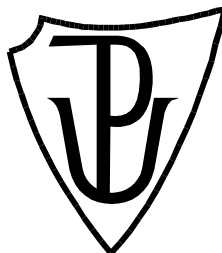


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY



DIPLOMOVÁ PRÁCE

PŘÍPRAVA OPTIMALIZOVANÝCH MAGNETICKÝCH ADSORBENTŮ PRO
SEPARACI CÍLOVÝCH ANALYTŮ

Autor: Bc. Kateřina Rosáková

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Kateřina Poláková, Ph.D.

Studijní obor: Nanotechnologie

Forma studia: prezenční

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Kateřina Rosáková

Název práce: Příprava optimalizovaných magnetických adsorbentů pro separaci cílových analytů

Typ práce: diplomová

Pracoviště: Katedra experimentální fyziky

Vedoucí práce: Mgr. Kateřina Poláková, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2011

Počet stran: 55

Jazyk: čeština

Abstrakt: V předkládané diplomové práci je popisována příprava a charakterizace dvou typů magnetických sorbentů na bázi oxidů železa pro účely adsorpce a následné separace planárních organických barviv, které sloužily jako modely významných karcinogenních látek (polyaromatické uhlovodíky). Práce obsahuje teoretický úvod zabývající se problematikou magnetických separací, dále se zmiňuje o oxidech železa, jejich strukturních formách a také popisuje vlastnosti modelových barviv, která byla v práci použita. Experimentální část práce zahrnuje přípravu oxidů železa, jednak termicky indukovanou reakcí v pevné fázi z octanu železnatého, jednak koprecipitací železnatých a železitých solí. Je popsána velikostní, fázová, strukturní a magnetická charakterizace připravených materiálů. Po modifikaci povrchu silanizací a následném navázání reaktivního ftalocyaninového barviva je sledována maximální sorpční kapacita obou připravených materiálů pro vybraná barviva a výsledek diskutován ve vztahu k jejich fyzikálně-chemickým vlastnostem.

Klíčová slova: magnetické nanočástice, magnetické separace, sorpční vlastnosti

Bibliographic identification

Author's first name and surname: Kateřina Rosáková

Title: Preparation of optimized magnetic adsorbents for separation of target analytes

Type of thesis: master

Department: Department of Experimental Physics

Supervisor: Mgr. Kateřina Poláková, Ph.D.

Year of presentation: 2011

Number of pages: 55

Language: czech

Abstract: This diploma thesis is focused on the synthesis and characterization of two types of magnetic sorbents consisting of nanoparticles of iron oxides as potential adsorbents for the magnetic separation of planar organic dyes, which were used as models of important carcinogens (polyaromatic hydrocarbons). The presented work includes the theoretical introduction including a background information about magnetic separation, iron oxides and model dyes which were used. The experimental part describes the synthesis of the iron oxides nanoparticles by the thermal decomposition of iron-bearing precursors and by the coprecipitation of iron salts, their structural, phase and magnetic characterization. Consequently, after the surface modification by silanization and immobilization of reactive copper phthalocyanine dye the maximal adsorption capacities of the prepared materials are evaluated. The obtained results are discussed with respect to the physico-chemical properties of the prepared magnetic nanoparticles.

Keywords: magnetic nanoparticles, magnetic separation, sorption properties

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou prací vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Kateřiny Polákové, Ph.D., a konzultovala ji s prof. Ing. Ivem Šafaříkem, DrSc., a že jsem použila zdroje, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne 12. 4. 2011

.....

Kateřina Rosáková

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce Mgr. Kateřině Polákové, Ph.D., a konzultantovi prof. Ing. Ivovi Šafaříkovi, DrSc., za odborné vedení, připomínky a čas, který mi věnovali při zpracování této práce. Současně děkuji i ostatním pracovníkům CVN, kteří mi ochotně zodpověděli všechny mé dotazy a také pracovníkům Oddělení nanobiotechnologie Ústavu systémové biologie a ekologie AV ČR v Českých Budějovicích za ochotu, vstřícnost a pomoc při práci.

