést k ariflavinóze a je spojován hlavně s podvyživenými a malabsorpčními stavy, včetně gastrointestinálních (GI) infekcí [20][21].

UV světlem aktivovaný riboflavin dokáže poškodit patogenní DNA a RNA a tím snížit replikaci bakterií, virů a dalších nežádoucích organismů v krevních produktech. Kombinace riboflavinu a ozařování světlem o vyšších vlnových délkách zpomaluje nebo zastavuje progresi onemocnění rohovky označované jako keratokonus [22].

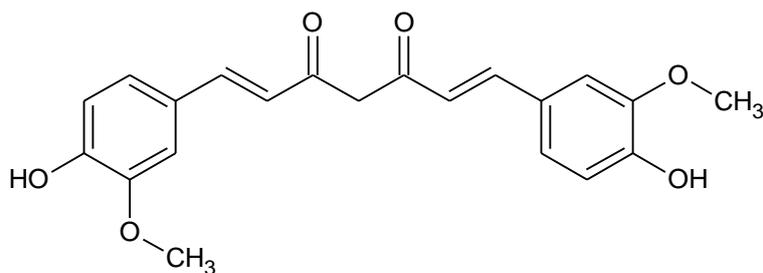


Obr. 7: Struktura riboflavinu

2.3.2 Kurkumin

Kurkumin (Obr. 8), jiným názvem také turmerová žluť nebo diferuloylmethan, je přírodní barvivo žluté až oranžové barvy, které se získává z kořene rostlin rodu kurkuma, hlavně z kurkumy dlouhé. Z pohledu chemické struktury se jedná o β -diketon obsahující dvě feruloylové skupiny. Využívá se jako ochucovadlo, přírodní pigment, nutraceutikum nebo jako antimykotikum [23].

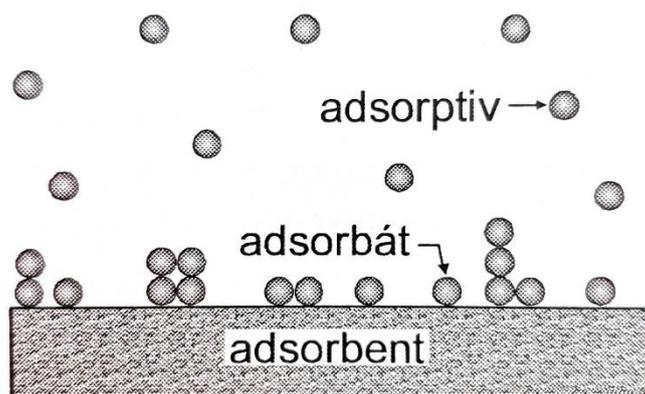
Extremně nízká rozpustnost kurkuminu ve vodě způsobuje také špatnou propustnost přes tkáňové membrány. Kromě toho kurkumin rychle podléhá metabolismu a vykazuje nízkou koncentraci v krevním séru, což má za následek špatnou biologickou dostupnost. I přes tyto nedostatky má kurkumin pozitivní farmaceutický vliv na organismus, například má protirakovinné, antitrombické, antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivé nebo antihyperlipidemické účinky [24].



Obr. 8: Struktura kurkuminu

2.4 Adsorpce

Ve vícefázových systémech dochází na fázovém rozhraní k procesu, který je označován jako adsorpce. Jedná se o samovolné zvyšování koncentrace určité látky na fázovém rozhraní. K adsorpci dochází za účelem snížení mezifázové energie. Fáze, nebo látka, na jejímž povrchu dochází k adsorpci složky systému, se označuje jako adsorbent. Složka, která se nachází v objemu a má být adsorbována se nazývá adsorptiv. Látka, která je v adsorbovaném stavu je adsorbát. Podle typu fázového rozhraní je adsorpce rozlišována na adsorpci z kapalně fáze na tuhé látce, adsorpci z plynné fáze na tuhé látce a adsorpci na rozhraní roztok/plyn [25][26][27].



Obr. 9: Definice pojmů [27]

Velikost plochy povrchu pevného adsorbentu je jedním z nejdůležitějších údajů pro charakterizaci povrchových vlastností. Zároveň je nutné, aby měla pevná látka dostatečně velký měrný povrch a adsorpce byla vůbec měřitelná [26].

Adsorbenty jsou tedy pevné látky s velkým měrným povrchem, používané pro zachytávání molekul kapalin, plynů, ale i jiných pevných látek. Adsorbenty jsou rozděleny do dvou hlavních kategorií – přírodní a umělé. Mezi přírodní adsorbenty patří například zeolity, hlínky, saze atd. Mezi nejvýznamnější umělé adsorbenty patří aktivní uhlí, silikagel, oxidy hliníku a titanu nebo porézní sklo [27]. Velký vliv na adsorpční vlastnosti pevných adsorbentů má znečištění jejich povrchu a při jejich přečišťování je nutné dbát na to, aby nedošlo ke změnám struktury nebo splynutí pórů [26].

Charakteristika adsorpce závisí jak na povaze adsorbentu, tak na povaze adsorbované látky. Na základě typu sil uplatňujících se při procesu adsorpce ji rozdělujeme na fyzikální adsorpci a chemisorpci [27].

2.4.1 Fyzikální adsorpce

V případě fyzikální adsorpce jsou molekuly plynu nebo kapaliny vázány k povrchu pevného adsorbentu fyzikálními, konkrétně van der Waalsovými silami. Tyto síly působí mezi všemi typy částic. Z tohoto důvodu není fyzikální adsorpce specifickou reakcí, a tudíž probíhá na celém povrchu adsorbentu. Může docházet k vícevrstvé adsorpci, tedy k jevu, kdy se na první adsorbované vrstvě molekul začnou tvořit další vrstvy adsorbátu. Fyzikální adsorpce je velice rychlý proces [28].

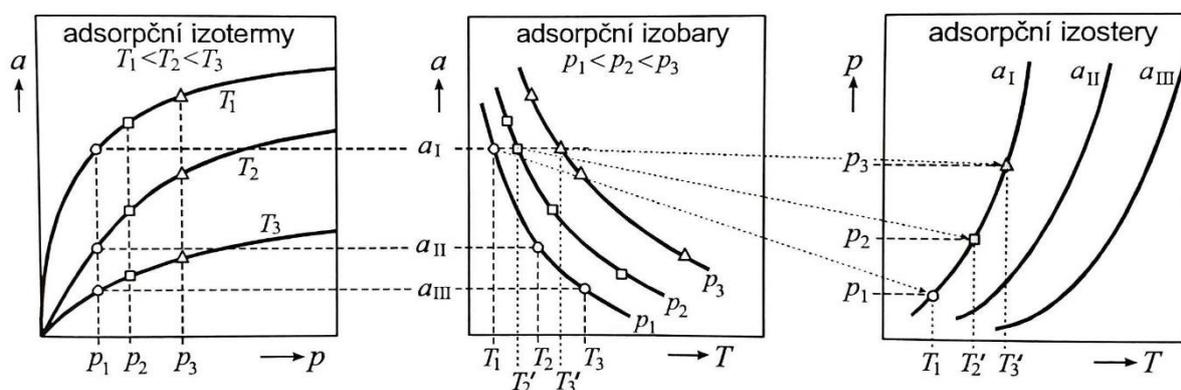
2.4.2 Chemisorpce

U chemisorpce vznikají mezi molekulami adsorbované látky a pevného adsorbentu chemické vazby. Tento typ adsorpce je velmi specifický, protože chemické vazby mohou vznikat pouze mezi určitými molekulami. Aby vůbec došlo k vytvoření chemické vazby, je nutná aktivační energie. K chemisorpci tudíž dochází na tzv. aktivních centrech, tj. místech s vyšší energií. S tím souvisí i fakt, že chemisorpce je monovrstvá. Pokud dochází k tvorbám dalších vrstev, uplatňují se u nich pouze síly fyzikální. Chemisorpce je pomalým dějem, a to obzvláště při nízkých teplotách [28].

2.4.3 Adsorpční rovnováha

Množství adsorbované látky a je závislé na několika faktorech (velikost měrného povrchu, teplota, parciální tlak adsorbované látky atd.). Nejčastěji je rovnovážné adsorbované množství vyjádřeno jako počet molů, hmotnost nebo objem naadsorbované látky, přepočtený na normální podmínky. V případě adsorpce na pevném povrchu jsou tyto veličiny vztaženy na jednotku hmotnosti pevného adsorbentu, protože stanovení velikosti povrchu je u pevných adsorbentů složité a nejednoznačné. Adsorpce je z pravidla účinnější při nižších teplotách, protože se jedná o exotermní reakci [27][29].

Mezi adsorbentem a adsorbovanou látkou dochází po určitém čase k ustanovení adsorpční rovnováhy. V případě adsorpce z kapalné fáze na tuhé látce je rovnovážné množství naadsorbované látky úměrné koncentraci při konstantní teplotě. Tato závislost je označovaná jako adsorpční izoterma. Stejně jako adsorpční izotermy, se experimentálně stanovují adsorpční izobary (závislost adsorbovaného množství na teplotě za konstantního tlaku) a adsorpční izostery (závislost rovnovážného tlaku na teplotě při konstantním adsorbovaném množství). Nejčastěji jsou měřeny adsorpční izotermy. Nejznámější a nejčastěji používané izotermy jsou Freundlichova adsorpční izoterma a Langmuirova adsorpční izoterma [30].



Obr. 10: Grafické znázornění adsorpčních dat [27]

2.4.3.1 Freundlichova izoterma

Freundlichova adsorpční izoterma je nejstarším analytickým vyjádřením závislosti adsorbovaného množství plynu a na tuhém adsorbentu na jeho rovnovážném tlaku p (1). Je formulována empiricky na základě experimentálně získaných dat a na rozdíl od Langmuirovy adsorpční izotermy není lineární ani při nízkých tlacích a nevykazuje limitní hodnotu adsorbovaného množství při tlacích vysokých. Její průběh často připomíná parabolu.

$$a = k \cdot p^{1/n} \quad (1)$$

a , jak již bylo zmíněno, je adsorbované množství, p je rovnovážný tlak, k a n jsou empirické konstanty. Pro ověření vhodnosti Freundlichovy izotermy pro naměřená data je vhodné přenést vztah do lineárního tvaru(2):

$$\ln a = \ln k + \frac{1}{n} \ln p \quad (2)$$

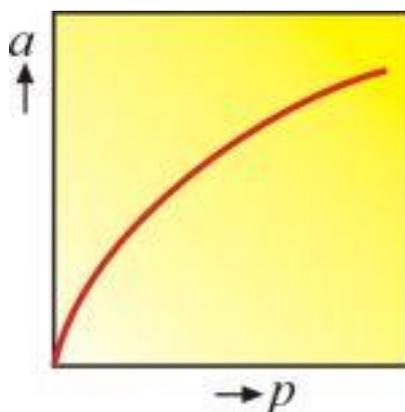
Tyto rovnice platí ovšem pro případ adsorpcí na fázovém rozhraní pevná látka-plyn. Aby bylo možné tyto rovnice použít pro adsorpci z kapalně fáze na pevném povrchu je nutná jejich příslušná úprava:

$$a = k \cdot c^n \quad (3)$$

a pro lineární tvar:

$$\ln a = \ln k + n \cdot \ln c \quad (4)$$

kde c je v obou rovnicích (3) a (4) rovnovážná koncentrace adsorbované složky [30][31].



Obr. 11: Grafické znázornění Freundlichovy izotermy [31]

2.4.3.2 Langmuirova izoterma

Langmuirova adsorpční izoterma je stejně jako Freundlichova adsorpční izoterma vyjádřením závislosti adsorbovaného množství plynu na povrchu tuhého adsorbentu ta konstantní teploty. Vznikla na základě kinetických představ za několika předpokladů:

- vytváří se pouze jedna vrstva molekul (monovrstva) – z tohoto důvodu je zvlášť vhodná pro chemisorpci,
- pravděpodobnost adsorpce je stejná na všech místech povrchu,
- adsorbované molekuly se navzájem neovlivňují

Odvození Langmuirovy izotermy vychází ze vztahů popisující rychlost adsorpce a desorpce. Na základě zmíněného předpokladu vzniku monovrstvy je rychlost, kterou se molekuly adsorbované látky zachycují na povrchu adsorbentu, úměrná podílu volného povrchu:

$$r_{ads} = k_{ads} \cdot (1 - \theta) \cdot p \quad (5)$$

kde θ je podíl obsazeného povrchu, $(1-\theta)$ je podíl volného povrchu, p tlak adsorbovaného plynu a k_{ads} je konstanta úměrnosti.

Rovnici rychlosti adsorpce (5) je ovšem potřeba opět upravit, aby ji bylo možné uplatnit na adsorpci z kapalně fáze a c je koncentrace adsorbované látky:

$$r_{ads} = k_{ads} \cdot (1 - \theta) \cdot c \quad (6)$$

Současně s adsorpcí ale dochází také k desorpci molekul zachycených na povrchu pevného adsorbentu. Rychlost desorpce je popsána rovnicí:

$$r_{des} = k_{des} \cdot \theta \quad (7)$$

v momentě ustavení adsorpční rovnováhy platí, že:

$$r_{ads} = r_{des} \quad (8)$$

$$k_{ads} \cdot (1 - \theta) \cdot c = k_{des} \cdot \theta \quad (9)$$

a

$$\theta = \frac{\frac{k_{ads}}{k_{des}} \cdot c}{1 + \frac{k_{ads}}{k_{des}} \cdot c} = \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c} \quad (10)$$

Konstanta b byla zavedena pro poměr adsorpční a desorpční konstanty a je pouze funkcí teploty:

$$b = \frac{k_{ads}}{k_{des}} \quad (11)$$

Podíl obsazeného povrchu θ lze popsat jako poměr adsorbovaného množství látky ku maximálnímu množství adsorbované látky, které je potřeba k pokrytí povrchu adsorbentu monovrstvou:

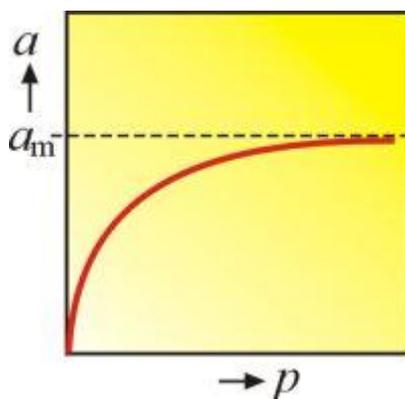
$$\theta = \frac{a}{a_{\max}} \quad (12)$$

Spojením rovnic (10) a (12) vznikne tvar rovnice Langmuirovy izotermy, který je používán v praxi:

$$a = a_{\max} \cdot \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c} \quad (13)$$

V oblasti velmi nízkých tlaků je závislost lineární a v případě vysokých tlaků se adsorbované množství látky blíží limitní hodnotě.

Při zpracování experimentálních dat je opět vhodné využít linearizované formy. Pokud dochází k odchýlení Langmuirovy rovnice od skutečného průběhu izotermy, může být na vině nesterodnost povrchu adsorbentu a vzájemné ovlivňování molekul adsorbované látky [30][32][33].



Obr. 12: Grafické znázornění Langmuirovy izotermy [33]

2.4.4 Adsorpční kinetika

Celý průběh adsorpční reakce lze popsat nejen termodynamickými, ale také kinetickými modely. Kinetické analýzy umožňují stanovení rychlosti, kterou daná adsorpce probíhá a určuje rovnovážný stav systému. Existuje několik matematických modelů, které se využívají ke analýze kinetiky adsorpce. Adsorpční modely odvozené z kinetiky chemických reakcí jsou založeny na procesu adsorpce jako celku a k popisu adsorpční kinetiky jsou využívány tři matematické modely:

- Langergrenova rovnice pseudo-prvního řádu
- Ho a McKayova rovnice pseudo-druhého řádu
- Weber-Morrisova rovnice

2.4.4.1 Pseudo-první řád reakce

Langergrenova rovnice je považována za první rovnici prvního řádu využívající adsorpční kapacitu adsorbentu ke stanovení rychlosti adsorpce:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_{p1}(q_E - q_t) \quad (14)$$

kde q_E a q_t jsou adsorbovaná množství látky [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$] v rovnovážném stavu a v čase t [min] a k_{p1} [min^{-1}] je rychlostní konstanta kinetického modelu. Integrační úpravou se zavedenými podmínkami ($q_t = 0$, $t = 0$ a $q_t = q_t$ při $t = t$) získáme rovnici ve tvaru:

$$\ln\left(\frac{q_E}{q_E - q_t}\right) = k_{p1}t \quad (15)$$

Lineární tvar této rovnice je pak:

$$\ln(q_E - q_t) = \log q_E - \frac{k_{p1}}{2,303} \cdot t \quad (16)$$

Langergrenova rovnice je také označována jako rovnice pseudo-prvního řádu a je založena na odlišení adsorpční kapacity od koncentrace adsorbované látky v roztoku [34].

2.4.4.2 Pseudo-druhý řád reakce

Ho v roce 1995 popsal kinetický proces adsorpce dvojmocných iontů kovů na rašelinu. Tuto reakci lze popsat následovně:



a



kde M^{2+} je bivalentní kation a P^- s HP jsou aktivní místa na povrchu rašeliny. Základními předpoklady pro rovnice (17) a (18) bylo, že adsorpce probíhala podle kinetiky druhého řádu a faktor omezující rychlost je chemická adsorpce určující krok rychlosti valenční síly výměnou elektronů (nebo jejich sdílením) mezi dvojmocnými kovy a aktivními místy na povrchu adsorbentu. Kinetiku takovéto reakce lze popsat vztahem:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_{p2}(q_E - q_t)^2 \quad (19)$$

kde q_E a q_t jsou opět koncentrace adsorbované látky [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$] v rovnováze a v čase t [min] a k_{p2} [min^{-1}] je rychlostní konstanta. Integrací rovnice (19) a zavedením podmínek pro $q_t = 0$, $t = 0$ a $q_t = q_t$, $t = t$ získáme vztah:

$$\frac{1}{q_E - q_t} = \frac{1}{q_E} + k_{p2}t \quad (20)$$

Tento kinetický model je známý jako model pseudo-druhého řádu, rovnice byla úspěšně aplikována u adsorpcí mnoha látek a více odpovídá experimentálním výsledkům v porovnání s modelem pseudo-prvního řádu. Většina adsorpčních reakcí probíhá pseudo-druhým řádem [34].

2.5 UV-VIS spektrometrie

2.5.1 Základní informace a princip metody

UV-VIS spektro(foto)metrie patří mezi základní analytické metody. Jedná se o jednu z optických metod. Optické metody jsou založeny na pozorování a měření interakce elektromagnetického záření s hmotou. UV-VIS spektrometrii lze použít ke kvantitativní i kvalitativní analýze anorganických, organických i biologických látek a výstupem měření je absorpční spektrum, tj. závislost absorbance analytu na vlnové délce [35][36].

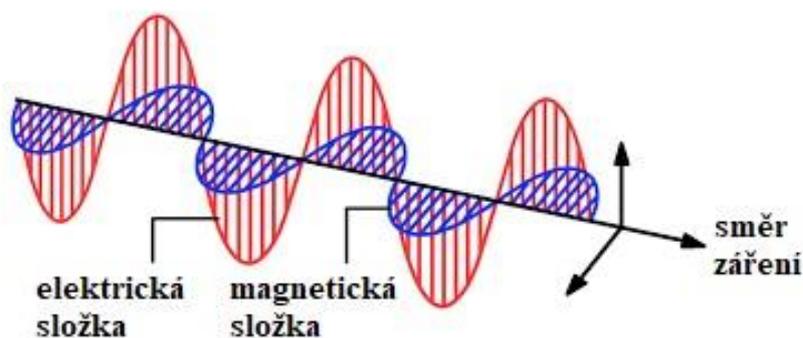
Elektromagnetické záření se chová zároveň jako vlnění a jako proud fotonů (částic s nulovou klidovou hmotností). Skládá se ze dvou periodicky oscilujících složek – elektrické a magnetické, které lze popsat sinusovou funkcí. Obě složky jsou vůči sobě kolmé a zároveň jsou kolmé i ke směru záření (Obr. 13).

Frekvence záření je počet kmitů, které proběhnou za jednu vteřinu. Vlnová délka je vzdálenost dvou následujících maxim, případně minim vlnění. Platí přímá úměrnost mezi energií fotonu a jeho frekvencí a nepřímá úměrnost mezi energií a vlnovou délkou.

Vztah mezi frekvencí a vlnovou délkou je definován:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (21)$$

kde ν je frekvence, λ je vlnová délka a c je rychlost světla ve vakuu [35][36].



Obr. 13: Elektromagnetické záření [37]

Principem UV-VIS spektrometrie je měření absorpce elektromagnetického záření v ultrafialové (200-400 nm) a viditelné (400-800 nm) oblasti analyzovaným vzorkem. Během absorpce záření dochází k výměně energie mezi fotony a hmotou, což způsobí excitaci valenčních elektronů v molekulách vzorku a jejich přesunu do vyšších energetických hladin. Elektrony setrvávají v excitovaném stavu velice krátkou dobu (nanosekundy) a následně se vrací zpět na základní energetickou hladinu (deexcitace). Za běžných podmínek se atomy

a molekuly vyskytují v základním stavu. Tyto interakce spojené s přechody jsou závislé na energii použitého záření [36].

Analyzovaná látka dokáže absorbovat záření o určité frekvenci, která je pro tuto látku specifická. Adsorpcí záření dochází k zeslabení zářivého toku přicházejícího ze zdroje. Tento pokles je závislý na koncentraci analytu ve vzorku a je možné jej kvantitativně popsat Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem (často pouze jako Lambert-Beerův zákon):

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l \quad (22)$$

Kde A [-] je absorbance, ε_{λ} [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$] je molární absorpční koeficient, c [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] látková koncentrace a l [cm] tloušťka absorbující vrstvy. Lambert-Beerův zákon je splněn pouze u roztoků analytů, které nepřevyšují koncentraci zhruba $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Transmitanci T prostředí s analytem je možné popsat jako poměr prošlého zářivého toku Φ vůči původnímu zářivému toku Φ_0 přicházejícího ze zdroje a často se vyjadřuje v procentech:

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0} \cdot 100 \% \quad (23)$$

Absorbanci můžeme, kromě Lambert-Beerovým zákonem (22), vyjádřit také jako záporný dekadický logaritmus transmitance:

$$A = -\log T = -\log \frac{\Phi}{\Phi_0} = \log \frac{\Phi_0}{\Phi} \quad (24)$$

Protože je vzorek analytu umístěn v kyvetě (křemenná pro UV oblast, skleněná nebo plastová pro viditelnou oblast), nelze přímo použít rovnice absorbance a transmitance. V praxi je potřeba nejdříve změřit tzv. blank (prázdný vzorek neobsahující měřený analyt), aby byly eliminovány rušivé elementy spojené např. s materiálem, ze které je vyrobená kyveta, odrazem záření na rozhraní prostředí nebo rozptylem záření v roztoku. Hodnoty absorbance by neměly přesahovat hodnotu 1, proto se měří zředěné roztoky [36].