Obsah

Obsah	6
Úvod.....	8
1. Stav problematiky – teoretický náhled	10
2. Oxidy železa	13
3. Barviva.....	18
3.1. Ftalocyanin mědi.....	18
3.2. Heteropolyaromatická barviva	19
3.2.1. Akridinová oranž	20
3.2.2. Safranin	20
3.3. Trifenylmethanová barviva	21
3.3.1. Krystalová violeť.....	21
3.3.2. Malachitová zeleň.....	21
3.4. Diazo barviva.....	23
3.4.1. Kongo červeň	23
4. Experimentální techniky	24
5. Experimentální část.....	26
5.1. Příprava oxidů železa	26
5.1.1. OC 78 (maghemit).....	26
5.1.2. KR 2 (magnetit)	26
5.2. Úprava povrchu připravených materiálů (silanizace)	27
5.2.1. Silanizace OC 78	27
5.2.2. Silanizace KR 2.....	27
5.3. Navázání specifického ligandu (ftalocyanin mědi).....	27
5.3.1. Navázání ftalocyaninu na OC 78	27
5.3.2. Navázání ftalocyaninu na KR 2	28
5.4. Příprava vzorků pro měření adsorpčních izoterem.....	29

6. Výsledky a diskuze.....	33
6.1. Strukturní a fázová charakterizace připravených nanočástic	33
6.2. Velikostní a morfologická charakterizace	38
6.3. Povrchová úprava připravených nanočástic a jejich sorpční vlastnosti.....	44
Závěr	49
Použitá literatura	51
Použité zkratky a symboly.....	55

Úvod

Magnetické separace se intenzivně studují jako perspektivní metody pro celou řadu aplikací, protože výrazně usnadňují a urychlují procesy separací různých biologicky aktivních látek v heterogenních systémech. Selektivních magnetických separací lze využít nejenom v mikrobiologických procesech pro detekci a izolaci mikroorganismů či v biochemii, ale také v molekulární biologii a medicíně, kde se využívá imunomagnetické interakce antigenu a protilátky či interakcí afinitních ligandů a biologicky aktivních látek. Neméně významné je uplatnění magnetických separací ve velkém měřítku v oblastech ochrany životního prostředí, např. při čištění odpadních vod. V současné době se výzkum intenzivně zaměřuje na přípravu optimalizovaných magnetických sorbentů a vývoj technologických postupů pro magnetickou separaci radionuklidů, těžkých kovů či organických nečistot z odpadních vod.

Jednou z potenciálních aplikací, která však dosud nebyla popsána ani realizována, je možné odstranění karcinogenních polyaromatických látek z odpadních vod chemického průmyslu pomocí magnetických derivátů ftalocyaninu mědi. V současné době je však perspektivnější využití ftalocyaninu imobilizovaného na magnetických částicích v oblasti analytických metod, pomocí kterých je možno zkoncentrovat látky, které zvyšují riziko rakoviny. Jde o selektivní adsorpce a následné magnetické separace organických sloučenin s planární strukturou, jakou mají zejména karcinogenní polyaromatické uhlovodíky. Rovněž je možné separovat další významná xenobiotika, např. heteropolyaromatická či trifenylmethanová barviva.

Cílem této práce je příprava magnetických nanočástic oxidů železa termicky indukovanou reakcí v pevné fázi, které by byly po modifikaci (po silanizaci a navázání afinitního ligandu – ftalocyaninu mědi) vhodné jako magnetické adsorbenty pro následnou adsorpci a separaci cílových organických molekul s planární strukturou a porovnání jejich maximální adsorpční kapacity s analogicky modifikovanými magnetickými oxidy železa připravenými koprecipitační metodou na ÚSBE AV ČR (Ústavu systémové biologie a ekologie Akademie věd) v Českých Budějovicích.

První část práce je zaměřena na přípravu a kompletní fyzikálně-chemickou charakterizaci připravených nanočástic pomocí TEM (transmisní elektronová mikroskopie), SEM (skenovací elektronová mikroskopie), BET (měření specifické

plochy povrchu), MS (Mössbauerovy spektroskopie), XRD (rentgenové práškové difrakce) a XRF (rentgenová fluorescence).

Další část se věnuje povrchové úpravě nanočástic (silanizaci a navázání afinitního ligandu ftalocyaninu mědi ve formě reaktivního textilního barviva) pro pozdější selektivní separaci modelových organických sloučenin, a sice heteropolyaromatických a trifenylmethanových organických barviv.