2.5.2 Instrumentace

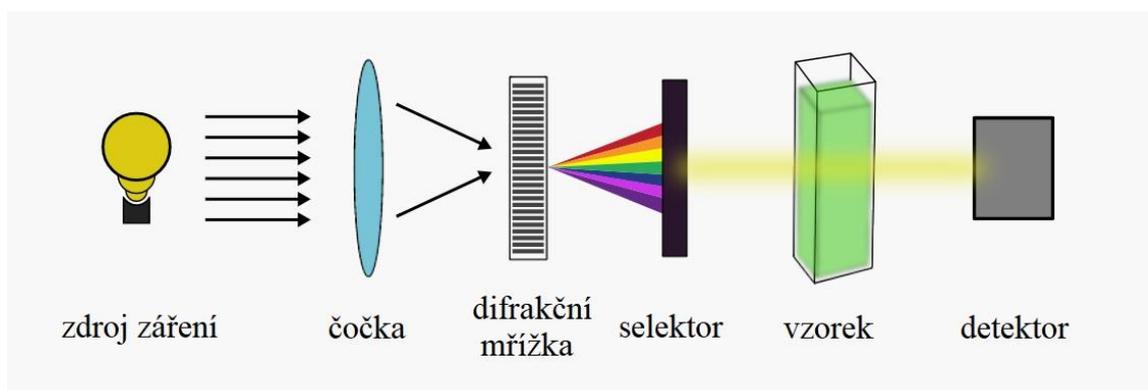
Celý systém potřebný k měření absorbance záření analytem se skládá z několika komponent. Prvním je zdroj stabilního záření, následovaný selektorem vlnových délek a celou, ve které jsou umístěny jedna nebo dvě kyvety. Čtvrtou komponentou je detektor záření, který přemění dopadající zářivý ton na měřitelný elektrický signál. Poslední částí je jednotka umožňující zpracování elektrického signálu a sběr dat [35][36].

Zdrojů stabilního záření je ve spektrofotometrii hned několik. Wolframové žárovky poskytují elektromagnetické záření pouze v oblasti viditelných vlnových délek a nelze je tak využít při měření v UV oblasti. Kombinace křemenného skla, wolframového vlákna a halogenu umožňuje halogenovým žárovkám emitovat světlo i v ultrafialové oblasti spektra. Jako zdroj UV záření se ovšem mnohem častěji využívají deuteriové výbojky, což jsou evakuované skleněné trubice naplněné deuteriem o nízkém tlaku. Alternativou kombinace deuteriové

výbojky a halogenové zářivky je xenonová, která pokrývá spektrální oblasti ultrafialových i viditelných vlnových délek [35][36][38].

Selektory vlnových délek jsou součástí spektrometru umožňující vyčlenění úzkého pásu vlnových délek měřeného záření, které je absorbováno nebo emitováno vzorkem. Zároveň tím zvyšují citlivost a selektivitu daného spektrometru. Většina přístrojů využívá buď monochromátoru nebo filtru. Součástí monochromátoru je difrakční mřížka, která rozkládá paprsek světla na jednotlivé vlnové délky a její rotací lze docílit, že výstupní štěrbinou prochází zvolená vlnová délka. Před zavedením difrakční mřížky byl používán optický hranol. Kromě výstupní štěrbinu obsahuje monochromátor také štěrbinu vstupní, kolimační čočku a zaostřovací čočku. Velké množství běžně používaných monochromátorů mají navíc nastavitelné štěrbinu, které umožňují měnit rozsah spektrálního intervalu. Filtry fungují na principu blokáce nebo absorpce záření o jiných vlnových délkách než těch právě zvolených [35][36][38].

Podmínkou získání spektroskopické informace je účinná detekce propuštěného (případně emitovaného) záření a jeho následná transformace na měřitelný signál. Tuto úlohu zastávají ve spektrofotometrech detektory schopné zaznamenat změny v elektromagnetickém záření a převést ho na elektrický proud nebo napětí. Tyto převody jsou velice rychlé. Běžně používaným detektorem v UV-VIS spektrometrii je fotonásobič. Ten se skládá z fotoemisní katody (katoda, která při dopadu fotonů emituje elektrony), několika dynod (každý dopadající elektron způsobí emisi více elektronů) a anody. Fotonásobiče jsou velmi citlivé detektory s rychlou odezvou. Fotodiodové pole obsahuje mnoho malých křemíkových fotodiod vytvářených na jediném křemíkovém čipu. Nejběžněji je na čipu 1024 fotodiod. U každé diody je navíc akumulární kondenzátor a vypínač a jednotlivé obvody dioda-kondenzátor je možné postupně skenovat. CCD detektory jsou obdobou detektorů s diodovým polem, ale místo diod jsou složeny z pole fotokondenzátorů [38].



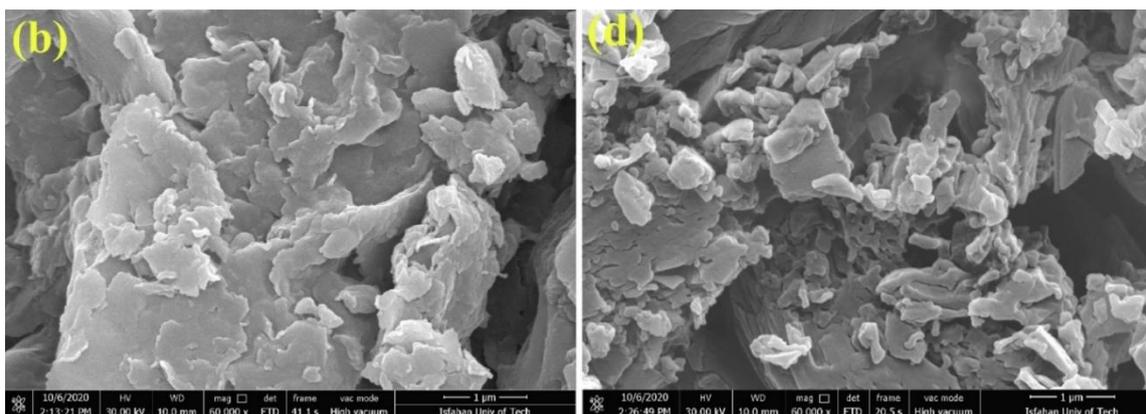
Obr. 14: Schéma UV-VIS spektrofotometru [39]

2.6 Současný stav problematiky

Aminojíl-azitromycin

Javad Imanipoor a kolektiv studovali možnost využití hořečnatého aminojílu a L-methioninem modifikovaného montmorillonitu K10 jako adsorbentů polosyntetického makrolidového antibiotika azitromycinu z odpadních vod. Zaměřili se na parametry ovlivňující adsorpční proces jako je pH, iontová síla, kontaktní doba, počáteční koncentrace adsorbentů

i sorbovaného antibiotika a vliv teploty. Přestože je azitromycin léčivo, jeho přítomnost v odpadních vodách může mít negativní vliv nejen na přírodní prostředí, ale i na zdraví člověka. Výsledky studie ukázaly, že jsou oba typy adsorbentů vhodné pro odstranění azitromycinu z vody s účinností více než 90 % (93 % u aminojílu a 98 % u modifikovaného montmorillonitu). Ideální podmínky pro adsorpci léčiva byly $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ koncentrace adsorbentu, při pH $8,0\pm 0,1$, teplotě 298 K a době kontaktu 180 minut, přestože rovnováha nastala už po 90 minutách. Model Freundlichovy izotermy se ukázal být více kompatibilní se získanými daty než model Langmuirovy a proces adsorpce probíhal podle pseudo-druhého kinetického řádu [40].



Obr. 15: FE-SEM obraz aminojílu před adsorpcí (b) a po adsorpci (d) [40]

Aminojíl-insulin

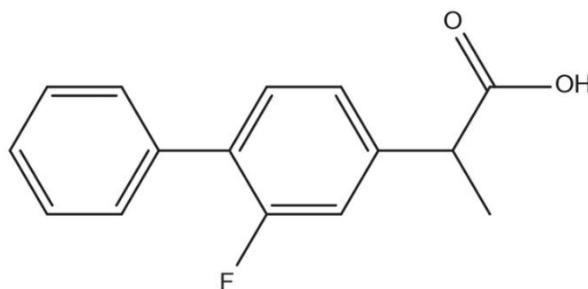
Proteinová terapeutika mají velký potenciál při léčbě mnoha onemocnění, ovšem možnost jejich orálního podání čelí mnoha překážkám, včetně nestability v gastrointestinálním traktu a nízké permeabilitě. Jae Geun Song a kol. připravili nanokompozitní systém cílené distribuce proteinových léčiv na M-buňky pro orální podání. Jako modelové proteinové terapeutikum byl zvolen insulin, který byl nasorbován na aminojíl za vzniku komplexu AMJ-insulin. Takto připravený komplex byl následně potažen UEA-1 – látkou zajišťující zacílení na M-buňky. Přes vrstvu UEA-1 byl nanesen pH citlivý polymer Eudragit® L100 (EUAC-Ins), aby došlo k ochraně komplexu před nízkým pH v GI traktu. EUAC-Ins účinně zabránilo uvolnění léčiva při nízkém pH a umožnilo rychlé uvolnění komplexu při pH 6,8 v důsledku rozpuštění vnější krycí vrstvy. UEA-1 zajistilo zacílení na M-buňky a aminojíl zajistil zachování bioaktivity insulinu a zvýšil jeho permeabilitu [41].

Aminojíl-BSA

Sang Hoon Lee a kol. provedli obdobnou studii. V tomto případě byl jako modelový protein vybrán hovězí sérový albumin (BSA). Byl připraven komplex aminojíl-BSA smícháním roztoku aminojílu a roztoku hovězího sérového albuminu. Komplex byl poté potažen glykol-chitosanem a polymerem citlivým na pH – Eudragit®L100-55. Stejně jako u předchozí studie byl BSA účinně ochráněn před kyselým pH GI traktu a trávicími enzymy a díky aminojílu si zachoval svou přirozenou strukturu a bioaktivitu a vykazoval dobrou permeabilitu. Potažení glykol-chitosanem byl možný díky tomu, že adsorpcí BSA na aminojíl nedošlo k úplnému vyrovnání kladných a záporných nábojů a komplex měl celkově záporný náboj [42].

Aminojíl-flurbiprofen

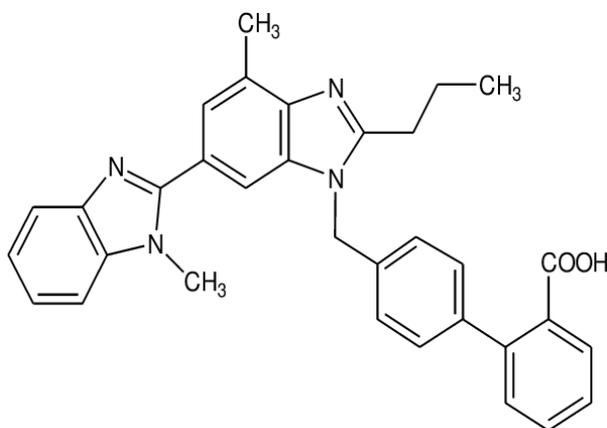
Flurbiprofen je ve vodě málo rozpustné léčivo s analgetickým, antipyretickým a antiflogistickým účinkem. Hyo Kyung Han a kolektiv se zaměřili na způsob zlepšení jeho biologické dostupnosti kombinací s hořčnatým aminojílem. Pro studii byly připraveny 3 typy vzorků aminojíl-léčivo (1:1, 1:2 a 1:3). Vzorky byly připraveny přidáním roztoku flurbiprofenu (1 mL, 10 mg·mL⁻¹) do roztoku aminojílu, kdy došlo k okamžité precipitaci a následně byl produkt odstředěn. Studie prokázala zvýšenou rozpustnost komplexů aminojíl-flurbiprofen v porovnání s rozpustností čistého flurbiprofenu, kdy více než 60 % léčiva bylo uvolněno z komplexu už po 30 minutách od rozpuštění a kompletně bylo léčivo uvolněno po 2 hodinách. Součástí studie bylo per orální podání komplexu krysám. Tyto výsledky ukázaly, že se zvýšila biologická dostupnost flurbiprofenu, který byl ve formě komplexu [43].



Obr. 16: Struktura flurbiprofenu [44]

Aminojíl-telmisartan

Telmisartan je dalším zástupcem ve vodě špatně rozpustných léčiv a je prakticky nerozpustný i v široké škále pH (3-9). Tyto faktory způsobují jeho špatnou biologickou dostupnost, a tudíž omezují i farmakologické využití. Pomalým smícháním roztoku telmisartanu s vodnými roztoky aminojílu o různých koncentracích (10 mg·mL⁻¹, 20 mg·mL⁻¹, 30 mg·mL⁻¹ a 40 mg·mL⁻¹) došlo k adsorpci léčiva na aminojíl a vzniku komplexu. Tento komplex byl lépe rozpustný ve vodě a zároveň i v širším rozmezí pH (kyselé a neutrální) v porovnání se samotným telmisartanem. Při pH 4 bylo z komplexu uvolněno 75 % a při pH 6,8 dokonce 100 % léčiva [45].



Obr. 17: Struktura telmisartanu [46]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Hexahdrát chloridu hořečnatého $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
výrobce: Sigma Aldrich, CAS: 7791-18-6
- 3-aminopropyltriethoxysilan (APTES) $\text{C}_9\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Si}$
výrobce: Sigma Aldrich, CAS: 919-30-2
- Ethanol laboratorní $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (40%)
- Ethanol absolutní p.a. $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (99,8%)
výrobce: Penta, CAS: 64-17-5
- (-)-Riboflavin $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ (pro HPLC >98,0%)
výrobce: Fluka, CAS: 83-88-5
- Kurkumin z *Curcuma longa* $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (pro HPLC >65%)
výrobce: Sigma Aldrich, CAS: 458-37-7
- Aceton čistý $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$
výrobce: Lachner, CAS: 67-64-1
- Hydroxid sodný mikroperly p.a. NaOH
výrobce: Penta, CAS: 1310-73-2
- Kyselina chlorovodíková odměrný roztok 0,1 mol/L HCl
výrobce: Penta, CAS: 7647-01-0

3.2 Použité přístroje

- Předvážky DENVER INSTRUMENT S-603
- Analytické váhy OHAUS PIONEER™ PA214CM
- Magnetická míchačka THERMO FISHER SCIENTIFIC Cinamer i Poly 15
- Magnetická míchačka s ohřevem Heidolph Instruments MR Hei-Tec
- Odstředivka Hettich Zentrifugen Rotofix 32
- Odstředivka Hettich Zentrifugen Rotina 420R
- Sušárna BMT Medical Technology Ecocell
- pH metr Mettler Toledo SevenEasy
- UV-VIS spektrofotometr Varian Cary 50 Probe
- Ultrazvuková lázeň VWR USC 300 TH

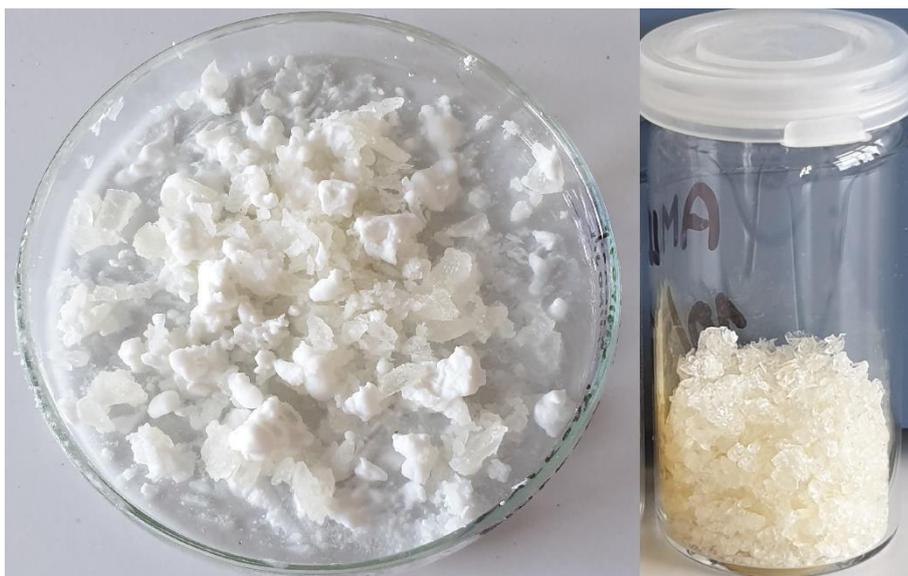
3.3 Syntéza aminojílu

Pro syntézu aminojílu bylo 8,4 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ rozpuštěno ve 250 mL laboratorního ethanolu. Za intenzivního míchání na magnetické míchače bylo do čirého a bezbarvého roztoku přidáno po kapkách 13 mL APTES. Mléčně bílá suspenze, která vznikla okamžitě po přidání organotrialkoxysilanu byla ponechána přes noc k odpaření.



Obr. 18: Roztoky před přidáním APTES (vpravo) a po přidání APTES (vlevo)

Následně byl precipitát opět rozpuštěn ve 200 mL laboratorního ethanolu. Vzniklá suspenze byla odstředěna, supernatant odstraněn (4000 rpm/20 min) a sediment byl sušen při teplotě 50 °C. Vysušené krystalky byly rozpuštěny ve 100 mL deionizované vody. Dalším krokem bylo přesrážení aminojílu 500 mL laboratorního ethanolu. Znovu následovalo odstředění. Sedimentovaný aminojíl byl nakonec promyt absolutním ethanolem, odstředěn a sušen při teplotě 50 °C.



Obr. 19: Odstředěný aminojíl (vlevo), hotový aminojíl (vpravo)

3.4 Vlastní příprava vzorků

Kalibrační roztoky

Pro změření kalibrační křivky riboflavinu byly připraveny vodné roztoky o koncentracích $1 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$, $4 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$ a $8 \cdot 10^{-5}$ mol·dm⁻³. V případě kurkuminu byla potřebná navážka rozpuštěna v acetotu a byly připraveny odměrné roztoky o koncentraci $5 \cdot 10^{-6}$, $7,5 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $1,25 \cdot 10^{-5}$ a $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol·dm⁻³. Kalibrační roztoky byly změřeny na UV-VIS spektrofotometru proti blankům: MQ voda pro roztoky riboflavinu a acetonem pro roztoky kurkuminu.

Adsorpční kapacita q_e , účinnost adsorpce R a adsorpční izotermy

Byl připraven zásobní roztok riboflavinu o koncentraci $2 \cdot 10^{-4}$ mol·dm⁻³, ze kterého byly následně naředěny roztoky o různých koncentracích (viz. Tabulka 1). Zároveň byl připraven také roztok riboflavinu o koncentraci $2,23 \cdot 10^{-4}$ mol·dm⁻³. Do připravených roztoků o objemu 10 mL bylo nasypáno vždy 0,001 g aminojílu, aby výsledná koncentrace aminojílu v roztoku byla $0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Vzorky byly následně míchány na magnetické míchače po dobu 2 hodin, poté ihned odstředěny na centrifuze, supernatanty odebrány a byly změřeny jejich absorpční spektra.

Tabulka 1: Koncentrace vzorků riboflavinu pro q_e , R a izotermy

č. vzorku	c [mol·dm ⁻³]	č. vzorku	c [mol·dm ⁻³]
1.	$1 \cdot 10^{-5}$	11.	$1,1 \cdot 10^{-4}$
2.	$2 \cdot 10^{-5}$	12.	$1,2 \cdot 10^{-4}$
3.	$3 \cdot 10^{-5}$	13.	$1,3 \cdot 10^{-4}$
4.	$4 \cdot 10^{-5}$	14.	$1,4 \cdot 10^{-4}$
5.	$5 \cdot 10^{-5}$	15.	$1,5 \cdot 10^{-4}$
6.	$6 \cdot 10^{-5}$	16.	$1,6 \cdot 10^{-4}$
7.	$7 \cdot 10^{-5}$	17.	$1,7 \cdot 10^{-4}$
8.	$8 \cdot 10^{-5}$	18.	$1,8 \cdot 10^{-4}$
9.	$9 \cdot 10^{-5}$	19.	$1,9 \cdot 10^{-4}$
10.	$1 \cdot 10^{-4}$	20.	$2 \cdot 10^{-4}$

Vzorky s kurkuminem byly připraveny navážením různého množství kurkuminu (viz. Tabulka 2) přímo do centrifugačních zkumavek, do kterých bylo následně opatrně napipetováno 10 mL roztoku aminojílu o koncentraci $0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Roztok aminojílu byl připraven rozpuštěním odpovídajícího množství aminojílu v deionizované vodě a poté 20 minut sonifikován. Zároveň byly připraveny také blanky bez aminojílu. Připravené vzorky a blanky byly nechány 2 hodiny k zreagování, odstředěny a supernatanty vzorků změřeny na spektrofotometru proti blankům dané koncentrace.

Tabulka 2: Navážky kurkuminu pro q_e , R a izotermy

č. vzorku	$m_{\text{kurkumin}} [\text{g}]$	č. vzorku	$m_{\text{kurkumin}} [\text{g}]$
1.	$3 \cdot 10^{-4}$	9.	$1,1 \cdot 10^{-3}$
2.	$4 \cdot 10^{-4}$	10.	$1,2 \cdot 10^{-3}$
3.	$5 \cdot 10^{-4}$	11.	$1,3 \cdot 10^{-3}$
4.	$6 \cdot 10^{-4}$	12.	$1,4 \cdot 10^{-3}$
5.	$7 \cdot 10^{-4}$	13.	$1,5 \cdot 10^{-3}$
6.	$8 \cdot 10^{-4}$	14.	$1,6 \cdot 10^{-3}$
7.	$9 \cdot 10^{-4}$	15.	$1,7 \cdot 10^{-3}$
8.	$1 \cdot 10^{-3}$		

Vliv navážky aminojílu

Pro studium vlivu navážky aminojílu byl připraven zásobní roztok riboflavinu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vždy 10 mL roztoku bylo napipetováno do vialek, do kterých bylo předtím naváženo 0,001-0,01 g aminojílu. Vialky byly umístěny na magnetickou míchačku na 2 hodiny. Poté byly vzorky odstředěny a supernatanty změřeny na UV-VIS spektrometru.

V případě kurkuminu byly připraveny roztoky aminojílu o různých koncentracích ($0,1-1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), které byly napipetovány (vždy 10 mL) přímo do centrifugačních zkumavek k navážce 0,0008 g kurkuminu. Zkumavky byly inkubovány při laboratorní teplotě po dobu 2 hodiny. Následovala centrifugace a změření absorpčních spekter proti blanku, který byl připraven spolu se vzorky.

Vliv teploty a kinetika adsorpce

V případě laboratorní teploty bylo do čistých vialek naváženo 0,001 g aminojílu, ke kterému bylo přidáno vždy 10 mL roztoku riboflavinu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$). Vzorky byly umístěny na magnetickou míchačku a odebírány v časových intervalech (Tabulka 3), centrifugovány a supernatanty změřeny na spektrofotometru. Vzorky pro teplotu $37 \text{ }^\circ\text{C}$ byly připraveny stejným způsobem s výjimkou použití magnetické míchačky s ohřevem.

Pro přípravu vzorků kurkuminu bylo do centrifugačních zkumavek naváženo 0,0008 g kurkuminu, ke kterému bylo opatrně přidáno 10 mL roztoku aminojílu ($0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Vzorky byly inkubovány při laboratorní teplotě a druhá sada byla inkubována ve vodní lázni o teplotě $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Opět byly vzorky postupně odebírány v časových intervalech (Tabulka 3), centrifugovány a supernatant změřen proti blankům, které byly odebírány ve stejných časových intervalech.