Poslední část se zabývá stanovením maximálních adsorpčních kapacit výše zmíněných magnetických nanočástic vzhledem k vybraným barvivům. Výsledky jsou diskutovány ve vztahu k ploše povrchu připravených částic, jejich velikosti a stupni aglomerace. Diskuze se zabývá i tím, zda je výše sorpčních schopností závislá především na velké ploše povrchu připravených magnetických částic nebo ji výrazně ovlivňují jiné parametry.

1. Stav problematiky – teoretický náhled

Pro izolaci nebo magnetickou modifikaci biologicky aktivních látek či různých kontaminantů lze využít magnetické sorbenty nebo magnetické nosiče. Magnetická separace je založena na adsorpci nebo imobilizaci cílové sloučeniny nebo buněk na magnetické částice, přičemž se vzniklý komplex z nativního prostředí následně odstraní pomocí vnějšího magnetického pole ^[1].

Magnetické separace rozdělujeme na pozitivní a negativní. Při pozitivních separacích dochází k magnetické modifikaci a izolaci konkrétních žádaných sloučenin nebo buněk na rozdíl od negativních, kde se separují nežádoucí složky, čímž dojde k nabohacení žádané složky systému ^[1].

Magnetické separace představují jednu z perspektivních možností, jak v některých případech usnadnit nebo urychlit určité běžně používané separační metody a postupy. Nejčastěji jsou v současnosti využívány zejména v mikrobiologii, buněčné biologii, molekulární biologii, lékařství, biochemii, biotechnologiích a ekologii ^[1].

Z magnetických materiálů jsou k přípravě magnetických sorbentů (nosičů) nejčastěji využívány práškové oxidy železa, a to maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) a magnetit (Fe_3O_4), dále oxid chromičitý, práškové železo, nikl a ferity. Kromě těchto zmíněných magnetických částic lze využít i tzv. magnetické kapaliny, což jsou suspenze velmi jemných magnetických nanočástic ve vhodné nemagnetické kapalině ^[2,3]. Pro naše studium budeme využívat oxidy železa ve formě maghemitu a magnetitu.

Magnetické sorbenty je možné připravit několika způsoby. Jedním z nich je povrchová modifikace magnetovce nebo jiného magnetického materiálu silanizací, kdy pomocí silanizačního činidla nanese na povrch potřebnou funkční skupinu ^[4]. Dalším způsobem je zabudování jemné magnetické částice do struktury biopolymeru nebo syntetického polymeru, nebo imobilizace polymerního řetězce na povrch magnetických částic. Z biopolymerů se nejčastěji používají polysacharidy nebo bílkoviny, například celulóza ^[5], chitosan ^[6,7], chitin ^[8,9], dextran ^[10] či želatina. Syntetické polymery zastupují například nylon ^[11], polystyren ^[12] či polyethylenglykol ^[13]. Třetím způsobem je zabudování magnetických částic do struktury anorganického materiálu, jakým je například porézní sklo nebo silikagel ^[14].

Magnetických separací se využívá např. pro detekci a určení některých mikroorganismů (zejména patogenních) a jejich toxických metabolitů, a to v oblastech potravinářské, klinické a environmentální mikrobiologie. Jsou jednou z možností, jak urychlit mikrobiologický rozbor klasickou kultivační metodou, u které je možné získat výsledky až po 3–4 dnech. Příkladem využití může být detekce salmonel či verotoxigenních kmenů *Escherichia coli*. Dále se tyto techniky využívají pro odstranění nádorových buněk z kostní dřeně, odstranění T lymfocytů z kostní dřeně dárce při transplantacích, izolaci a stanovení počtu CD4+ a CD8+ lymfocytů přímo z krve nebo cílenou aplikaci léčiv a radionuklidů ^[1].

Další významná aplikace magnetických nanočástic nebo mikročástic je v oblasti biochemické a biotechnologické, kde se využívají pro izolaci a imobilizaci biologicky aktivních látek, např. enzymů, enzymových inhibitorů, protilátek, lektinů, oligonukleotidů, aptamerů, afinitních ligandů apod ^[1].