Tabulka 3: Časové intervaly odběrů vzorků

č. vzorku	čas odběru [min]	č. vzorku	čas odběru [min]
1.	10	6.	90
2.	20	7.	120
3.	30	8.	150
4.	40	9.	180
5.	60		

Vliv pH

Vzorky pro studium pH byly připraveny stejným způsobem jako předchozí – 10 mL roztoku riboflavinu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) přidáno k 0,001 g aminojílu. Hodnota pH byla následně upravena 0,1M NaOH nebo 0,1M HCl na pH $3-11 \pm 0,1$. Vzorky byly míchány po dobu 2 hodiny, zcentrifugovány a supernatant změřen.

V případě kurkuminu bylo pH roztoku aminojílu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) upraveno na příslušnou hodnotu (pH 3-11) a až poté byl přidán do centrifugačních zkumavek k odváženému kurkuminu (0,0008 g). Zároveň byly připraveny také blanky s upraveným pH. Všechny zkumavky byly inkubovány při lab. teplotě 2 hodiny, zcentrifugovány a supernatant změřen.

Vzorky a blanky byly pro všechna měření připraveny vždy ve dvojicích. Použité magnetické míchačky byly nastaveny na 150 rpm a nastavení centrifugy bylo 4000 rpm na dobu 20 minut.

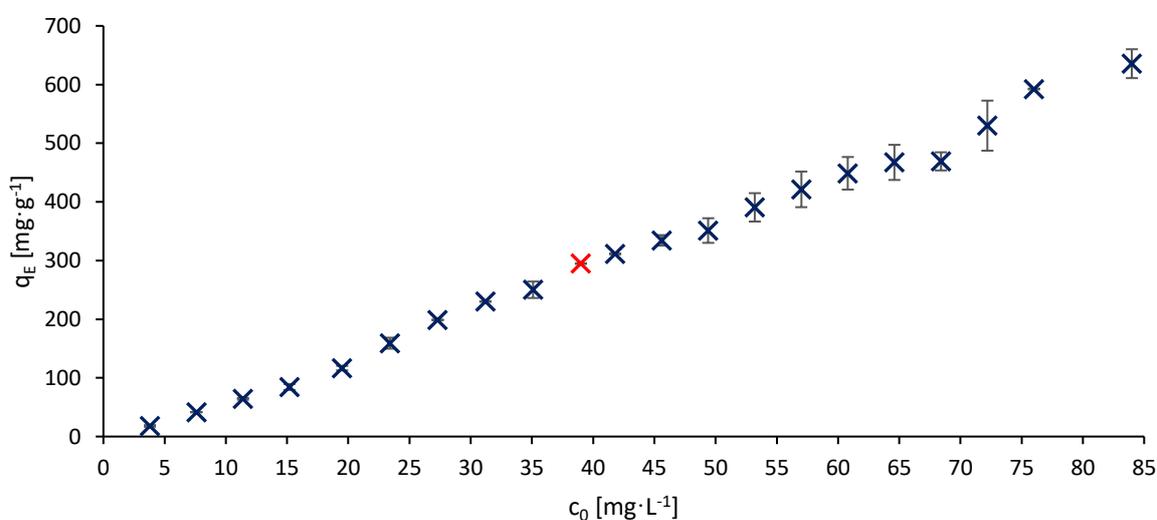
3.5 Výsledky a diskuse

3.5.1 Adsorpční kapacita q_E a účinnost adsorpce R

Stanovení adsorpční kapacity q_E [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$] adsorbentu pro určitou adsorbovanou látku je jednou z informací popisující daný systém. Čím větší je q_E , tím více adsorbované látky je adsorbent schopný navázat. Vztah použitý pro výpočet adsorpční kapacity aminojílu pro riboflavin a kurkumin byl:

$$q_E = \frac{(c_0 - c_E) \cdot V}{m_{\text{ads}}} \cdot V \quad (25)$$

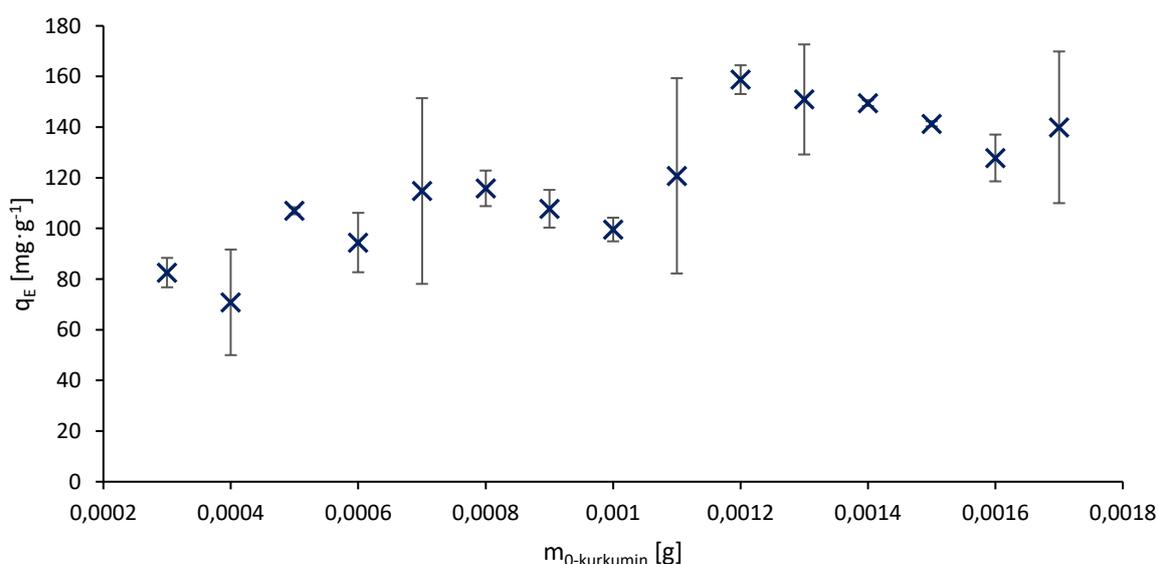
kde c_0 je počáteční koncentrace adsorbované látky [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$], c_E je koncentrace adsorbované látky v rovnováze [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$], m_{ads} je navážka adsorbentu [g] a V je objem systému [L]. Z Obr. 20 je patrné, že s rostoucí počáteční koncentrací riboflavinu vzrůstalo také množství riboflavinu adsorbovaného na aminojíl. Důležitou koncentrací je $39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, které odpovídá $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ a pro kterou byla hodnota q_E $294,72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, jelikož se jedná o koncentraci, která bylo použita u dalších experimentů. V příslušném grafu je znázorněna odlišnou barvou.



Obr. 20: Adsorpční kapacita aminojílu pro riboflavin

Spektra vzorků (Příloha 4 a Příloha 5) navíc naznačují, že ani u jednoho vzorku ze série nedošlo k úplnému odstředění aminojílu. Tato hypotéza je založena na porovnání tvarů absorpčních spekter čistého riboflavinu (Příloha 1), vzorků a absorpčního spektra aminojílu (Příloha 3), který v daném rozmezí vlnových délek neabsorbuje, přesto vazbou na riboflavin mění tvar absorpčního spektra riboflavinu. Koloidní částice čistého aminojílu ve vodných roztocích nesedimentují, pokud nedojde k navázání dostatečného množství jiné látky, v tomto případě riboflavinu. Příčinou nedokonalého odstředění komplexu vzniklého adsorpčním procesem je s největší pravděpodobností nedostatečný výkon použitého centrifugačního zařízení. Koncentrační rozmezí vzorků riboflavinu bylo navíc limitováno maximální rozpustností riboflavinu ve vodě.

V případě adsorpce kurkuminu na aminojíl jsou získaná data ještě méně přesná. Důvodem je nemožnost mechanického míchání vzorků, aby nedošlo k tzv. „omlácení“ kurkuminu do roztoku – uvolnění většího množství, než je maximální rozpustitelné množství v daném objemu za laboratorních podmínek. Druhým faktorem přispívající k nepřesnosti výsledků je vnitřní tvar centrifugačních zkumavek, do kterých byly vzorky připraveny. Při nemožnosti míchání byla hlavním faktorem účinnosti adsorpce velikost reakční plochy fázového rozhraní mezi roztokem aminojílu a pevným kurkuminem. Centrifugační zkumavky s mělkým dnem tedy poskytovaly větší plochu než zkumavky se zkosenějším tvarem dna. Další faktor ovlivňujícím přesnost výsledků je fakt, že určitý podíl komplexu aminojíl-kurkumin při odstředění sedimentoval současně s neadsorbovanými kurkuminem. Po odstředění se tedy ve vzorku vyskytovaly 3 frakce – kurkumin adsorbovaný na aminojíl, který zůstal v supernatantu, komplex aminojíl-kurkumin, který sedimentoval a sedimentovaný nerozpuštěný kurkumin. Poslední dva zmíněné nešlo za daných podmínek rozlišit a z toho důvodu byla použita data z komplexu, který zůstal neodstředěný v supernatantu. I přes tyto faktory má Obr. 21 rostoucí trend spojený s rostoucí navázkou kurkuminu. Zároveň také vysvětluje diverzitu vzorků v jednotlivých dvojicích znázorněnou chybovými úsečkami. Pro navázkou 0,0008 g, která byla použita u dalších experimentů, odpovídala adsorpční kapacita hodnotě 115,83 mg·g⁻¹.

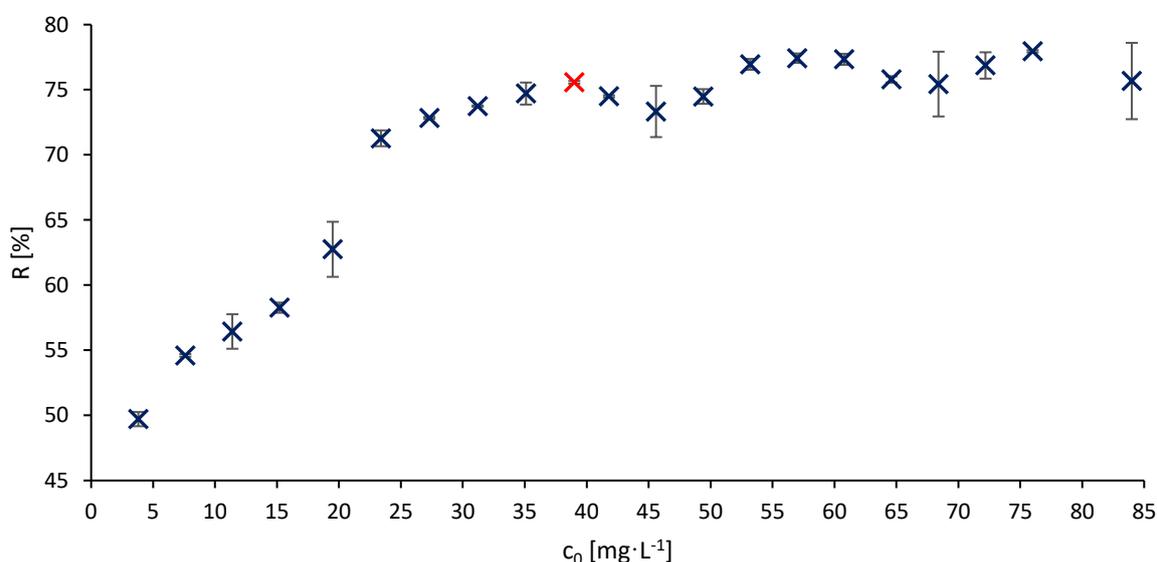


Obr. 21: Adsorpční kapacita aminojílu pro kurkumin

Zároveň s adsorpční kapacitou se často také uvádí poměrné množství adsorbované látky. Účinnost adsorpce je vyjádřena v procentech a lze ji vypočítat z jednoduchého vztahu:

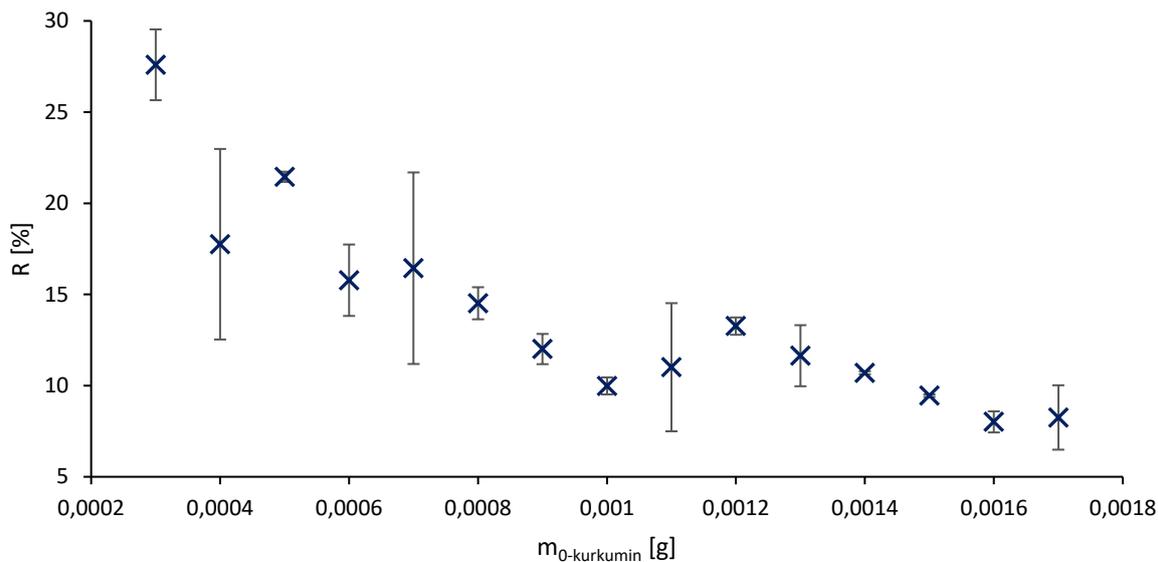
$$R = \frac{(c_0 - c_E)}{c_0} \cdot 100 \% \quad (26)$$

kde R je účinnost adsorpce [%] a c_0 a c_E jsou opět počáteční a rovnovážná koncentrace adsorbované látky [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]. V případě riboflavinu má R (Obr. 22) rostoucí charakter až do koncentrace $39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pro kterou byla hodnota účinnosti adsorpce stanovena na zhruba 75 %. Jedná se o stejnou koncentraci, která byla použita u ostatních experimentů. Od této koncentrace výš dochází k jakémusi ustavení rovnováhy nehlédě na rostoucí koncentraci biologicky aktivní látky. To může být opět přisouzeno nedostatečnému výkonu odstředivky.



Obr. 22: Účinnost adsorpce riboflavinu na aminojíl

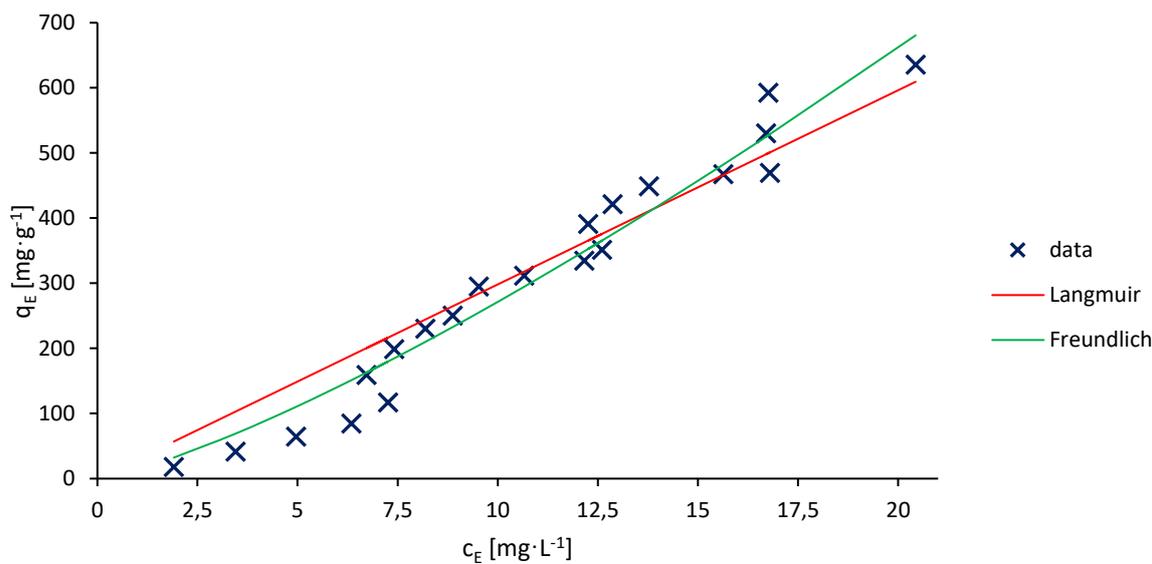
U účinnosti adsorpce kurkuminu na aminojíl trend s rostoucí navázkou klesá (Obr. 23). Je to zapříčiněno zvyšujícím se poměrem sedimentovaného čistého kurkuminu vůči kurkuminu, který adsorboval na aminojíl. Hodnoty R jsou opět vypočítány pouze z dat odpovídající kurkuminu adsorbovaného na aminojíl, který zůstal v supernatantu a z toho důvodu je nelze považovat za zcela přesné. Pro navážku $0,0008 \text{ g}$ kurkuminu byla průměrná účinnost adsorpce $14,51 \%$.



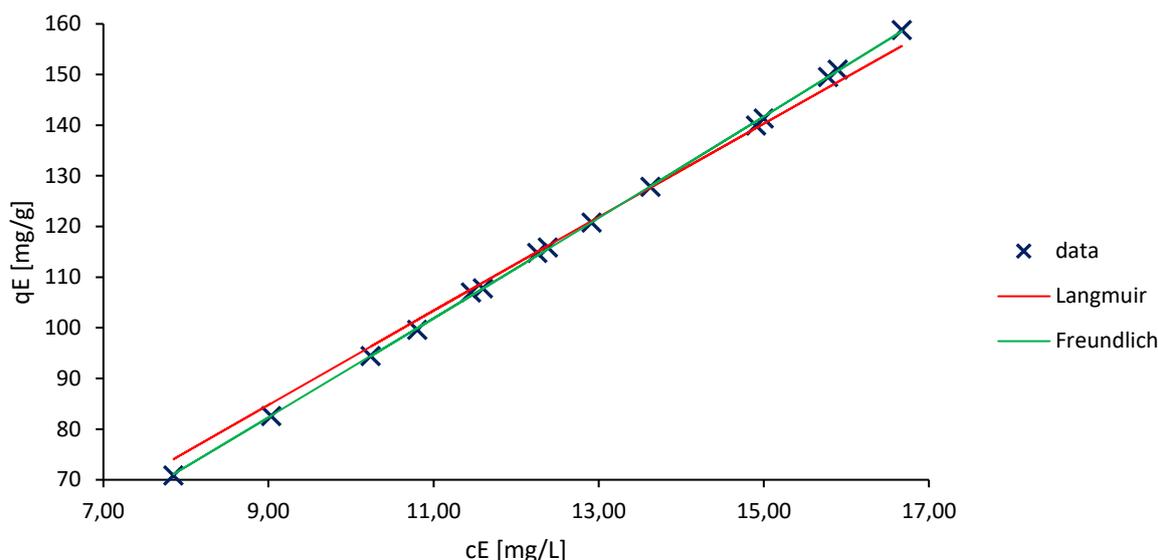
Obr. 23: Účinnost adsorpce kurkuminu na aminojíl

3.5.2 Adsorpční izotermy

Součástí experimentální části bylo také stanovení adsorpčních izoterm – Langmuirovy a Freundlichovy pro obě biologicky aktivní látky riboflavin a kurkumin. Jak je zmíněno v kapitole 2.4.3 tyto dva modely izoterm jsou nejčastěji používány. Cílem je porovnání získaných dat s příslušnými modely. Obě izotermy byly sestrojeny z hodnot vypočítaných pomocí vztahů (3), (10) a (25). Maximální adsorpční kapacita Q_{\max} [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$] obou BAL byla určena pomocí lineární regrese. Modely s daty pro riboflavin jsou znázorněny na Obr. 24 a pro kurkumin na Obr. 25.



Obr. 24: Adsorpční izotermy riboflavínu



Obr. 25: Adsorpční izotermy kurkuminu

Vypočítané parametry popisující jednotlivé izotermy jsou uvedeny v Tabulka 4. S ohledem na záporné Q_{\max} , nelze považovat hodnoty vypočítané maximální adsorpční kapacity za správné. Záporná Q_{\max} jsou způsobena klesajícím trendem v linearizovaném tvaru Langmuirovy izotermy u riboflavinu (Příloha 20) i kurkuminu (Příloha 22). Freundlichův koeficient (K_F) charakterizující sílu adsorpce je výrazně vyšší u kurkuminu než u riboflavinu. Freundlichova izotermická konstanta n , která by se měla být $1 < n < 10$ je 0,7775 u riboflavinu a 0,9396 u kurkuminu. Porovnáním hodnot korelačních koeficientů R^2 jednotlivých modelů je patrné, že Freundlichův model adsorpční izotermy odpovídá více naměřeným datům obou biologicky aktivních látek než model Langmuirův.

Tabulka 4: Parametry adsorpčních izoterm

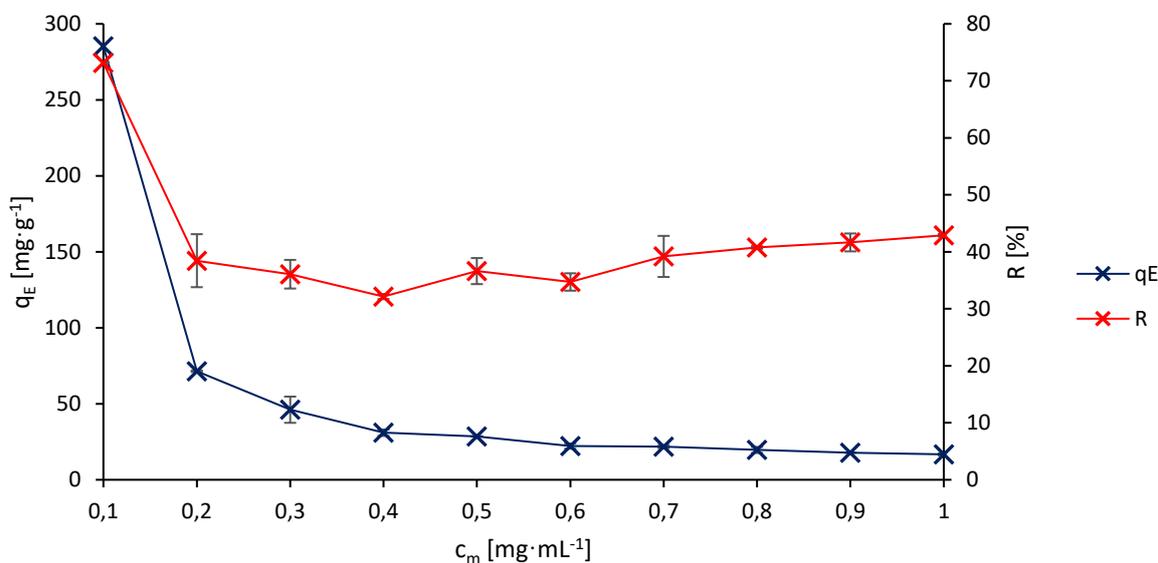
BAL	Langmuirův model			Freundlichův model		
	Q_{\max} [mg·g ⁻¹]	K_L [l·mg ⁻¹]	R^2	K_F [mg ^{1-1/n} ·l ^{1/n} ·g ⁻¹]	n	R^2
riboflavin	-294,08	$6,3832 \cdot 10^{-6}$	0,9227	14,0398	0,7775	0,9836
kurkumin	-1 740,65	0,0012	0,9950	7,9358	0,9396	0,9999

3.5.3 Vliv navážky aminosolů na adsorpční kapacitu q_E a účinnost adsorpce R

Studiem vlivu navážky adsorbentu lze určit nejvýhodnější množství adsorbentu za co nejlepšího výsledku, hlavně z pohledu ekonomického. Umožňuje stanovení nejmenšího potřebného množství adsorbentu k dosažení vybraného účinku. Umožňuje také zjistit, zda adsorbent při vyšších koncentracích neupřednostňuje interakce mezi sebou před interakcemi s molekulami adsorbované látky.

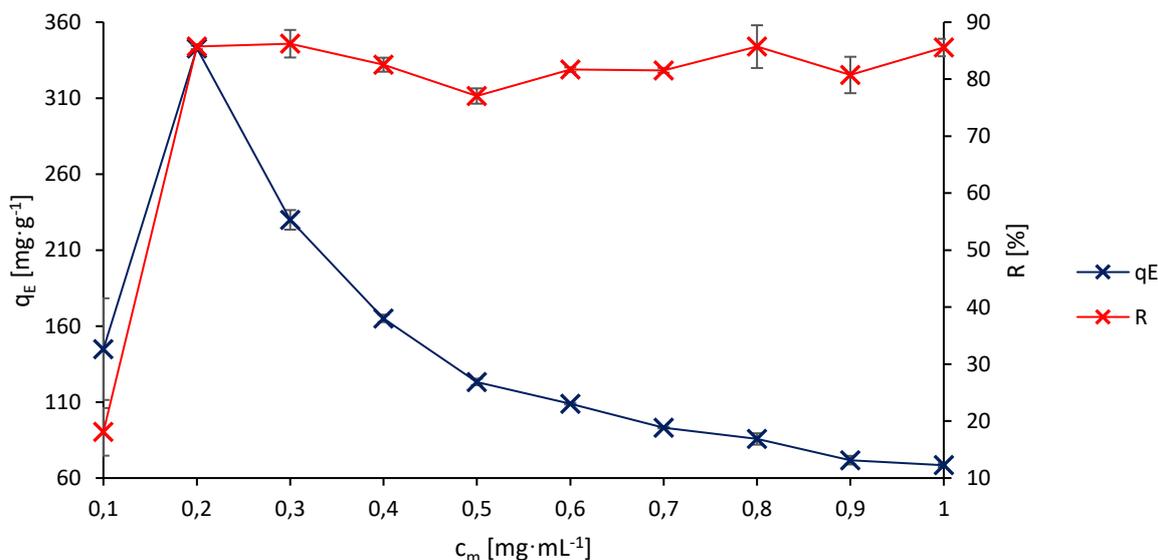
V případě riboflavinu (Obr. 26) byla ideální navážka aminosolů $0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ při koncentraci BAL $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ s adsorpční kapacitou $285,28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a účinností adsorpce 73,15 %. U vyšších navážek došlo k postupnému snížení adsorpční kapacity i účinnosti adsorpce. Pokles adsorpční

kapacity je spojen se změnou poměru počtu molekul adsorbované látky vůči aktivním místům na aminojílu. Také to mohlo být způsobeno nedokonalým rozpuštěním veškerých krystalků aminojílu až na koloidní částice a nevzniklo tolik aktivních míst, které by se účastnily adsorpce. Druhou možností je právě interakce jednotlivých koloidních částic mezi sebou. Tvar absorpčního spektra (Příloha 10) naznačuje, že v případě navážky $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ nedošlo ke kompletnímu odstředění aminojílu.



Obr. 26: Vliv navážky aminojílu na q_E a R pro riboflavin

U vzorků kurkuminu byla ideální navážka aminojílu $0,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, u které bylo dosaženo adsorpční kapacity $342,8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, což odpovídá účinnosti adsorpce 85,7 %. Se zvyšující se navážkou postupně klesala adsorpční kapacita. Účinnost adsorpce se ovšem nějak výrazně neměnila a byla relativně konstantní.

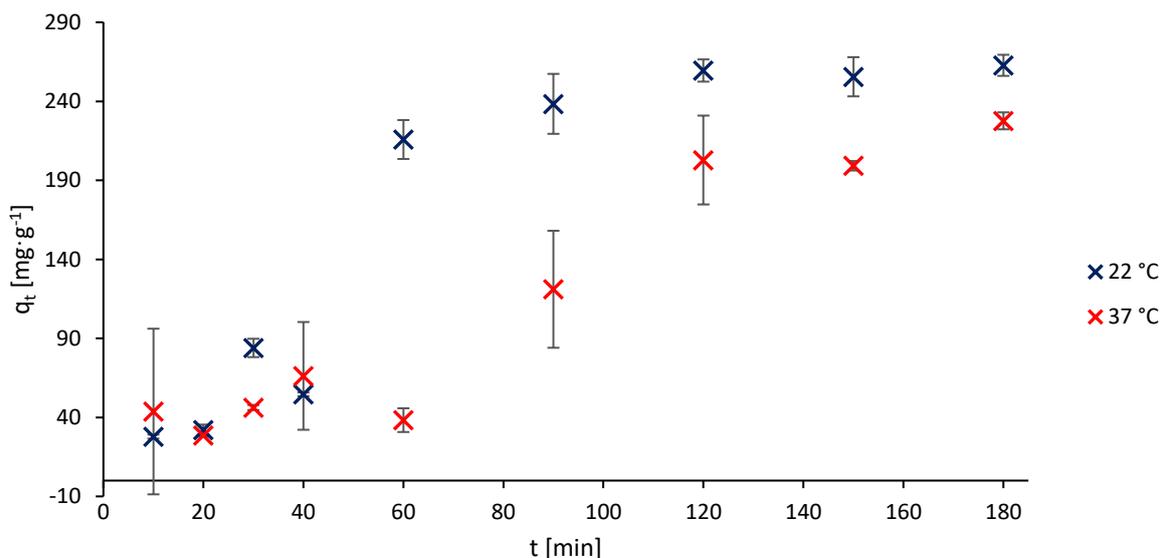


Obr. 27: Vliv navážky aminojílu na q_E a R pro kurkumin

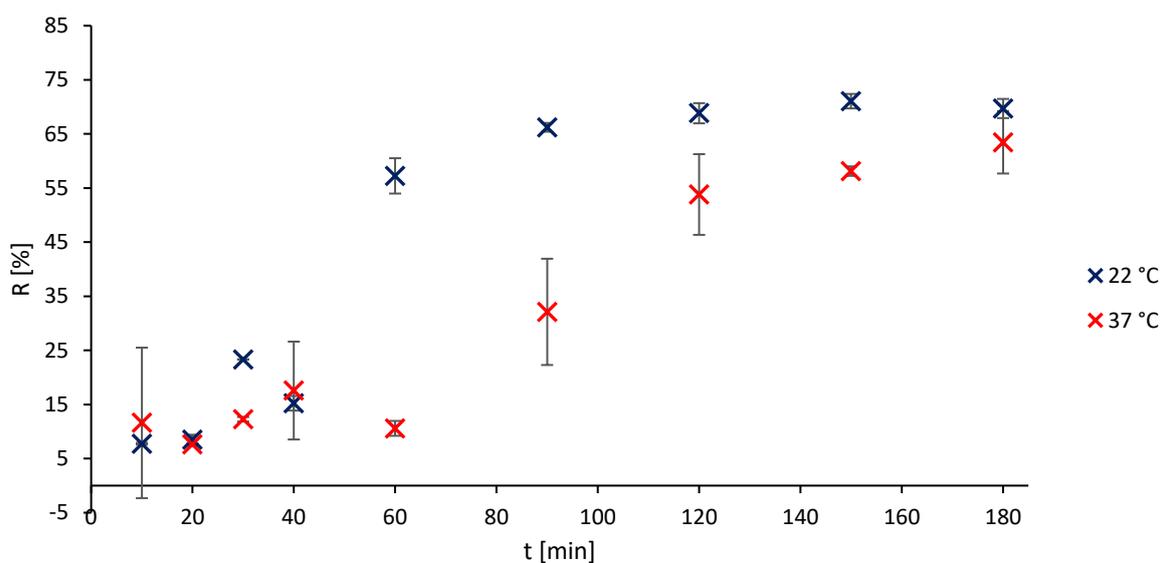
3.5.4 Vliv teploty a doby kontaktu

Důležitým faktorem je při adsorpčních reakcích znalost vlivu času. Umožňuje stanovit moment, kdy došlo k ustálení adsorpční rovnováhy. Zároveň s vlivem času byl pozorován také vliv teploty.

U vzorků obsahující riboflavin nastala adsorpční rovnováha při laboratorní teplotě 22 °C po zhruba 60 minutách. V případě zvýšené teploty 37 °C bylo dosaženo rovnováhy až po 120 minutách a s nižší adsorpční kapacitou než u laboratorní teploty, což potvrzuje, že adsorpce probíhá lépe při nižších teplotách (Obr. 28) (Obr. 29).

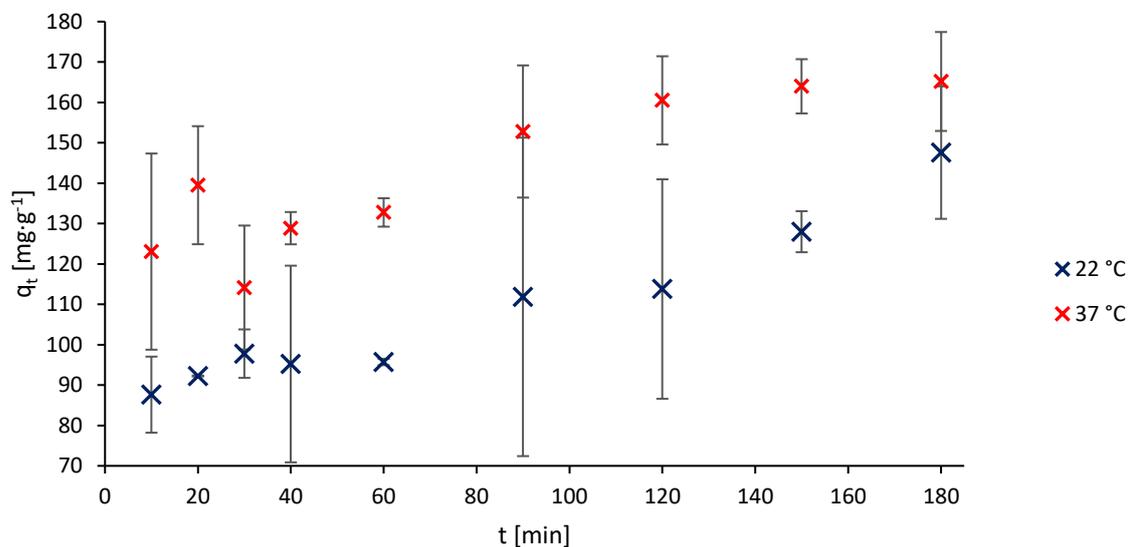


Obr. 28: Vliv teploty a doby kontaktu na adsorpční kapacitu (riboflavin)

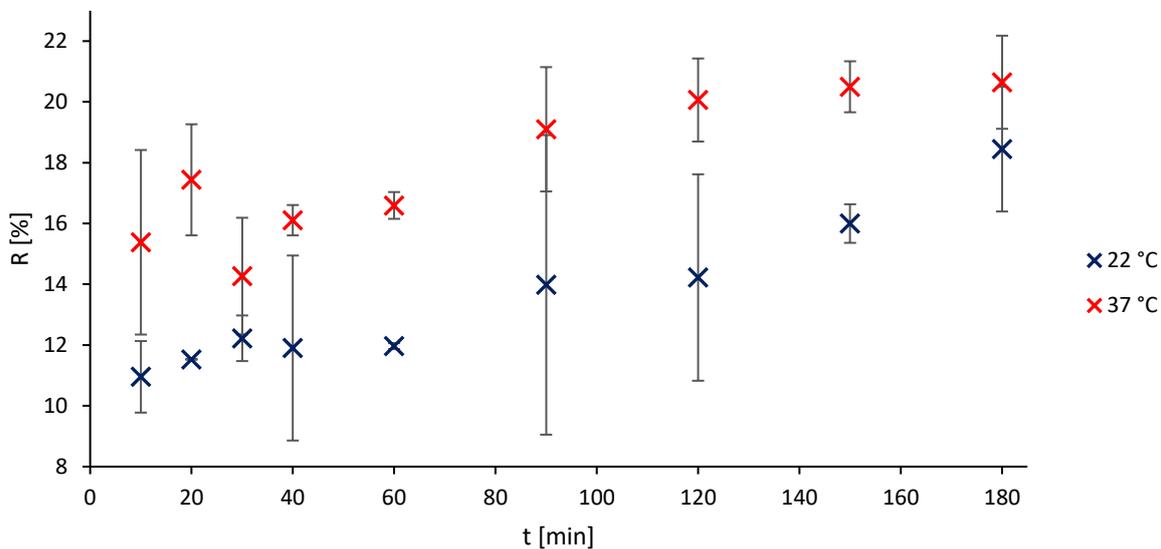


Obr. 29: Vliv teploty a doby kontaktu na účinnost adsorpce (riboflavin)

V případě vzorků s kurkuminem dosáhly vzorky o teplotě 37 °C vyšších hodnot adsorpční kapacity a rychlejší rovnováhy (90 minut) než vzorky inkubované při 22 °C (180 minut). Hodnoty vzorků ovšem nejsou přesné. Opět byly vypočítány pouze z dat pro komplex, který zůstal v supernatantu. Důvodem pro rychlejší ustavení rovnováhy a vyšší adsorpční kapacitu u vzorků inkubovaných při 37 °C může být rychlejší difúze systému (Obr. 30)(Obr. 31).



Obr. 30: Vliv teploty a doby kontaktu na adsorpční kapacitu (kurkumin)



Obr. 31: Vliv teploty a doby kontaktu na účinnost adsorpce (kurkumin)

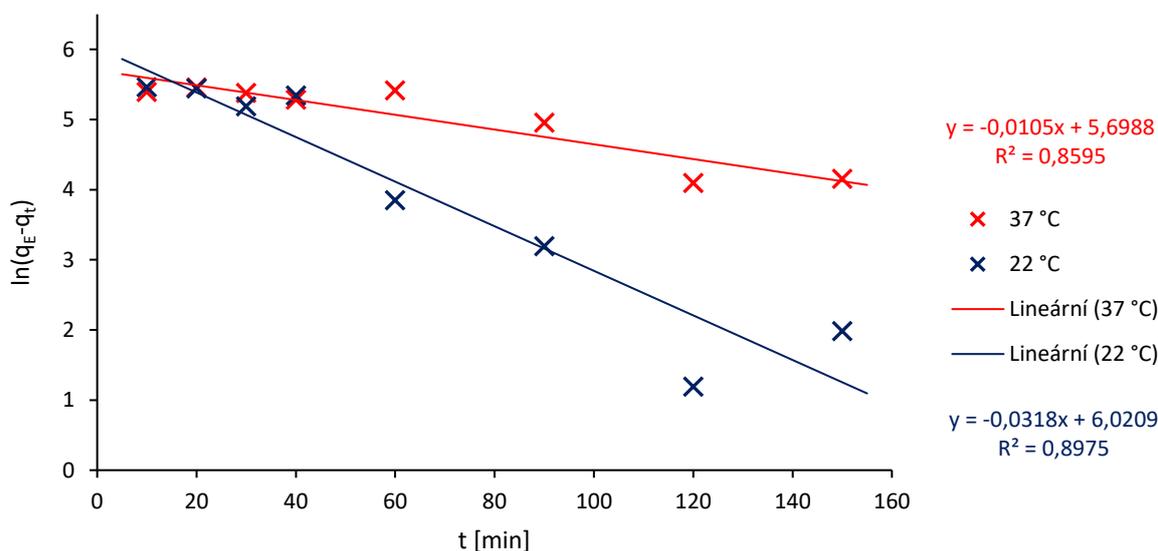
3.5.5 Adsorpční kinetika

Studium kinetiky je jedním z pilířů popisující chemické reakce, konkrétně jak rychle daná reakce probíhá. Na základě experimentálně získaných dat byly vytvořeny kinetické modely pseudo-prvního a pseudo-druhého řádu. Parametry adsorpční kinetiky jsou uvedeny v Tabulka 5.

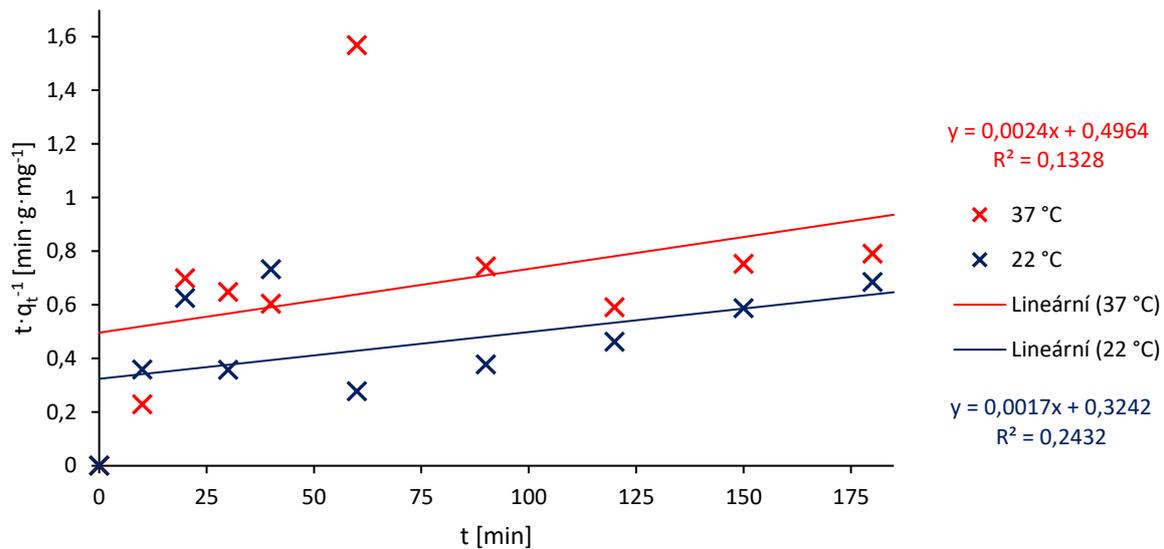
Tabulka 5: Parametry adsorpční kinetiky

BAL	T [°C]	Pseudo-první řád				Pseudo-druhý řád			
		q_E [mg·g ⁻¹]	q_1 [mg·g ⁻¹]	k_1 [min ⁻¹]	R^2	q^2 [mg·g ⁻¹]	k_2 [g·mg ⁻¹ ·min ⁻¹]	R^2	
riboflavin	22	411,95	262,78	0,0732	0,90	572,62	$9,4110^{-6}$	0,24	
	37	298,52	227,66	0,0242	0,86	420,68	$1,1410^{-5}$	0,13	
kurkumin	22	67,13	147,58	0,0162	0,90	141,17	$5,1410^{-4}$	0,96	
	37	78,49	165,18	0,0562	0,88	170,05	$7,2910^{-4}$	0,99	

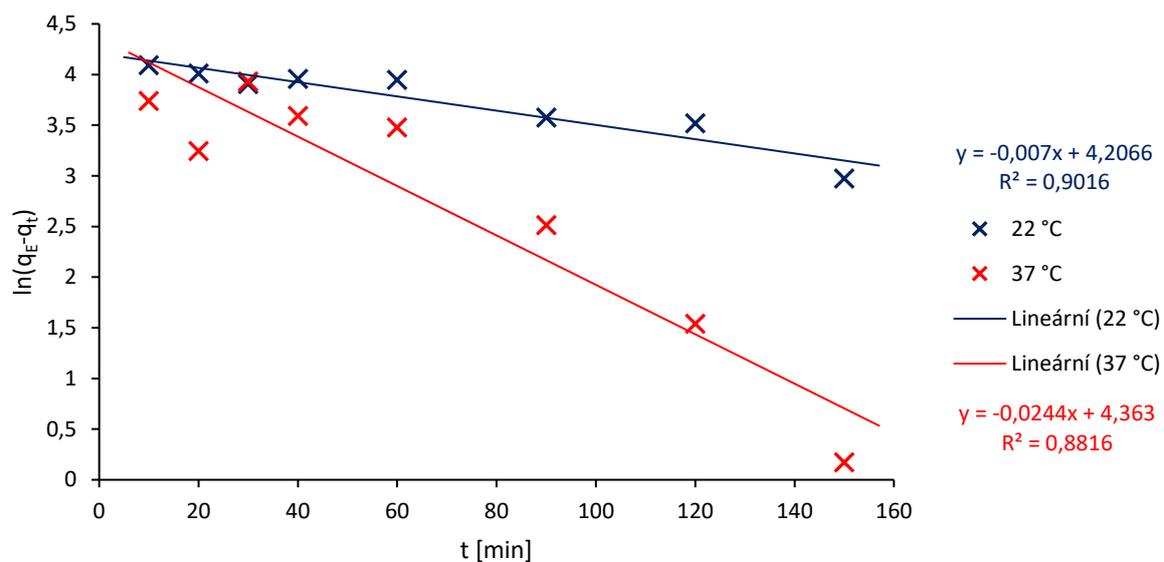
Z porovnání parametrů lineárních tvarů kinetických modelů je patrné, že v případě riboflavinu dochází k adsorpci podle pseudo-prvního řádu. Nicméně u kurkuminu jsou vyšší korelační koeficienty u pseudo-druhého řádu. S ohledem na velikost rozdílů R^2 u kurkuminu a rozdílů R^2 u riboflavinu je možné, že nepřesnosti naměřených dat způsobily konečné nízké hodnoty R^2 u pseudo-druhého řádu pro riboflavin. Pseudo-druhý řád se uplatňuje častěji, a proto je možné, že i přes nízké hodnoty R^2 u pseudo-druhého řádu probíhala ve skutečnosti adsorpce riboflavinu na aminojíl právě podle pseudo-druhého řádu.