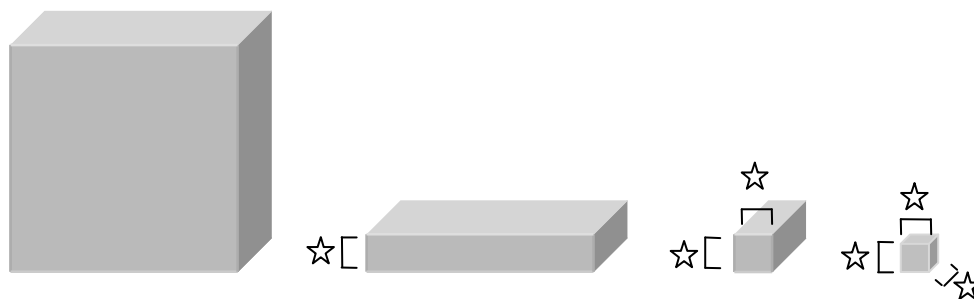
Využití magnetických sorbentů v aplikované enzymologii umožňuje selektivní separaci enzymu z heterogenních systémů. Výhodou je, že po proběhnutí enzymatické reakce lze modifikovaný biokatalyzátor pomocí magnetického pole snadno odstranit ze systému ^[15]. Rovněž může být cílový enzym izolován ze směsi, např. separace trypsinu pomocí karagenanu s imobilizovaným inhibitorem trypsinu ^[16].

Cenově dostupné a vhodným způsobem připravené magnetické sorbenty mohou najít rozsáhlé uplatnění i v ekologii, například při čištění odpadních vod, při různých dekontaminačních procesech, či stanovování pesticidů a jiných xenobiotik ve vodách a v půdě. Dále se jejich využití ověřovalo například pro selektivní odstranění těžkých kovů a některých radionuklidů, odbarvování odpadních vod z papírenského průmyslu, zachycení rozlitých ropných produktů z kontaminovaných vod a odstraňování některých organických kontaminant ^[17]. Také bylo zjištěno, že pomocí magnetických derivátů ftalocyaninu mědi lze selektivně adsorbovat a následně odstranit organické sloučeniny, které mají planární strukturu, a to polyaromatické uhlovodíky se třemi a více kondenzovanými aromatickými kruhy ^[7,18] nebo trifenylmethanová barviva ^[19]. Aromatické sloučeniny jsou často mutagenní a karcinogenní, tudíž je jejich selektivní adsorpce užitečná pro odstranění této skupiny chemikálií z kontaminovaných vzorků ^[19].

Jak je vidět, využití magnetických separací je velmi široké a s velkou pravděpodobností se budou možnosti jejich aplikací stále rozrůstat. Protože jsou ale komerční magnetické nosiče a sorbenty poměrně drahé, jsou tyto techniky dosud omezeny na laboratorní měřítko. Lze však předpokládat, že v budoucnu budou rozšířené v mnohem větší míře než dosud, neboť se jedná o efektivní a velmi perspektivní metody ^[1]. Je tedy žádoucí připravit magnetické sorbenty levnými a jednoduchými metodami při zachování optimálních vlastností těchto sorbentů, aby mohly konkurovat komerčním nosičům, a to především vysokou mírou sorpce pro cílové sloučeniny

2. Oxidy železa

Oxidy železa můžeme rozdělit do dvou velkých skupin, a to na oxid železitý (Fe_2O_3) a na oxid železnato-železitý (Fe_3O_4). Vyskytují se buď ve formách objemového materiálu, či ve formě nanočástic. Nanomateriály chápeme jako prostorové objekty, které jsou omezeny v jedné nebo více dimenzích, jsou obklopené nebo vyplněné hmotou a mají nové unikátní vlastnosti, které se u jejich objemového protějšku nevyskytují. Jde o struktury, které mají alespoň jeden rozměr menší než 100 nm. Podle toho, v kolika dimenzích jsou omezeny (tzn. mají menší rozměr než 100 nm), rozlišujeme různé struktury: omezení v jedné dimenzi, tudíž 2D objekt, představuje kvantový film nebo kvantová jáma, omezení ve dvou dimenzích (1D objekt) představuje kvantový drát a v případě struktury omezené ve všech třech dimenzích (0D objekt) mluvíme o kvantové tečce. Tyto struktury jsou schematicky znázorněny na obrázku 1.



Obr. 1: Formy materiálů (zleva: objemový materiál, dále nanočásticové materiály: kvantový film/jáma, kvantový drát, kvantová tečka), ☆ představuje de Broglieho vlnovou délku $\lambda = h/(mv)$

Při porovnání s objemovým materiálem vykazují nanočásticové oxidy železa zcela odlišné magnetické, optické, sorpční, katalytické a jiné vlastnosti, díky kterým získaly přední místo v oblasti nanotechnologií ^[20].

Fe_2O_3 se může vyskytovat buď v krystalické, nebo amorfnní formě. U krystalického Fe_2O_3 rozlišujeme 4 strukturní modifikace: $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

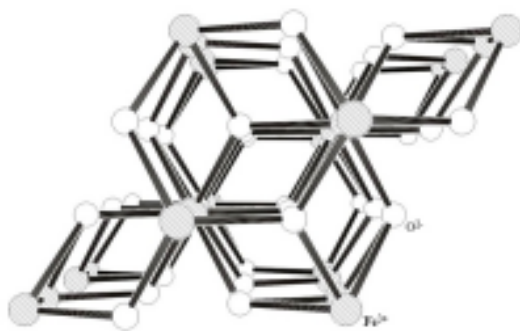
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ představuje spolu s $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ jednu z nejčastějších modifikací oxidů železa. V přírodě je nalezneme v podobě minerálů, a to jak ve formě nanočástic, tak i v objemové podobě.

$\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ patří spolu s $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a amorfnním Fe_2O_3 mezi vzácné formy, které v přírodě (až na výjimky) nenalezneme, vyskytují se pouze ve formě nanočástic. Čisté jsou těžce připravitelné a jsou teplotně nestabilní [21].

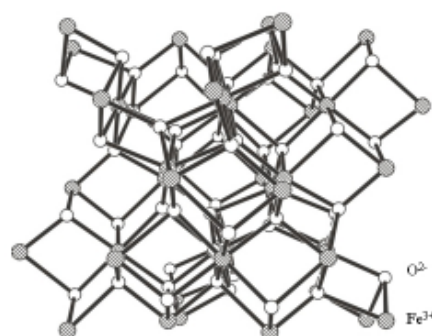
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ známý jako hematit vykazuje dva odlišné magnetické stavy. Při pokojové teplotě je slabě feromagnetický, při Morinově teplotě $T_M = 265$ K přechází do antiferomagnetického stavu. Při teplotě nad hodnotou Néelovy teploty $T_N = 960$ K dochází ke zrušení magnetického uspořádání a látka se chová jako paramagnetikum [22].

Hematit se využívá například v katalýze, mineralogii, biologii a své uplatnění si našel i jako senzor vlhkosti. Použití hematitu je limitováno důsledkem malého magnetického momentu [21].

$\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ je při pokojové teplotě paramagnetický, v oblasti pod Néelovou teplotou (100 až 120 K) je antiferomagnetický. Při teplotách nad 500°C přechází na $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. V současnosti tato fáze nemá praktické využití [22].



Obr. 2: Struktura $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$
v rovině 001 [22]



Obr. 3: Struktura $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$
v rovině 110 [22]

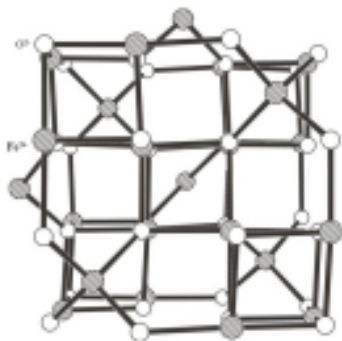
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ lze nalézt v přírodě, a to ve formě minerálu maghemitu, který má inverzní spinelovou kubickou strukturu s vakancemi a kationty železa umístěnými v tetraedrických a oktaedrických pozicích. Díky spinelové struktuře se dvěma podmřížkami je typickým představitelem ferimagnetických látek. Velká saturační magnetizace způsobuje, že je maghemit silně magnetický. Je kolineárním feromagnetickým materiálem s nevykompenzovaným antiparalelním uspořádáním magnetických momentů v oktaedrických a tetraedrických pozicích. Jednodoméno-
vost se vyskytuje u částic menších než 166 nm, s dalším poklesem velikosti se také výrazně projevuje unikátní jev zvaný superparamagnetismus. Maghemit je termicky nestabilní a při vyšších teplotách se transformuje na hematit ^[21].