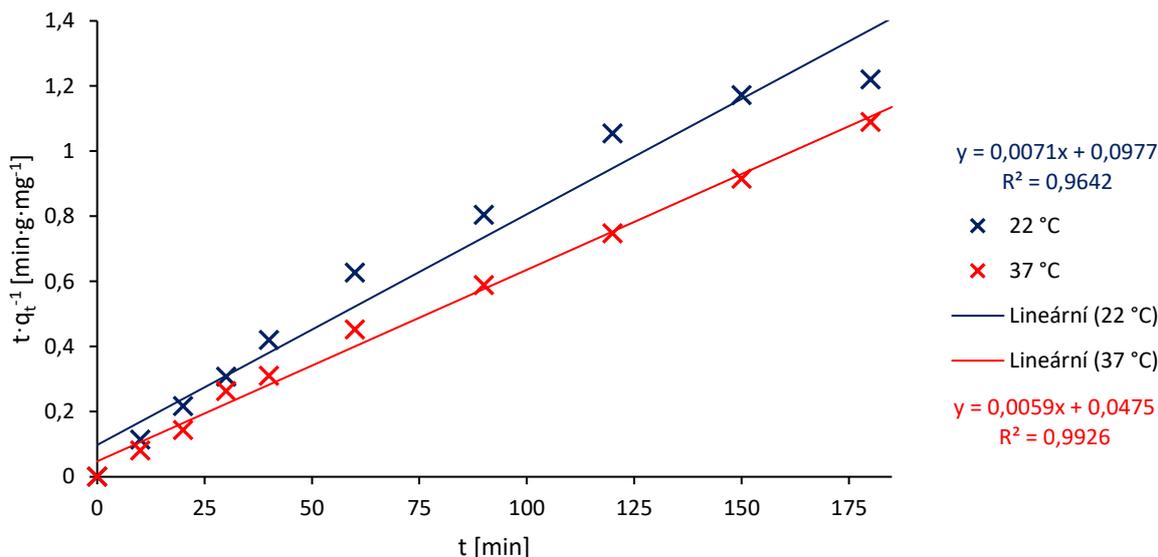
Obr. 32: Linearizované tvary kinetických modelů pseudo-prvního řádu (riboflavin)



Obr. 33: Linearizované tvary kinetických modelů pseudo-druhého řádu (riboflavin)



Obr. 34: Linearizované tvary kinetických modelů pseudo-prvního řádu (kurkumin)

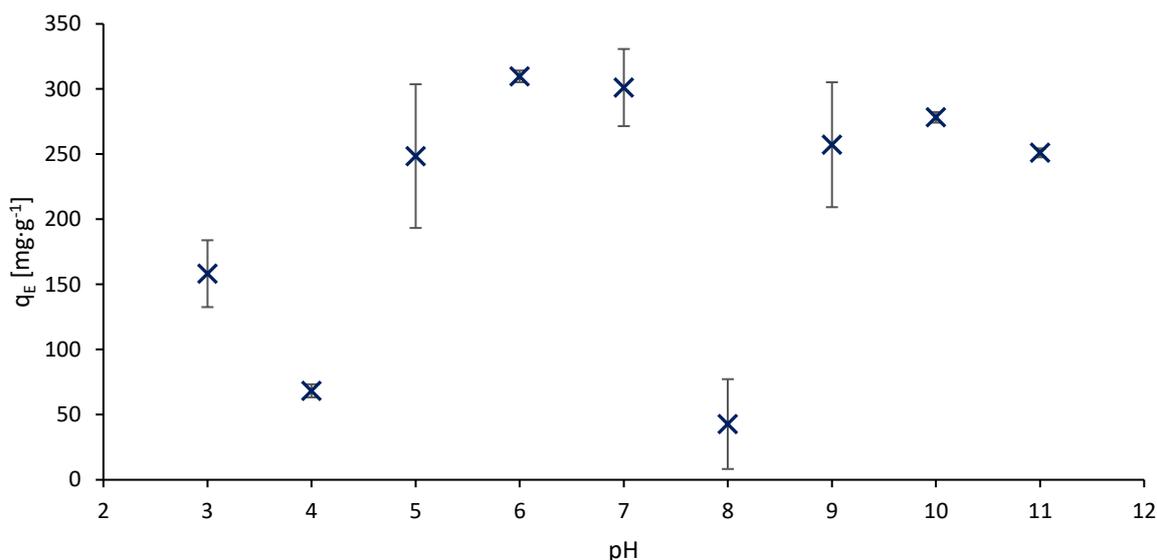


Obr. 35: Linearizované tvary kinetických modelů pseudo-druhého řádu (kurkumin)

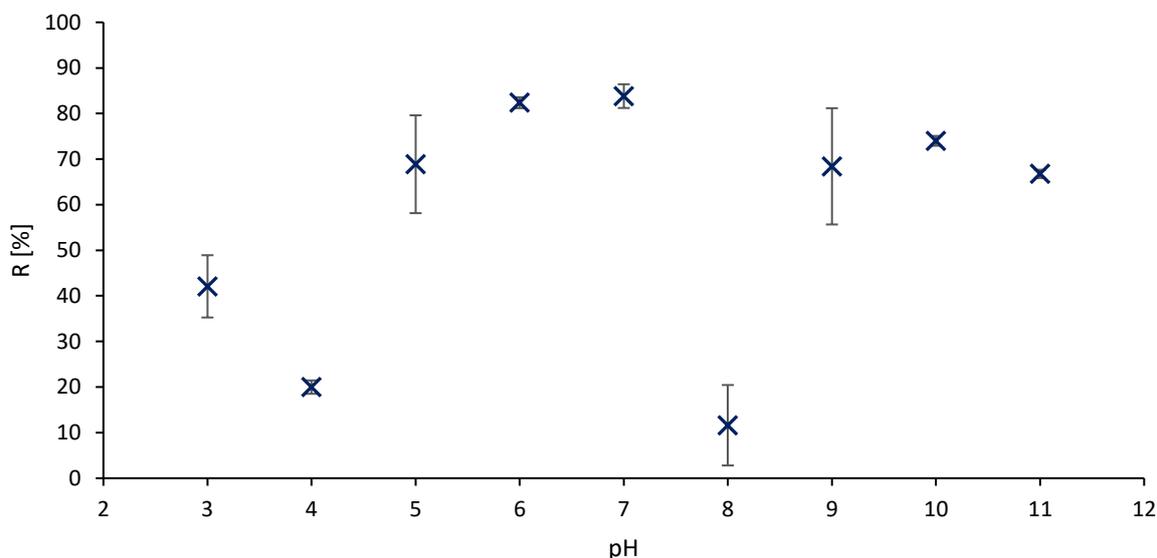
3.5.6 Vliv pH

Vliv pH na adsorpční proces je jedním z nejdůležitějších faktorů s ohledem na fakt, že pH systému ovlivňuje jak povrchový náboj adsorbentu, tak stupeň ionizace adsorbované látky. Cílem studie vlivu pH je tedy stanovení nejvhodnějšího pH, aby byl proces adsorpce co nejúčinnější. pH prostředí také ovlivňuje tvar absorpčního spektra.

Adsorpční kapacita aminojílu vůči riboflavinu byla vysoká u pH 6, 7, 9, 10 a 11, následovalo pH 5, 3, 4 a nejnižší q_E , bylo stanoveno pro pH 8. Se snižujícím se pH se snižuje množství protonovaných aminoskupin – aktivních center, zároveň se ale zvyšuje počet ionizovaných -OH skupin riboflavinu. Hodnota pH roztoku aminojílu se pohybuje kolem 10,3 a pH roztoku riboflavinu je ≈ 6 , pH 8 tedy může být hodnotou, kdy jsou obě látky málo ionizované a z tohoto důvodu je hodnota q_E v tomto pH nejnižší (Obr. 36). Účinnost adsorpce je stejně tak závislá na hodnotě pH a stejně jako kapacita, je nejnižší hodnota R u pH 8 (Obr. 37).

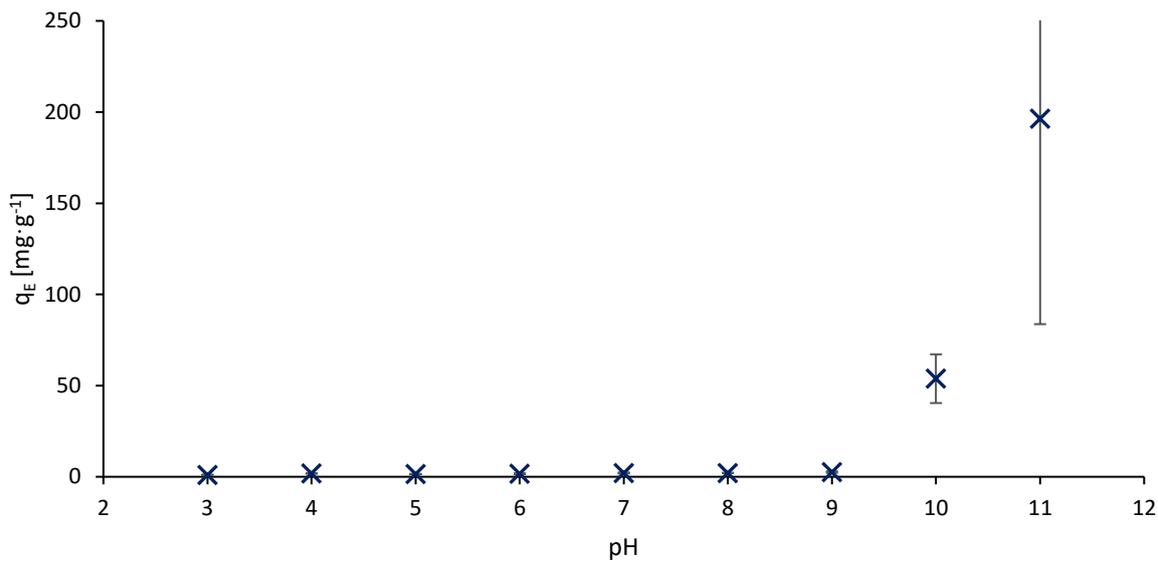


Obr. 36: Vliv pH na adsorpční kapacitu (riboflavin)

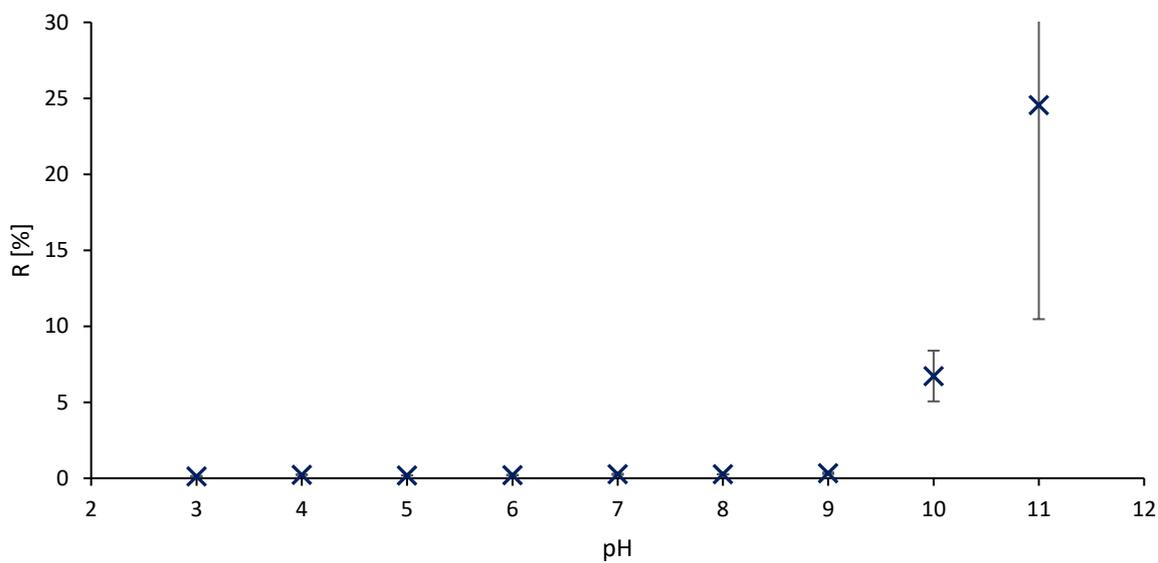


Obr. 37: Vliv pH na účinnost adsorpce (riboflavin)

V případě vzorků s kurkuminem nedošlo v rozmezí pH 3-9 k téměř žádné adsorpci, jak je vidět na (Obr. 38) Obr. 38: Vliv pH na adsorpční kapacitu (kurkumin). K limitaci rozpustnosti kurkuminu ve vodě se snížilo i množství náboje na aminojílu, což snížilo schopnost interakce těchto dvou složek na minimum. V případě pH 10, které je blízké hodnotě pH neupraveného roztoku aminojílu, došlo k adsorpci množství kurkuminu odpovídající 6,72 % (opět se ale jedná pouze o frakci komplexu, který zůstal v supernatantu, určitý podíl komplexu byl odstředěn). Největší adsorbované množství bylo pozorováno u pH 11. To je zapříčiněno velkým množstvím protonovaných aminoskupin a zvýšenou rozpustností kurkuminu v 0,1M NaOH, které bylo použito k úpravě pH [50]. Současně s nejvyšší hodnotou q_E u pH 11, byla u stejného pH stanovena i nejvyšší účinnost adsorpce (Obr. 39).



Obr. 38: Vliv pH na adsorpční kapacitu (kurkumin)



Obr. 39: Vliv pH na účinnost adsorpce (kurkumin)

4 ZÁVĚR

Podle postupu v kapitole 3.3 byl připraven aminojíl, který byl dále použit k přípravě vzorků. Jejich příprava je popsána v kapitole 3.4. Při přípravě aminojílu bylo do procesu syntézy zahrnuto jedno přečištění navíc, než udává literatura, aby bylo dosaženo vyšší čistoty. Riboflavin byl zvolen jako modelová biologicky aktivní látka rozpustná ve vodě a kurkumin jako modelová BAL, která je ve vodě za laboratorních podmínek téměř nerozpustná. Všechny série vzorků byly připraveny vždy ve dvojicích. Studium adsorpce biologicky aktivních látek v koloidních roztocích aminojílu zahrnovala studium vlivu jednotlivých parametrů ovlivňujících proces adsorpce, konkrétně vliv počáteční koncentrace adsorbovaných BAL, vliv navážky aminojílu jako adsorbentu, teploty, doby kontaktu a pH na množství adsorbované látky. Zároveň byla studována také adsorpční kinetika se zaměřením na pseudo-první a pseudo-druhý řád reakce. Získaná experimentální data byla navíc porovnána s vytvořenými modely adsorpčních izoterm – Langmuirovy a Freundlichovy.

Experimentální data potvrzují, že obě modelové biologicky aktivní látky preferovaly vazebné interakce s aminojílem a docházelo k jejich adsorpci. Zároveň bylo z výsledků zjištěno, že nejčastěji probíhá nejlépe proces adsorpce za neupravených podmínek – adsorpce riboflavinu probíhala lépe při laboratorní teplotě než při zvýšené teplotě. Opačný výsledek byl zjištěn u kurkuminu, u kterého byla adsorpce účinnější při vyšší teplotě. To mohlo být způsobeno zvýšením rychlosti difúze. V případě vzorků s kurkuminem totiž nebylo možné použití mechanického míchání z důvodu možného „omlácení“ nadbytečného množství BAL do roztoku.

U studia vlivu pH bylo zjištěno, že ideální pH pro adsorpci bylo blízké hodnotě, kterou má systém bez jakékoliv úpravy. U vzorků riboflavinu adsorpce probíhala s určitou účinností u všech zkoumaných pH, nejlépe u pH 10, 11 a 6. Nejhůře probíhala u pH 8. Velký vliv pH se ukázal být při adsorpci kurkuminu. Při pH 3-9 nedošlo k adsorpci téměř vůbec. Nejlépe probíhala adsorpce při pH 11. Zvýšená rozpustnost kurkuminu při tomto pH byla zajištěna přítomností NaOH, které bylo použito k jeho úpravě. Rozpuštěné molekuly kurkuminu pak snáz reagovaly s protonovanými aminoskupinami na povrchu jílu.

Ideální navážkou aminojílu pro adsorpci riboflavinu bylo $0,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ a pro kurkumin to byla hmotnostní koncentrace $0,2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Vymodelováním adsorpčních izoterm a porovnáním jejich parametrů s experimentálními daty bylo zjištěno, že adsorpce BAL na aminojíl je podobnější Freundlichově modelu. Z důvodu omezení rozsahu použitelných koncentrací (limitace rozpustnosti riboflavinu ve vodě) nebylo možné stanovení maximální adsorpční kapacity obou studovaných látek.

Studium kinetiky reakce naznačuje, že proces adsorpce biologicky aktivních látek probíhá podle pseudo-druhého řádu reakce. Čas, při kterém byla ustálena rovnováha se výrazně lišil v závislosti na použité bioaktivní látce i teplotě systému.

Veškeré nepřesnosti v měření vznikly pravděpodobně na základě nedostatečného výkonu použité centrifugy, která nebyla schopna odstředit veškeré množství použitého aminojílu v jednotlivých vzorcích a v případě vzorků kurkuminu také tím, že určitý podíl vzniklého komplexu aminojíl-kurkumin sedimentoval společně s nerozpuštěným kurkuminem.

UV-VIS spektrometrie se ukázala být vhodnou metodou využitelnou při studiu adsorpčního chování zvolených bioaktivních látek, díky své schopnosti detekce analytu, nenáročné instrumentaci a jednoduchosti obsluhy a přípravy vzorků.

Stejně tak má potenciál využití adsorpčních reakcí při přípravě systémů využitelných v medicínských aplikacích. Podmínkou je optimalizace podmínek ovlivňujících účinnost adsorpce BAL na aminojíl – reakční teplota, pH, koncentrace látek účastnících se adsorpčního procesu a vhodné, dostatečně výkonné přístroje.

5 SEZNAM LITERATURY

- [1] MÁLKOVÁ, Ivana. *Komplexy aminojílů a polyelektrolytů* [online]. Brno, 2019 [cit. 2021-10-23]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/173443>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Filip Mravec.
- [2] VALÁŠKOVÁ, Marta. *Vybrané vrstevnaté silikáty a jejich modifikované nanomateriály*. 2., dopl. a opr. vyd. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2014. ISBN 978-80-7204-886-1.
- [3] CHVÁTAL, Marek. *Úvod do systematické mineralogie*. Chrudim: Vodní zdroje Chrudim, 2020. ISBN 978-80-87883-13-6.
- [4] WEISS, Zdeněk a Miloš KUŽVART. *Jílové minerály: jejich nanostruktura a využití*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-0868-5.
- [5] GENEDY, Moneeb, John STORMONT, Edward MATTEO a Mahmoud Reda TAHA. Examining Epoxy-based Nanocomposites in Wellbore Seal Repair for Effective CO2 Sequestration. *Energy Procedia* [online]. 2014, **63**, 5798-5807 [cit. 2021-11-09]. ISSN 18766102. Dostupné z: doi:10.1016/j.egypro.2014.11.612
- [6] VÁVRA, Václav a Zdeněk LOSOS. Multimediální studijní texty z mineralogie pro bakalářské studium [online]. In: . Ústav geologických věd, Přírodovědecká fakulta Masarykova univerzita, Brno [cit. 2021-11-09]. Dostupné z: <http://mineralogie.sci.muni.cz/>
- [7] PLACHÁ, Daniela, Gražyna SIMHA MARTYNKOVÁ a Jana KUKUTSCHOVÁ. Sorpce par naftalenu na organicky modifikovaný vermikulit. *Chemické listy* [online]. 2011, **105**(3), 186-192 [cit. 2021-11-16]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10084/84502>
- [8] DA FONSECA, Maria G. Self-Organized Inorganic-Organic Hybrids Induced by Silylating Agents with Phyllosilicate-Like Structure and the Influence of the Adsorption of Cations. *Clays and Clay Minerals* [online]. 2000, **48**(6), 638-647 [cit. 2021-12-03]. ISSN 0009-8604. Dostupné z: doi:10.1346/CCMN.2000.0480605
- [9] ANJUGAM VANDARKUZHALI, S. ANBU, N. RADHA a KANNAIYAN PANDIAN. Water Soluble Iron aminoclay for Catalytic Reduction of Nitrophenol. *Oriental Journal Of Chemistry* [online]. 2013, **29**(2), 661-665 [cit. 2021-12-04]. ISSN 0970-020X. Dostupné z: doi:10.13005/ojc/290238
- [10] AHMADI, S. J., Y. D. HUANG a W. LI. Synthetic routes, properties and future applications of polymer-layered silicate nanocomposites. *Journal of Materials Science* [online]. 2004, **39**(6), 1919-1925 [cit. 2021-12-04]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1023/B:JMISC.0000017753.90222.96
- [11] DATTA, K. K. R., A. ACHARI a M. ESWARAMOORTHY. Aminoclay: a functional layered material with multifaceted applications. *Journal of Materials Chemistry A* [online]. 2013, **1**(23) [cit. 2021-12-04]. ISSN 2050-7488. Dostupné z: doi:10.1039/c3ta00100h
- [12] UKRAINCZYK, L., R. A. BELLMAN a A. B. ANDERSON. Template Synthesis and Characterization of Layered Al- and Mg-Silsesquioxanes. *The Journal of Physical Chemistry B* [online]. 1997, **101**(4), 531-539 [cit. 2022-03-16]. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp9629371

- [13] LEE, Young-Chul, EonSeon JIN, Seung Won JUNG, et al. Utilizing the algicidal activity of aminoclay as a practical treatment for toxic red tides. *Scientific Reports* [online]. 2013, **3**(1) [cit. 2022-03-19]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep01292
- [14] CHANDRASEKARAN, Gayathri, Hyo-Kyung HAN, Geun-Joong KIM a Hyun-Jae SHIN. Antimicrobial activity of delaminated aminopropyl functionalized magnesium phyllosilicates. *Applied Clay Science* [online]. 2011, **53**(4), 729-736 [cit. 2022-04-10]. ISSN 01691317. Dostupné z: doi:10.1016/j.clay.2011.07.001
- [15] HAN, Hyo-Kyung, Young-Chul LEE, Moo-Yeol LEE, Avinash J. PATIL a Hyun-Jae SHIN. Magnesium and Calcium Organophyllosilicates: Synthesis and In vitro Cytotoxicity Study. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2011, **3**(7), 2564-2572 [cit. 2022-04-10]. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/am200406k
- [16] YANG, Liang, Young-Chul LEE, Moon Il KIM, Hyun Gyu PARK, Yun Suk HUH, Yating SHAO a Hyo-Kyung HAN. Biodistribution and clearance of aminoclay nanoparticles: implication for in vivo applicability as a tailor-made drug delivery carrier. *J. Mater. Chem. B* [online]. 2014, **2**(43), 7567-7574 [cit. 2022-04-24]. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/C4TB00953C
- [17] MARTIN, Jessica E., Avinash J. PATIL, Michael F. BUTLER a Stephen MANN. Guest-Molecule-Directed Assembly of Mesostructured Nanocomposite Polymer/Organoclay Hydrogels. *Advanced Functional Materials* [online]. 2011, **21**(4), 674-681 [cit. 2022-04-25]. ISSN 1616301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201002138
- [18] Dictionary of Cancer Terms: bioactive compound. *National Cancer Institute* [online]. USA: National Institutes of Health [cit. 2022-04-27]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/bioactive-compound>
- [19] HAMZALIOĞLU, Aytül a Vural GÖKMEN. Interaction between Bioactive Carbonyl Compounds and Asparagine and Impact on Acrylamide. *Acrylamide in Food* [online]. Elsevier, 2016, 2016, s. 355-376 [cit. 2022-04-27]. ISBN 9780128028322. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802832-2.00018-8
- [20] Riboflavin. *PubChem* [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Centre for Biotechnology Information, 2004- [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/493570>
- [21] KLIEGMAN, Robert, Richard E. BEHRMAN a Waldo E. NELSON. *Nelson textbook of pediatrics*. Edition 20. Philadelphia, PA: Elsevier, [2016]. ISBN 978-1-4557-7566-8.
- [22] PINTO, John T a Janos ZEMPLÉNI. Riboflavin. *Advances in Nutrition* [online]. 2016, **7**(5), 973-975 [cit. 2022-05-02]. ISSN 2156-5376. Dostupné z: doi:10.3945/an.116.012716
- [23] Curcumin. *PubChem* [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Centre for Biotechnology Information, 2004- [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/969516>
- [24] KOUR, Jasmeet a Gulzar NAYIK, ed. *Nutraceuticals and Health Care*. Academic Press, 2021. ISBN 978-0-323-89779-2. Dostupné také z: https://books.google.cz/books?id=QmI7EAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Nutraceuticals+and+Health+Care&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