Maghemit lze syntetizovat v různých formách (izolované nanočástice, prášky, nanokompozity), a to fyzikálními i chemickými metodami. Výhodnou metodou přípravy nanočástic ve velkém množství je teplotní dekompozice železo-obsahujících materiálů v pevné fázi. Dalšími metodami jsou laserová pyrolýza, koprecipitační metoda, elektrochemická metoda, sol-gel syntéza, sonochemická procedura, depozice filmů, sprejová pyrolýza či metoda využívající mikrovlnnou plazmu ^[22].

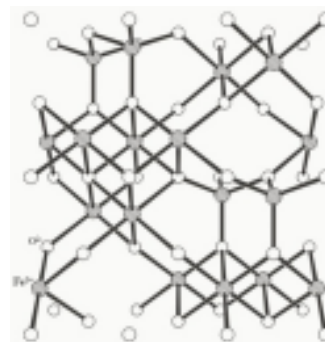
Díky vhodné kombinaci magnetických a povrchových vlastností našel maghemit velmi široké uplatnění, a to například ve formě záznamových a informačních médií, magnetických tekutin, antikoročních ochranných barev, plynových senzorů, magnetooptických zařízení nebo pro účely magnetokalorického chlazení. Významnou úlohu hraje i v bioaplikacích díky svým biokompatibilním a biodegradabilním vlastnostem. Ve zdravotnictví se využívá jako kontrastní látka pro MRI, při kontrolovaném transportu léčiv či při hypertermii (magneticky indukované nádorové léčbě). V neposlední řadě se využívá v biochemii jako magnetický nosič pro imobilizaci a purifikaci enzymů, proteinů či jiných biologicky aktivních látek ^[22].

Za nejmladší ze strukturních forem lze považovat $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ^[22]. Vzniká přeměnou $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\beta\text{-FeOOH}$ či Fe_3O_4 . Je ovšem velmi nestabilní, při 700–1300 K přechází na $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a při transformaci dochází ke změně velikosti částic. Při 300 K má vysokou hodnotu koercitivity (ta je dána velkou magnetokrytalovou anizotropií a jednodoméno-
vostí částic), což je důvod, proč je tato forma intenzivně studována. Zatím je tato forma bez využití, ale v budoucnu, kdy se předpokládá dosažení její

teplotní stability, se uvažuje o jejím využití jakožto magnetického záznamového média nové generace ^[21].



Obr. 4: Struktura $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$
v rovině 100 ^[22]



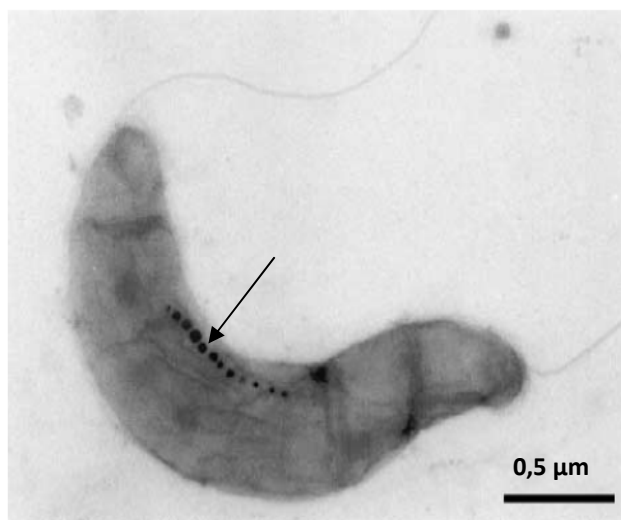
Obr. 5: Struktura $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$
v rovině 100 ^[22]

Amorfní Fe_2O_3 je tvořen velmi malými částicemi, lze je připravit povrchovou oxidací monovrstvy $\text{Fe}(\text{CO})_5$ adsorbované na grafitu nebo třístupňovou mikroemulzní technikou s finální kalcinací vysráženého $\text{Fe}(\text{OH})_3$ při 250 °C ^[23]. Data z měření magnetické susceptibility a Mössbauerovy spektroskopie ukazují, že vykazuje nízkou hodnotu magnetického momentu (ta je připisována tvorbě klastrů) a že je při teplotách nad $T_N = 80$ K superparamagnetický. Při studiu nanočástic Fe_2O_3 s velikostmi pod 10 nm je velkým problémem odlišení amorfní formy od $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, resp. $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ^[20].

Fe_3O_4 neboli magnetit je historicky nejznámější strukturní forma oxidu železa. V přírodě jej nalezneme ve formě černého minerálu, který obsahuje jak ionty Fe^{2+} , tak i Fe^{3+} ^[22]. Ve většině případů je to právě magnetit, který má za následek magnetické vlastnosti hornin a skal. Dále bylo zjištěno, že se vyskytuje i v živých organismech – nejen v mikroorganismech, ale i u vyšších organismů, jako jsou např. včely, mravenci, lososové, kteří se díky němu pravděpodobně orientují podél směru magnetického pole Země ^[24-26].

Magnetit vykazuje inverzní spinelovou strukturu a při pokojové teplotě je ferimagnetický. Nanočástice menší než 10–30 nm vykazují superparamagnetické chování.

Magnetit lze dobře připravit například koprecipitací. Dalším zajímavým způsobem získávání magnetitu ve formě tzv. magnetosomů je jeho produkce magnetotaktickými bakteriemi (viz obr. 6) ^[22].



Obr. 6: Magnetotaktická bakterie, šipka znázorňuje magnetosom tvořený uvnitř bakterie ^[22]

3. Barviva

Pro studium modifikace magnetických nanočástic připravených různým způsobem byl využit ftalocyanin mědi (ve formě reaktivního textilního barviva), který vykazuje specifickou interakci s planárními organickými molekulami, z nichž mnohé mají karcinogenní vlastnosti. Jako modelové planární sloučeniny pro studium vzájemné interakce byla použita heteropolyaromatická a trifenylmethanová barviva, kontrolní skupinou barviv bez planární struktury byla diazo barviva. Obě skupiny použitých barviv dobře napodobují mnohem nebezpečnější planární molekuly polycyklických aromátů. Velkou výhodou těchto barviv je, že se jejich koncentrace dají snadno stanovit fotometricky.

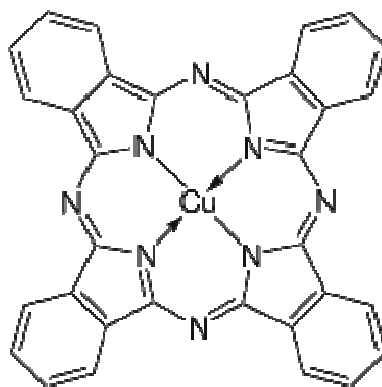
3.1. Ftalocyanin mědi

Již v roce 1907 byla popsána neidentifikovaná modrá sloučenina, kterou nyní známe pod názvem ftalocyanin. Později, v roce 1927, se švýcarští vědci pokoušeli o přeměnu o-dibromobenzenu na ftalonitril, avšak zaznamenali, že místo ftalonitrilu syntetizovali ftalocyanin mědi a jiné složky. Obecně ftalocyaniny jsou intenzivně barvicí makrocyclické sloučeniny, které se běžně používají jako barviva. Jde o barviva mimořádně stálá, vyskytující se v modrých a zelených barevných odstínech, které mají několik neobvyklých vlastností. Samotný ftalocyanin i jeho deriváty jsou prakticky ve všech rozpouštědlech málo rozpustné. Dále ftalocyaniny silně absorbují světlo v červené oblasti optického spektra, a proto mají svoji charakteristickou modrou nebo zelenou barvu. Tyto sloučeniny mají strukturu podobnou ostatním makrocyclickým pigmentům (zejména porfyrinům) a tvoří koordinační komplexy s většinou prvků periodické tabulky. Asi 25 % všech umělých organických pigmentů jsou deriváty ftalocyaninu. Kovové ftalocyaniny byly zkoumány jako katalyzátory pro redoxní reakce a sloučeniny ftalocyaninu pro využití v molekulární elektronice (FET tranzistor). Ftalocyanin mědi má široké uplatnění při barvení v textilním a papírenském průmyslu ^[27].