- [25] PEKAŘ, Miloslav. *Fyzikální chemie a fotochemie: [praktikum]*. Brno: Vysoké učení technické, 2003. ISBN 80-214-2470-2.
- [26] NOVÁK, Josef P., Lidmila BARTOVSKÁ, Michal BUREŠ, Pavel CHUCHVALEC, Stanislav LABÍK, Anatol MALIJEVSKÝ, Jaroslav MATOUŠ a Ivan SAMHÝL. *Fyzikální chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001. ISBN 80-7080-436-x.
- [27] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 6., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-745-3.
- [28] Bartovská Lidmila, Šišková Marie: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5th ed. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-04-26]. P. 070. Dostupné z [www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/070.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/070.html). ISBN 80-7080-579-X
- [29] KLOUDA, Pavel. *Fyzikální chemie*. 2., upr.a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2002. ISBN 80-863-6906-4.
- [30] Bartovská Lidmila, Šišková Marie: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5th ed. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-04-26]. P. 071. Dostupné z [www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/071.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/071.html). ISBN 80-7080-579-X
- [31] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Freundlichova adsorpční izoterma. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/freundlichova_adsorpcni_izoterma.html
- [32] Bartovská Lidmila, Šišková Marie: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5th ed. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-04-26]. P. 072. Dostupné z [www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/072.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/072.html). ISBN 80-7080-579-X
- [33] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Langmuirova adsorpční izoterma. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/langmuirova_adsorpcni_izoterma.html
- [34] QIU, Hui, Lu LV, Bing-cai PAN, Qing-jian ZHANG, Wei-ming ZHANG a Quan-xing ZHANG. Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A* [online]. 2009, **10**(5), 716-724 [cit. 2022-05-06]. ISSN 1673-565X. Dostupné z: doi:10.1631/jzus.A0820524
- [35] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [36] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Analytická chemie*. Přeložil Karel NESMĚRÁK, přeložil Václav ČERVENÝ, přeložil Tomáš KRÍŽEK, přeložil Eliška NOVÁKOVÁ. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [37] Band Structure of Some Photonic Crystals - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Fig-3-1-Electromagnetic-wave-propagation_fig7_313725653 [accessed 3 May, 2022]

- [38] UV-VIS Absorption Spectroscopy: Instrumentation. *Sheffield Hallam University* [online]. [cit. 2022-05-04]. Dostupné z: <https://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/molspec/uvvisab3.htm#>
- [39] UV-Vis Spectroscopy: Instrumentation of UV-visible spectroscopy. In: *PSIBERG* [online]. 2.10.2021 [cit. 2022-05-04]. Dostupné z: <https://psiberg.com/uv-vis-spectroscopy/>
- [40] IMANIPOOR, Javad, Mohsen MOHAMMADI a Mohammad DINARI. Evaluating the performance of L-methionine modified montmorillonite K10 and 3-aminopropyltriethoxysilane functionalized magnesium phyllosilicate organoclays for adsorptive removal of azithromycin from water. *Separation and Purification Technology* [online]. 2021, **275** [cit. 2022-05-04]. ISSN 13835866. Dostupné z: doi:10.1016/j.seppur.2021.119256
- [41] SONG, Jae Geun, Sang Hoon LEE a Hyo-Kyung HAN. Development of an M cell targeted nanocomposite system for effective oral protein delivery: preparation, in vitro and in vivo characterization. *Journal of Nanobiotechnology* [online]. 2021, **19**(1) [cit. 2022-05-04]. ISSN 1477-3155. Dostupné z: doi:10.1186/s12951-020-00750-y
- [42] LEE, Sang Hoon, Jae Geun SONG a Hyo-Kyung HAN. Development of pH-responsive organic-inorganic hybrid nanocomposites as an effective oral delivery system of protein drugs. *Journal of Controlled Release* [online]. 2019, **311-312**, 74-84 [cit. 2022-05-04]. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2019.08.036
- [43] HAN, Hyo-Kyung, Liang YANG, Soo-Kyung CHOI a Hyunjae SHIN. 3-aminopropyl functionalized magnesium phyllosilicate as an organoclay based drug carrier for improving the bioavailability of flurbiprofen. *International Journal of Nanomedicine* [online]. [cit. 2022-05-04]. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S51756
- [44] Physicochemical, in vitro and in vivo evaluation of flurbiprofen microemulsion - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-Structure-of-Flurbiprofen_fig1_282042118 [accessed 4 May, 2022]
- [45] YANG, Liang, Yating SHAO a Hyo-Kyung HAN. Improved pH-dependent drug release and oral exposure of telmisartan, a poorly soluble drug through the formation of drug-aminoclay complex. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2014, **471**(1-2), 258-263 [cit. 2022-05-04]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.05.009
- [46] Telmisartan quality control by validation of UV-spectrophotometric method - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-Telmisartan_fig1_338900974 [accessed 4 May, 2022]
- [47] CAYMAN CHAMICAL. *Product information: Curcumin (technical grade)*. Ann Arbor, USA, 2018, 1 s. Dostupné také z: <https://cdn.caymanchem.com/cdn/insert/81025.1.pdf>

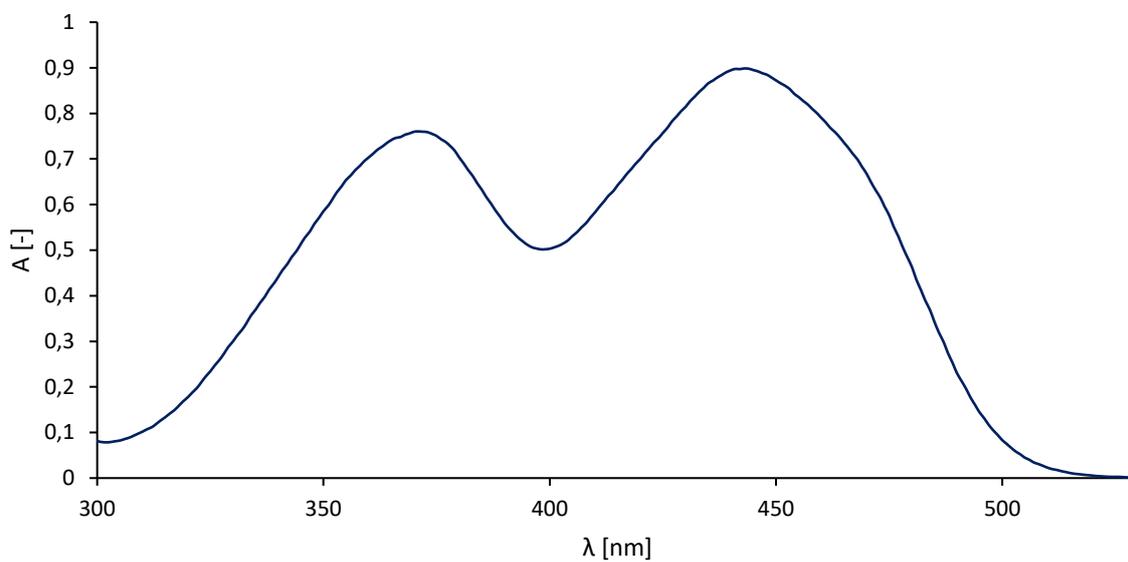
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

Å	Ångström
DNA	deoxyribonukleová kyselina
APTES	3-aminopropyltriethoxysilan
FMN	flavinmononukleotid
FAD	flavinadenindinukleotid (ox. forma)
FADH ₂	flavinadenindinukleotid (red. forma)
GI	gastrointestinální
RNA	ribonukleová kyselina
UV-VIS	ultrafialová a viditelná oblast
a	množství adsorbované látky
p	tlak
k	empirická konstanta Freundlichovy izotermy
n	empirická konstanta Freundlichovy izotermy
θ	podíl obsazeného povrchu
k_{ads}	konstanta úměrnosti
b	konstanta poměru adsorpční a desorpční konstanty
q_t	množství adsorbované látky v čase t
q_E	množství adsorbované látky v rovnováze
k_{p1}	rychlostní konstanta
k_{p2}	rychlostní konstanta
ν	frekvence
λ	vlnová délka
c	rychlost světla ve vakuu
A	absorbance
ϵ_λ	molární absorpční koeficient
c	koncentrace
l	tloušťka absorbující vrstvy
T	transmitance prostředí

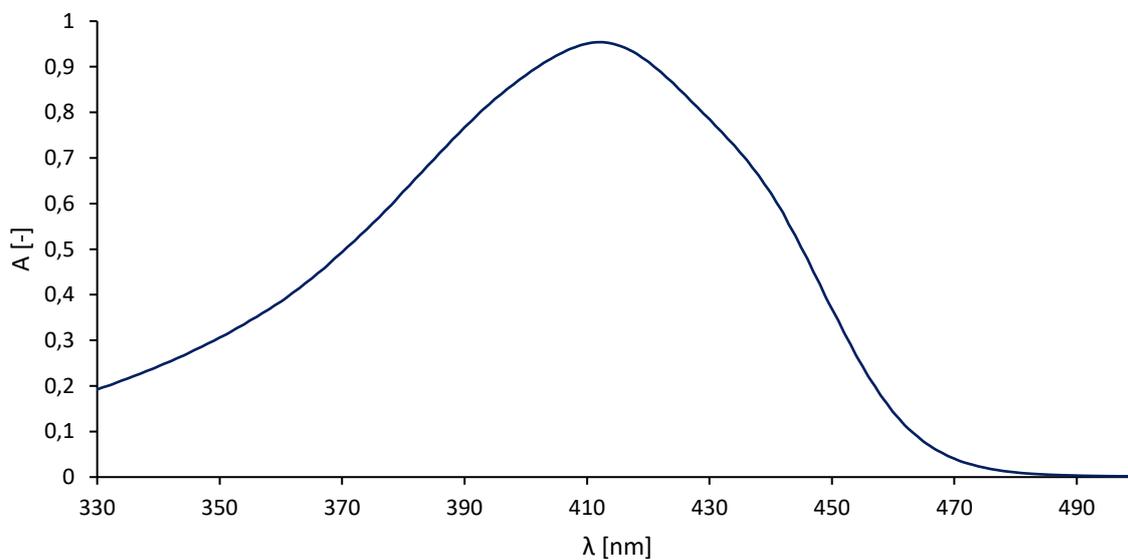
Φ	zářivý tok
CCD	charge-coupled device
AMJ	aminojíl
BSA	hovězí sérový albumin
rpm	otáčky/min
MQ voda	superčistá voda
c_t	koncentrace v čase t
c_E	koncentrace v rovnováze
c_0	počáteční koncentrace
m_0 -kurkumin	počáteční navážka kurkuminu
R	účinnost adsorpce
BAL	biologicky aktivní látka
Q_{\max}	maximální adsorpční kapacita
K_F	Freundlichův koeficient
K_L	Langmuirův koeficient
R^2	korelační koeficient
c_m	hmotnostní koncentrace
t	čas

7 PŘÍLOHY

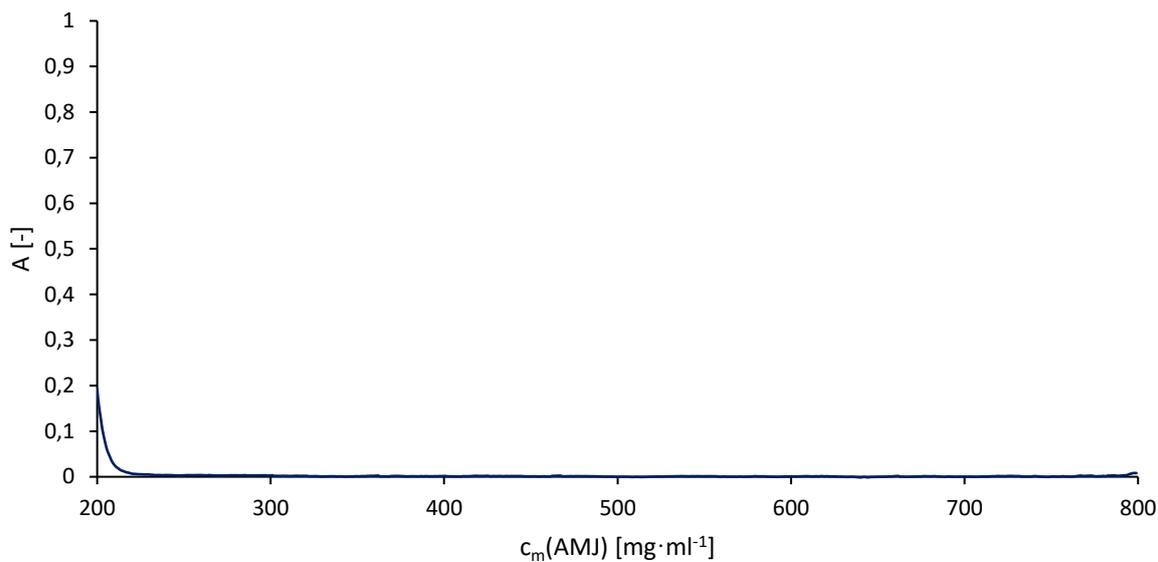
7.1 Absorpční spektra



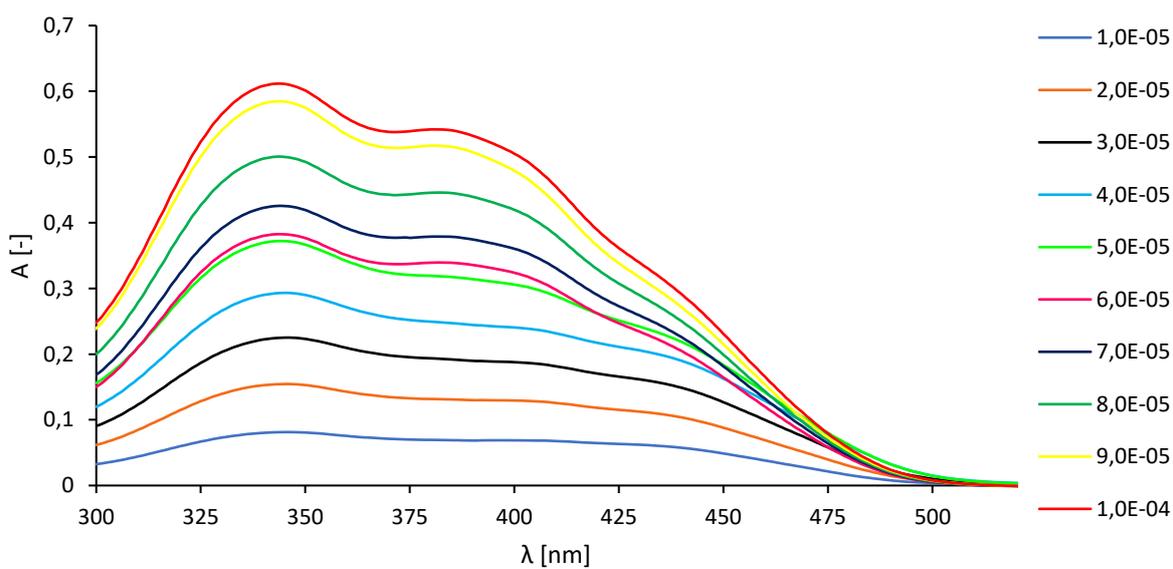
Příloha 1: Spektrum riboflavinu ($8 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)



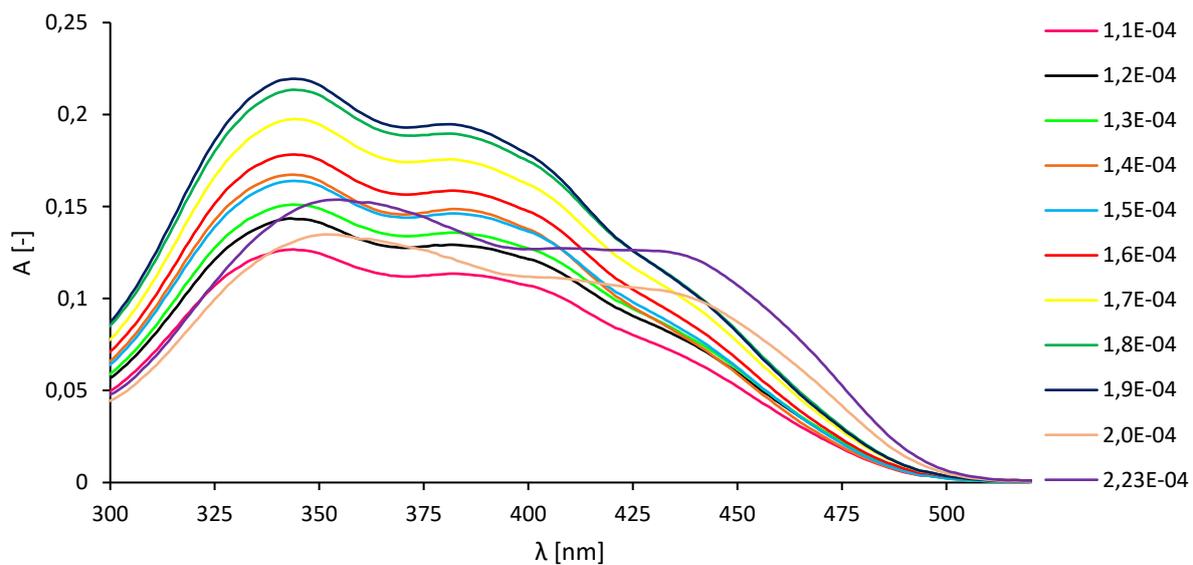
Příloha 2: Spektrum kurkuminu v acetonu ($1,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)



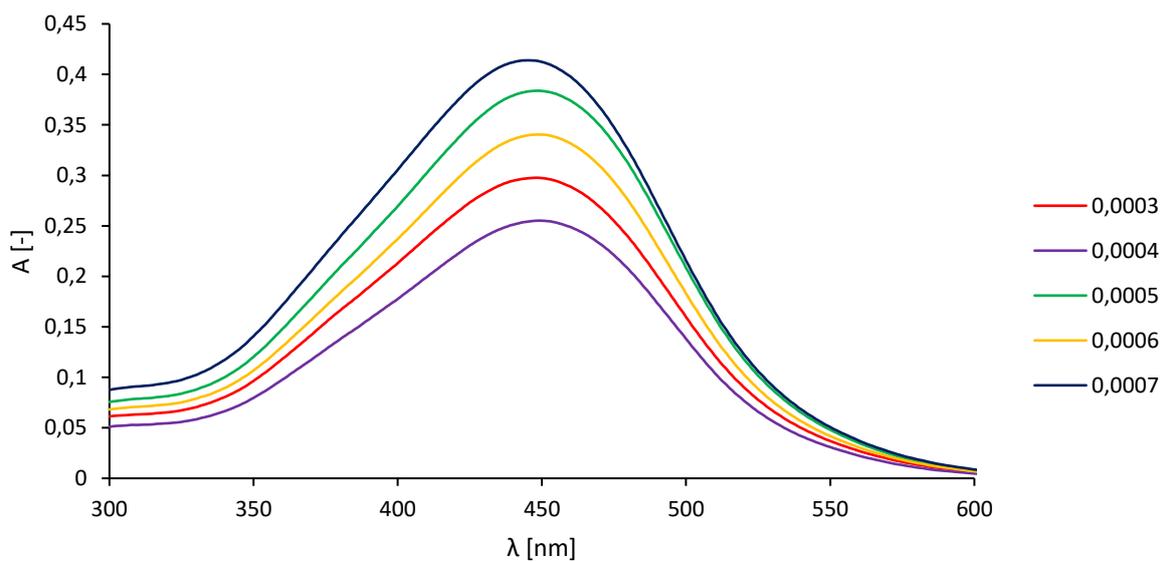
Příloha 3: Spektrum aminojílu ($0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$)



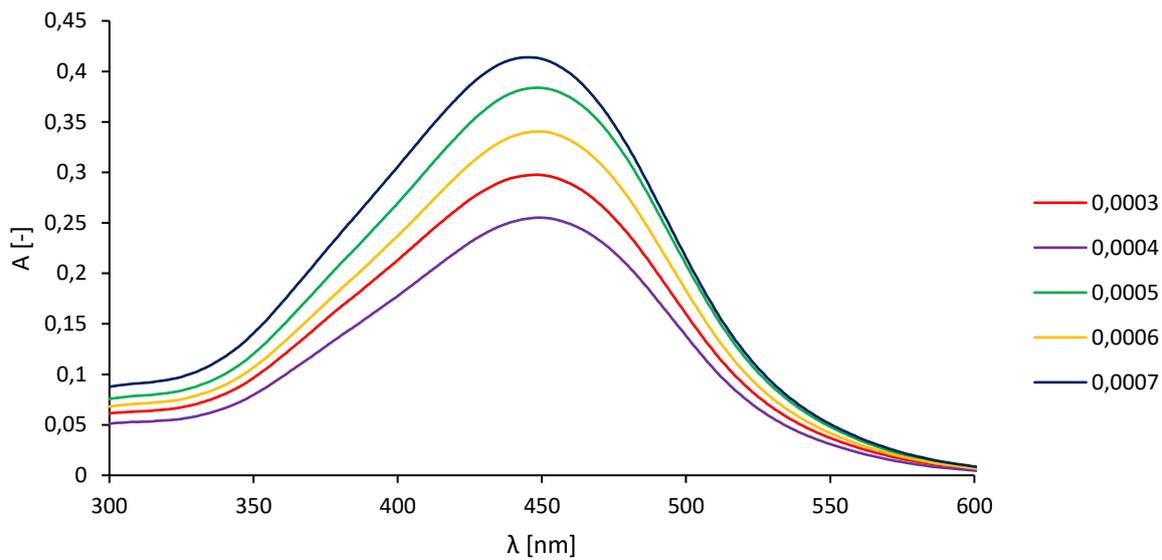
Příloha 4: Spektra riboflavinu pro q_E , R a izotermy ($c=1\cdot 10^{-5}-1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)



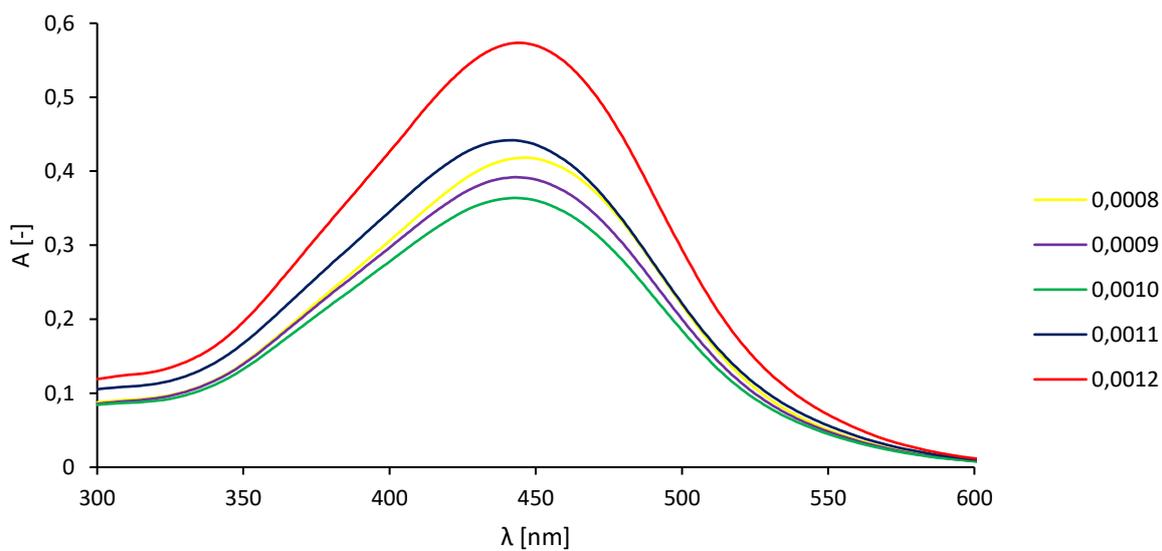
Příloha 5: Spektra riboflavínu pro q_E , R a izotermy ($c=1,1-2,23 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; 5x ředění)



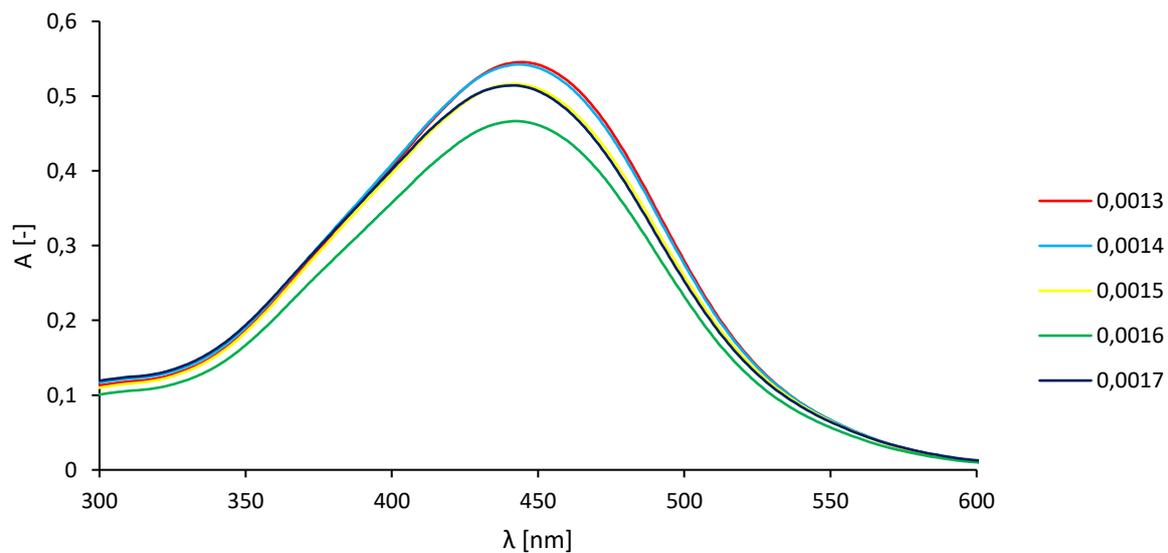
Příloha 6: Spektra kurkumínu pro q_E , R a izotermy ($m=0,0003-0,0007 \text{ g}$; 5x ředění)



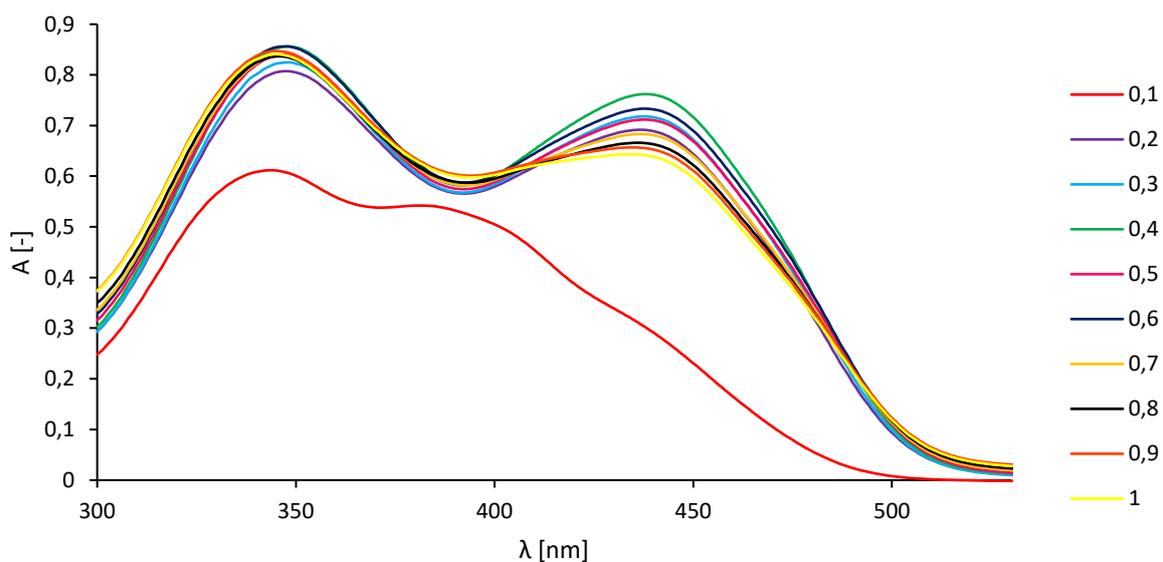
Příloha 7: Spektra kurkuminu pro q_E , R a izotermy ($m=0,0003-0,0007$ g; 5x ředění)



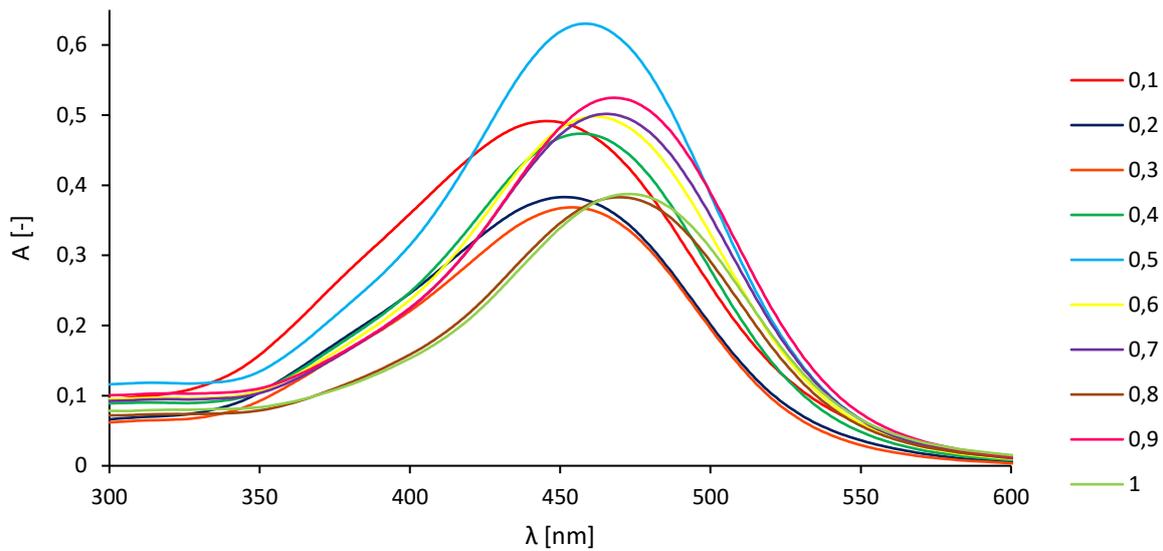
Příloha 8: Spektra kurkuminu pro q_E , R a izotermy ($m=0,0008-0,0012$ g; 5x ředění)



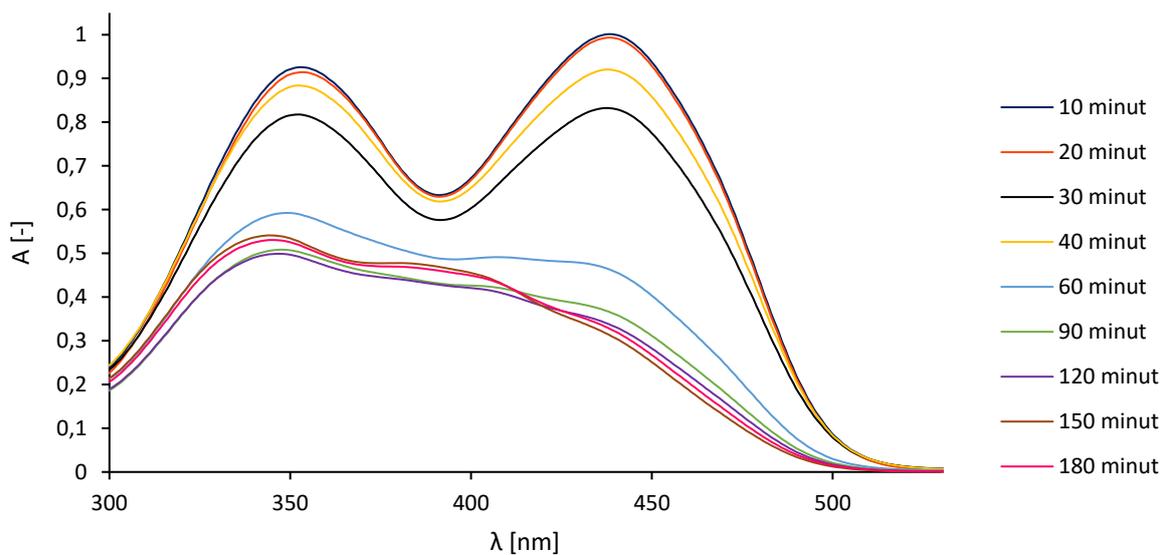
Příloha 9: Spektra kurkuminu pro q_E , R a izotermy ($m=0,0003-0,0007$ g; 5x ředění)



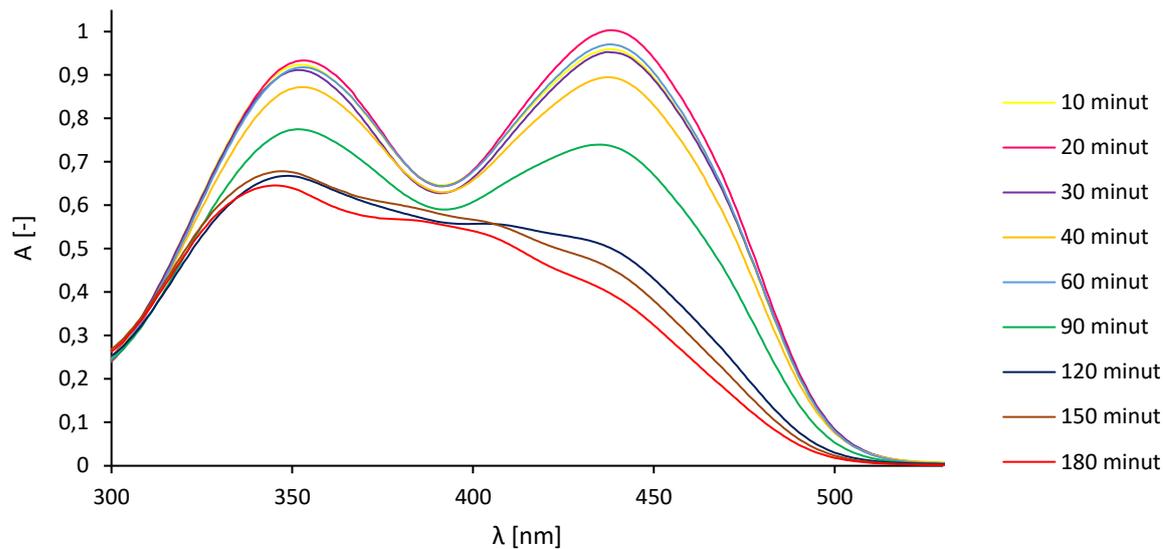
Příloha 10: Spektra pro vliv navážky aminojílu (riboflavin)



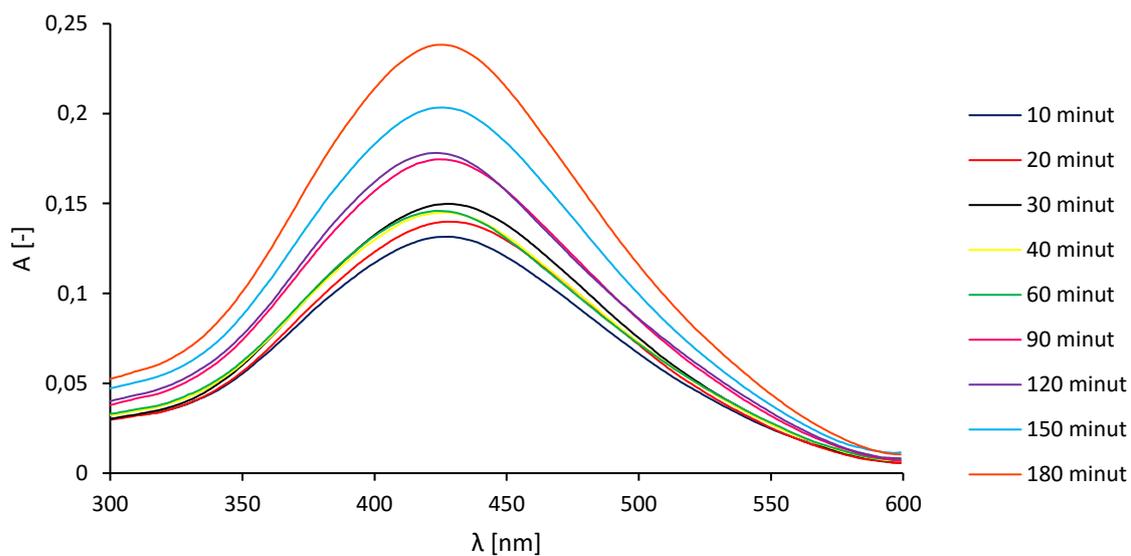
Příloha 11: Spektra pro vliv navážky aminojílu (kurkumin)



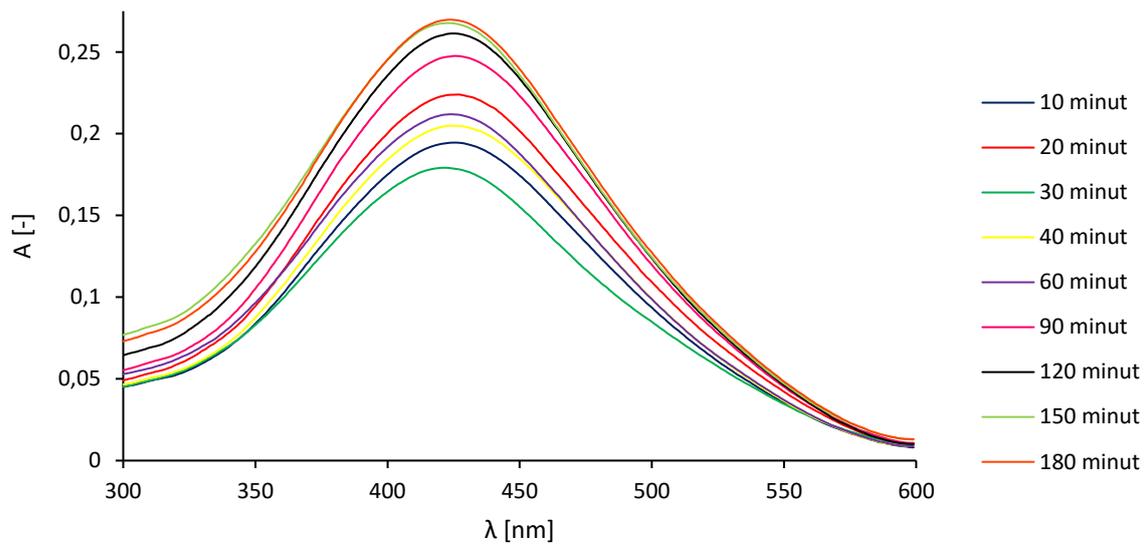
Příloha 12: Spektra pro stanovení vlivu teploty, doby kontaktu a kinetiky (riboflavin; 22 °C)



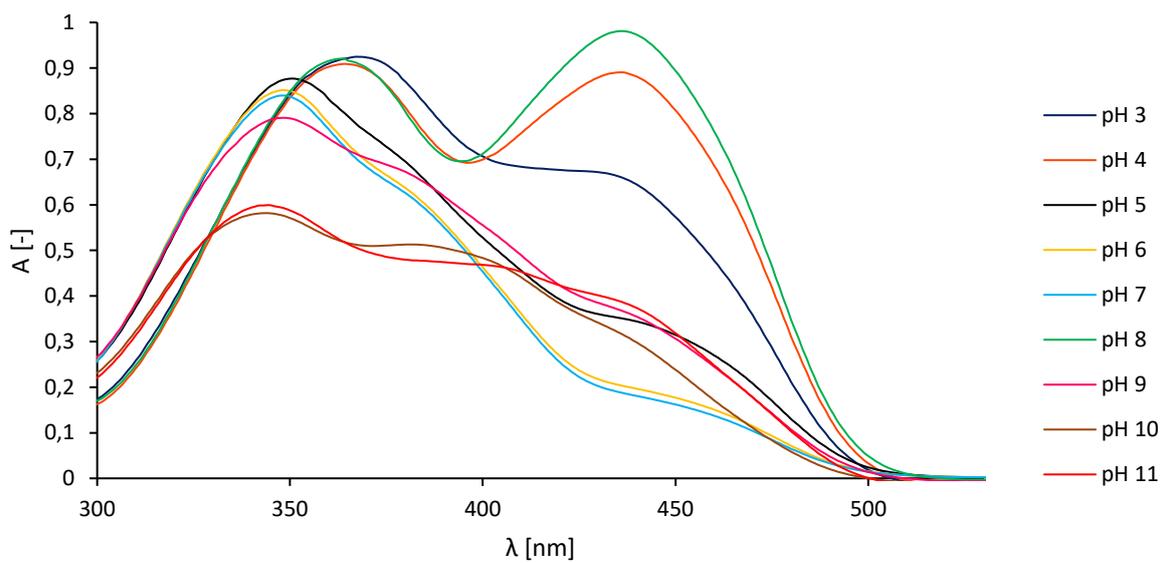
Příloha 13: Spektra pro stanovení vlivu teploty, doby kontaktu a kinetiky (riboflavin; 37 °C)



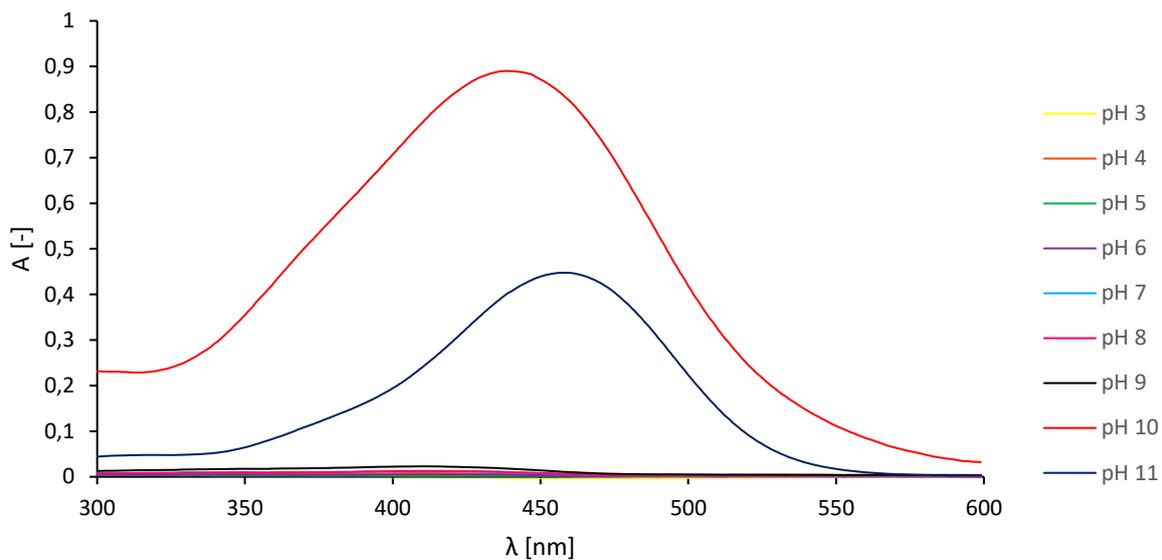
Příloha 14: Spektra pro stanovení vlivu teploty, doby kontaktu a kinetiky (kurkumin; 22 °C; ředění 10x)



Příloha 15: Spektra pro stanovení vlivu teploty, doby kontaktu a kinetiky (kurkumin; 37 °C; ředění 10x)

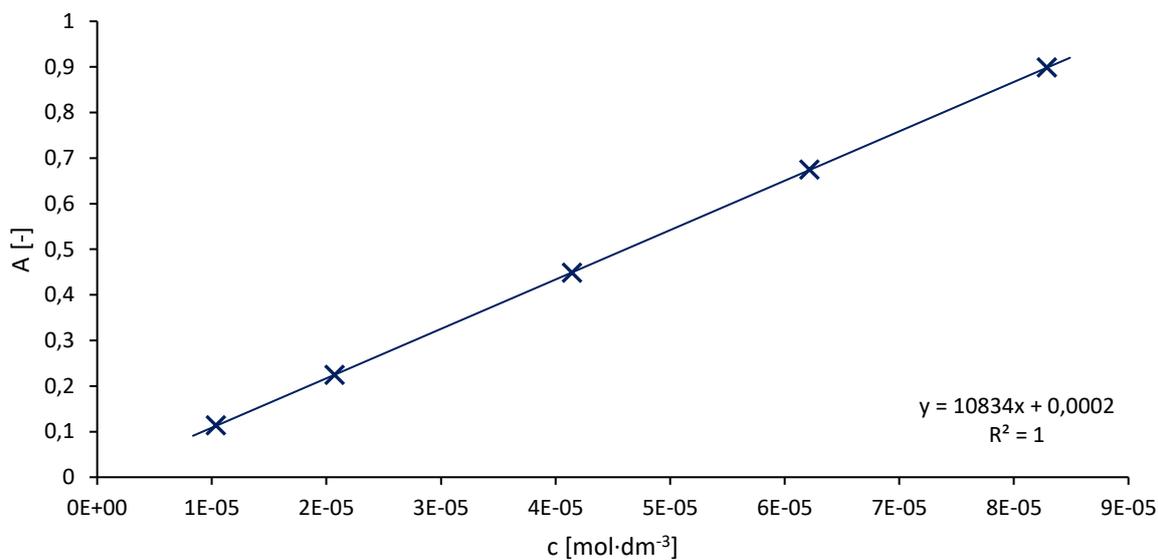


Příloha 16: Spektrum pro stanovení vlivu pH na adsorpci (riboflavin)

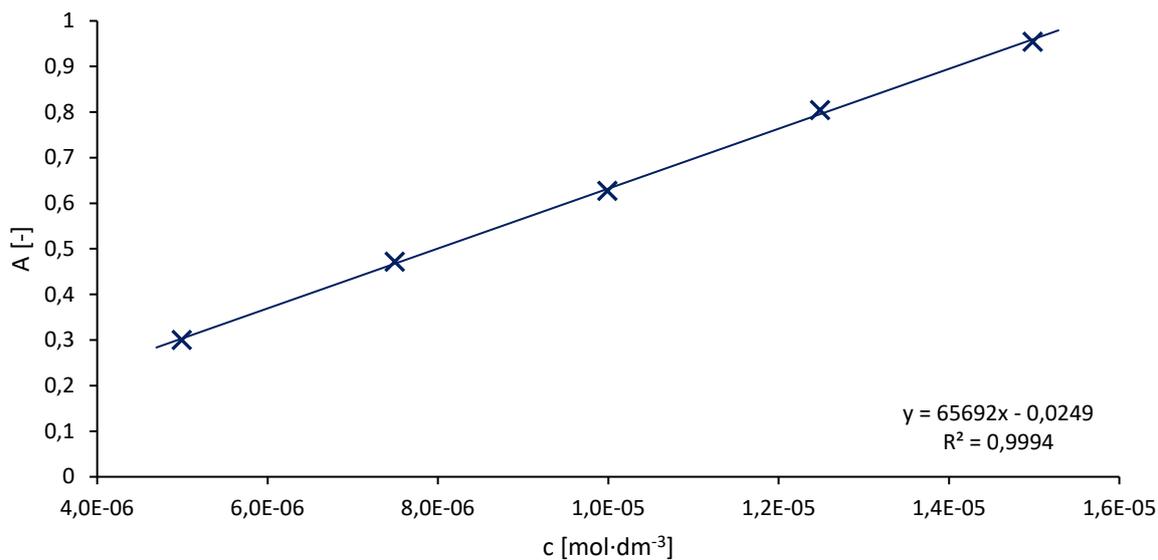


Příloha 17: Spektrum pro stanovení vlivu pH na adsorpci (kurkumin); pH 11 – ředění 10x

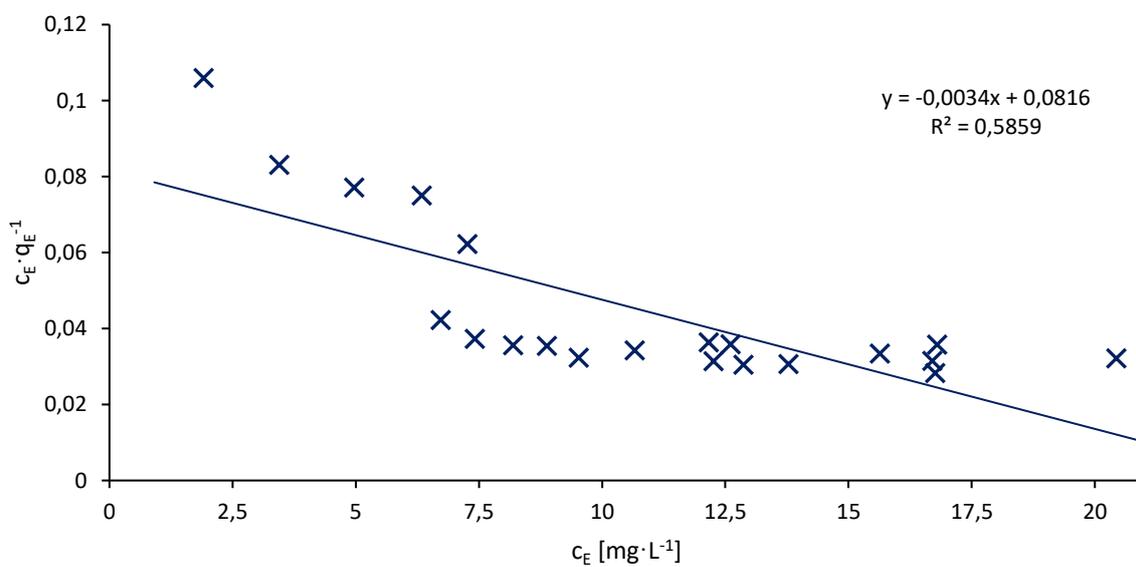
7.2 Ostatní grafy



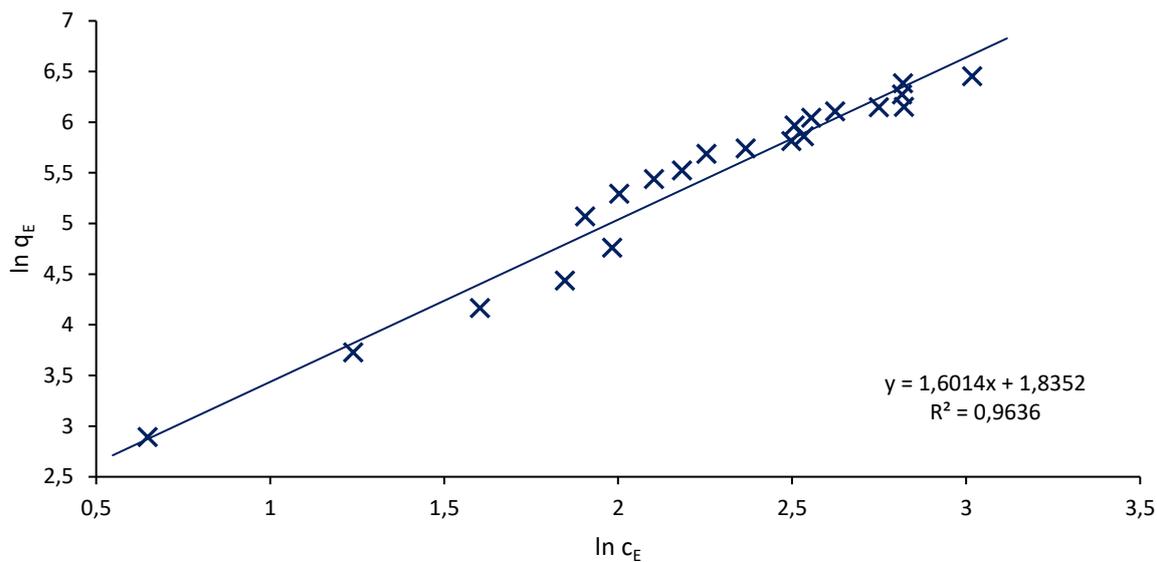
Příloha 18: Kalibrační křivka riboflavínu



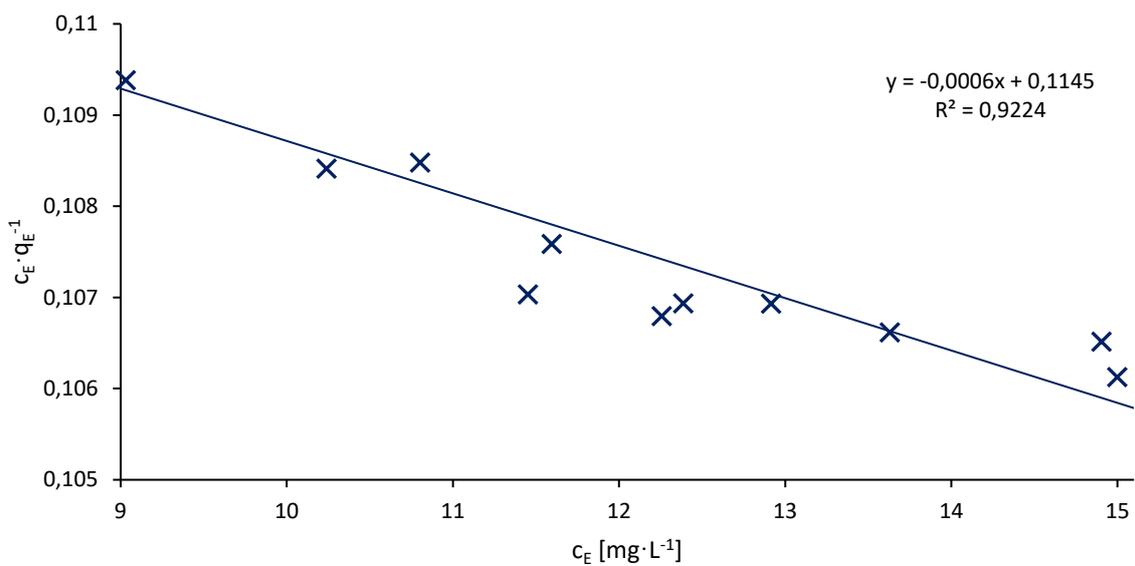
Příloha 19: Kalibrační křivka kurkuminu



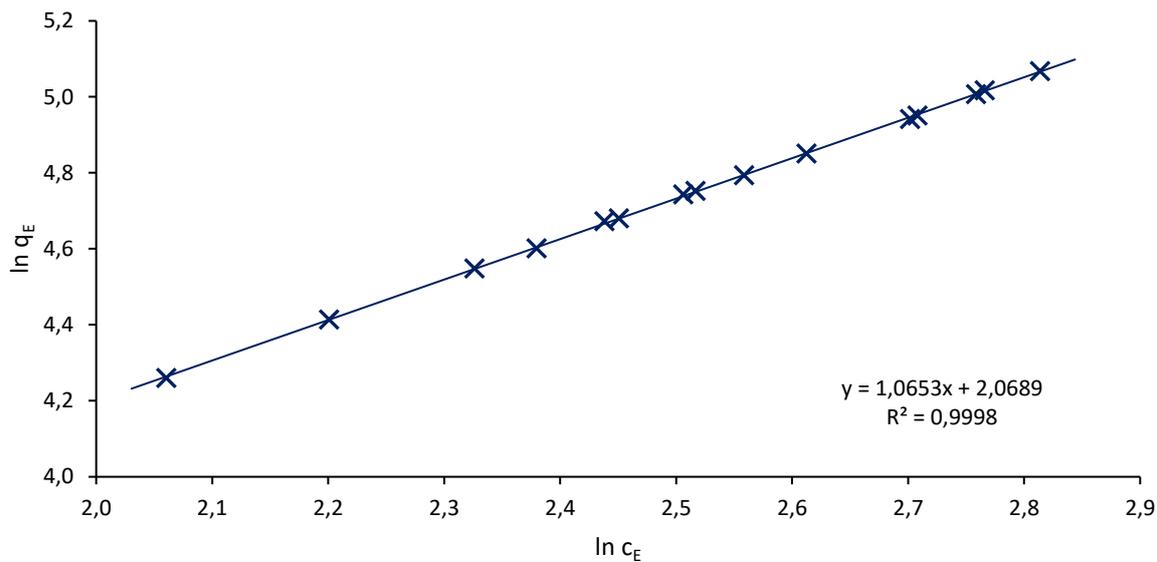
Příloha 20: Linearizovaná data riboflavínu pro Langmuirův model



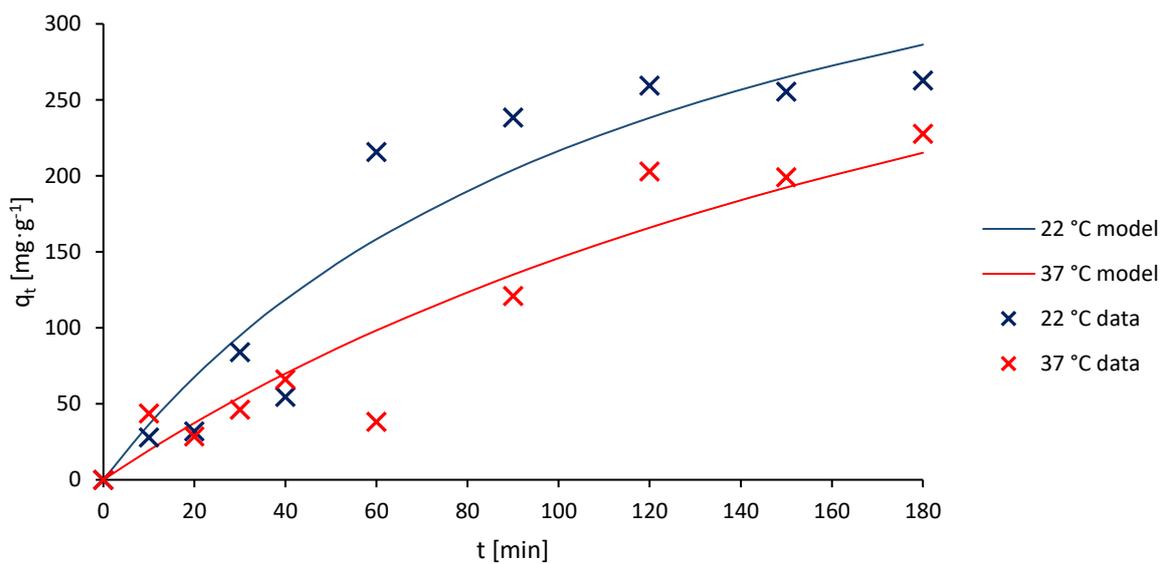
Příloha 21: Linearizovaná data riboflavínu pro Freundlichův model



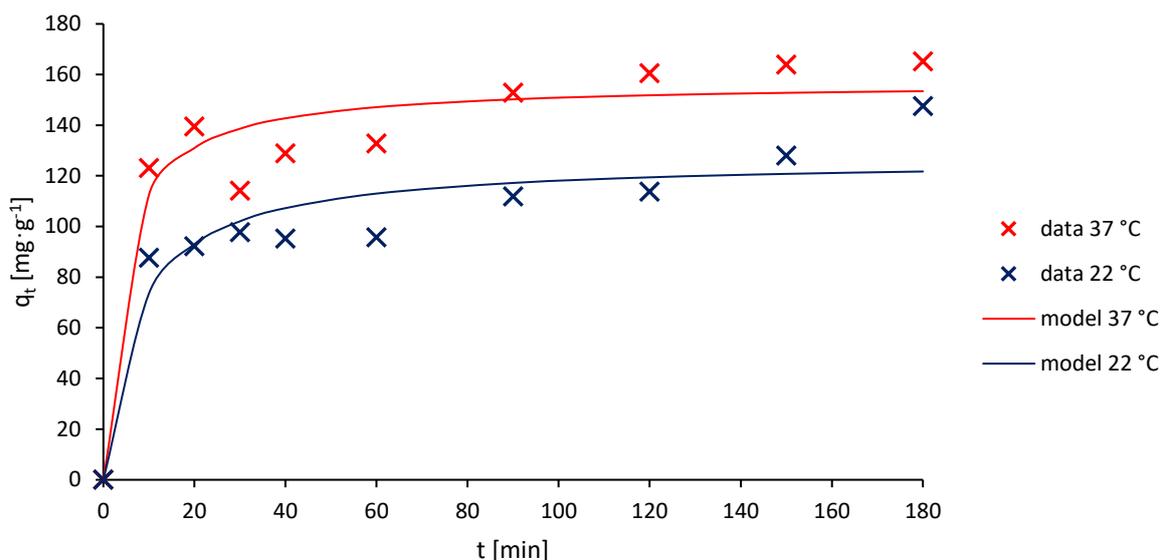
Příloha 22: Linearizovaná data kurkuminu pro Langmuirův model



Příloha 23: Linearizovaná data kurkuminu pro Freundlichův model



Příloha 24: Nelinearizované tvary kinetických modelů pseudo-druhého řádu (riboflavin)



Příloha 25: Nelinearizované tvary kinetických modelů pseudo-druhého řádu (kurkumin)

7.3 Tabulky

c_0 [mol·dm ⁻³]	c_0 [mg·L ⁻¹]	c_E [mg·L ⁻¹]	q_E [mg·g ⁻¹]	R [%]	$c_E \cdot q_E^{-1}$	$\ln c_E$	$\ln q_E$
1·10 ⁻⁵	3,8	1,91	18,04	49,71	1,059·10 ⁻¹	0,648	2,893
2·10 ⁻⁵	7,6	3,45	41,50	54,60	8,314·10 ⁻²	1,238	3,726
3·10 ⁻⁵	11,4	4,97	64,34	56,44	7,718·10 ⁻²	1,603	4,164
4·10 ⁻⁵	15,2	6,34	84,52	58,27	7,504·10 ⁻²	1,847	4,437
5·10 ⁻⁵	19,5	7,26	116,67	62,75	6,226·10 ⁻²	1,983	4,759
6·10 ⁻⁵	23,4	6,72	159,15	71,27	4,224·10 ⁻²	1,905	5,070
7·10 ⁻⁵	27,3	7,41	198,85	72,84	3,729·10 ⁻²	2,003	5,293
8·10 ⁻⁵	31,2	8,19	230,09	73,75	3,560·10 ⁻²	2,103	5,438
9·10 ⁻⁵	35,1	8,88	250,21	74,71	3,548·10 ⁻²	2,184	5,522
1·10 ⁻⁴	39,0	9,53	294,72	75,57	3,233·10 ⁻²	2,254	5,686
1,1·10 ⁻⁴	41,8	10,66	311,36	74,49	3,425·10 ⁻²	2,367	5,741
1,2·10 ⁻⁴	45,6	12,16	334,38	73,33	3,637·10 ⁻²	2,498	5,812
1,3·10 ⁻⁴	49,4	12,61	351,13	74,48	3,590·10 ⁻²	2,534	5,861
1,4·10 ⁻⁴	53,2	12,26	390,68	76,95	3,139·10 ⁻²	2,507	5,968
1,5·10 ⁻⁴	57,0	12,87	421,32	77,42	3,054·10 ⁻²	2,555	6,043
1,6·10 ⁻⁴	60,8	13,78	448,74	77,33	3,071·10 ⁻²	2,623	6,106
1,7·10 ⁻⁴	64,6	15,64	467,31	75,79	3,346·10 ⁻²	2,750	6,147
1,8·10 ⁻⁴	68,4	16,80	469,07	75,44	3,582·10 ⁻²	2,821	6,151
1,9·10 ⁻⁴	72,2	16,70	529,96	76,86	3,152·10 ⁻²	2,816	6,273
2·10 ⁻⁴	76,0	16,76	592,41	77,95	2,829·10 ⁻²	2,819	6,384
2,23·10 ⁻⁴	84,0	20,44	635,63	75,67	3,215·10 ⁻²	3,017	6,455

Příloha 26: Data pro stanovení vlivu navážky BAL a adsorpčních izoterm (riboflavin)

m₀-kurkumin [g]	c_E [mg·L⁻¹]	q_E [mg·g⁻¹]	R [%]	c_E·g_E⁻¹	ln c_E	ln q_E
0,0003	9,03	82,57	27,59	0,1094	2,201	4,414
0,0004	7,85	70,83	17,75	0,1108	2,060	4,260
0,0005	11,45	106,99	21,45	0,1070	2,438	4,673
0,0006	10,24	94,44	15,78	0,1084	2,326	4,548
0,0007	12,26	114,78	16,44	0,1068	2,506	4,743
0,0008	12,39	115,83	14,51	0,1069	2,517	4,752
0,0009	11,60	107,78	12,01	0,1076	2,451	4,680
0,0010	10,80	99,58	9,98	0,1085	2,380	4,601
0,0011	12,92	120,78	11,01	0,1069	2,558	4,794
0,0012	16,67	158,76	13,26	0,1050	2,814	5,067
0,0013	15,90	150,94	11,64	0,1053	2,766	5,017
0,0014	15,78	149,50	10,70	0,1055	2,759	5,007
0,0015	15,00	141,33	9,45	0,1061	2,708	4,951
0,0016	13,63	127,84	8,01	0,1066	2,612	4,851
0,0017	14,91	139,93	8,25	0,1065	2,702	4,941

Příloha 27: Data pro stanovení vlivu navážky BAL a adsorpčních izoterm (kurkumin)

BAL	riboflavin			kurkumin		
	c_m [mg·mL⁻¹]	c_E [mg·L⁻¹]	q_E [mg·g⁻¹]	R [%]	c_E [mg·L⁻¹]	q_E [mg·g⁻¹]
0,1	10,47	285,28	73,15	14,48	144,85	18,11
0,2	24,01	71,40	38,45	11,44	342,80	85,70
0,3	24,93	46,10	36,07	11,03	229,90	86,21
0,4	26,46	30,95	32,14	13,97	165,07	82,53
0,5	24,72	28,56	36,62	18,37	123,26	77,04
0,6	25,46	22,19	34,71	14,66	108,89	81,67
0,7	23,72	21,83	39,19	14,76	93,20	81,55
0,8	23,10	19,63	40,77	11,44	85,70	85,70
0,9	22,76	17,85	41,65	15,42	71,76	80,73
1,0	22,27	16,73	42,89	11,56	68,44	85,55

Příloha 28: Data pro stanovení vlivu navážky aminojílu

BAL	riboflavin						kurkumin					
T [°C]	22			37			22			37		
t [min]	c _t [mg·L ⁻¹]	q _t [mg·g ⁻¹]	R [%]	c _t [mg·L ⁻¹]	q _t [mg·g ⁻¹]	R [%]	c _t [mg·L ⁻¹]	q _t [mg·g ⁻¹]	R [%]	c _t [mg·L ⁻¹]	q _t [mg·g ⁻¹]	R [%]
10	34,78	27,86	7,75	33,33	43,71	11,60	8,76	87,63	10,95	12,31	123,05	15,38
20	34,50	31,99	8,49	34,84	28,58	7,58	9,22	92,25	11,53	13,95	139,50	17,44
30	28,91	83,95	23,33	33,07	46,25	12,27	9,78	97,79	12,22	11,42	114,16	14,27
40	31,96	54,59	15,22	31,07	66,25	17,57	9,52	95,22	11,90	12,89	128,86	16,11
60	16,12	215,83	57,25	33,71	38,25	10,58	9,57	95,72	11,97	13,28	132,75	16,59
90	12,73	238,40	66,22	25,59	121,07	32,11	11,18	111,84	13,98	15,28	152,80	19,10
120	11,75	259,49	68,83	17,41	202,86	53,81	11,38	113,78	14,22	16,05	160,50	20,06
150	10,91	255,55	71,06	15,79	199,22	58,13	12,80	127,98	16,00	16,40	163,99	20,50
180	11,42	262,78	69,70	13,78	227,66	63,46	14,76	147,58	18,45	16,52	165,18	20,65
BAL	riboflavin						kurkumin					
T [°C]	22			37			22			37		
t [min]	t·qt ⁻¹	ln(q _E -q _t)	t·qt ⁻¹	ln(q _E -q _t)	t·qt ⁻¹	ln(q _E -q _t)	t·qt ⁻¹	ln(q _E -q _t)	t·qt ⁻¹	ln(q _E -q _t)		
10	0,359	5,459	0,229	5,389	0,114	4,093	0,081	3,741				
20	0,625	5,442	0,700	5,456	0,217	4,013	0,143	3,246				
30	0,357	5,186	0,649	5,378	0,307	3,908	0,263	3,932				
40	0,733	5,338	0,604	5,281	0,420	3,958	0,310	3,592				
60	0,278	3,849	1,568	5,414	0,627	3,948	0,452	3,479				
90	0,378	3,194	0,743	4,954	0,805	3,576	0,589	2,516				
120	0,462	1,191	0,592	4,093	1,055	3,520	0,748	1,542				
150	0,587	1,979	0,753	4,152	1,172	2,975	0,915	0,174				
180	0,685		0,791		1,220		1,090					

Příloha 29: Data pro stanovení vlivu teploty, doby kontaktu a kinetických parametrů

BAL	riboflavin			kurkumin		
pH	ce [mg·L⁻¹]	qe [mg·g⁻¹]	R [%]	ce [mg·L⁻¹]	qe [mg·g⁻¹]	R [%]
3	21,78	158,24	42,09	0,10	1,03	0,13
4	30,09	68,31	19,98	0,18	1,81	0,23
5	11,70	248,50	68,88	0,15	1,51	0,19
6	6,63	309,71	82,37	0,17	1,68	0,21
7	6,09	301,13	83,81	0,21	2,06	0,26
8	33,23	42,77	11,62	0,21	2,08	0,26
9	11,88	257,23	68,41	0,26	2,58	0,32
10	9,78	278,24	74,00	5,38	53,80	6,72
11	12,50	250,99	66,75	19,64	196,41	24,55

Příloha 30: Data pro stanovení vlivu pH