Ftalocyaniny mají planární strukturu a ve volném stavu i po imobilizaci na pevné nosiče specificky reagují s řadou planárních organických molekul. Příkladem mohou být polycyklické aromatické uhlovodíky s alespoň třemi kondenzovanými aromatickými

kruhy ^[28], heteropolycyklická organická barviva ^[7], trifenylmethanová barviva ^[19] nebo tricyklické antidepresanty ^[29]. Tato skutečnost umožňuje vyvinout afinitní adsorbenty pro selektivní zachycení významných xenobiotik nebo biologicky aktivních látek.

Vzhledem k tomu, že je ftalocyanin mědi základní částí některých reaktivních textilních barviv (v ČR dostupné jako Ostazinový tyrkys VG), je možné jej poměrně snadno imobilizovat na nosiče nesoucí hydroxylové skupiny a aminoskupiny.



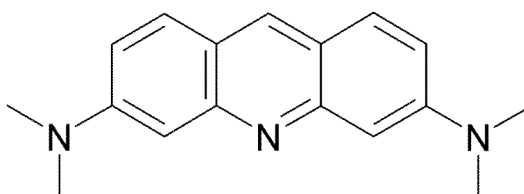
Obr. 7: Strukturní vzorec ftalocyaninu mědi ^[30]

3.2. Heteropolyaromatická barviva

První skupinu barviv použitých v této diplomové práci představují heteropolyaromatická barviva, u kterých by se měla projevit dobrá sorpční schopnost na studované magnetické materiály s imobilizovaným ftalocyaninem mědi. Zástupci této skupiny jsou například akridinová oranž či safranin.

3.2.1. Akridinová oranž

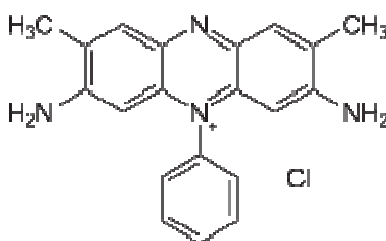
Jedná se o barvivo z akridinové skupiny, které je užitečné pro stanovení cyklu buněk. Hlavní využití akridinové oranže je pro značení rostlinné tkáně ve formě fluorochromu, ovšem důležitější aplikací je značení nádorové tkáně, které má za následek zpomalení růstu nádoru *in vitro* ^[31].



Obr. 8: Strukturální vzorec akridinové oranže ^[31]

3.2.2. Safranin

Safranin patří mezi heteroaromatická – safraninová barviva. Využívá se pro biologické značení v cytologii a v histologii, kde se používá se jako kontrastní barvivo v některých protokolech, barvicích všechna buněčná jádra červeně (safranin patří mezi nejdůležitější barviva, pomocí kterých se značí jádra). Rovněž je velmi cenné v botanice. V bakteriologii se využívá jako kontrastní barvivo při značení bakterií Gramovou metodou ^[31]. Také může být využit pro detekci chrupavky ^[32].



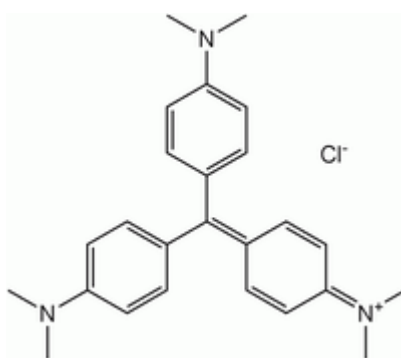
Obr. 9: Strukturální vzorec safraninu ^[31]

3.3. Trifenylmethanová barviva

Trifenylmethanová barviva představují druhou skupinu barviv, která vykazují specifickou interakci s ftalocyaninem mědi a která jsou použita v této práci. Mezi zástupce patří například krystalová violet' a malachitová zeleň.

3.3.1. Krystalová violet'

Nejcennější uplatnění má krystalová violet' pro biology při značení jader či chromatinu, má mnoho jak histologických, tak i cytologických aplikací. Využívá se pro barvení tkání, při značení krevních destiček a při klasifikaci bakterií Gramovou či Flemingovou metodou ^[31]. Je používána jako antimykotikum či k ničení střevních parazitů, u popálených obětí se používá proti infekci, u žen při léčbě dlouhotrvajících vaginálních kvasinkových infekcí. Své uplatnění má také ve veterinárním lékařství ^[33,34].



Obr. 10: Strukturální vzorec krystalové violeti ^[31]

3.3.2. Malachitová zeleň

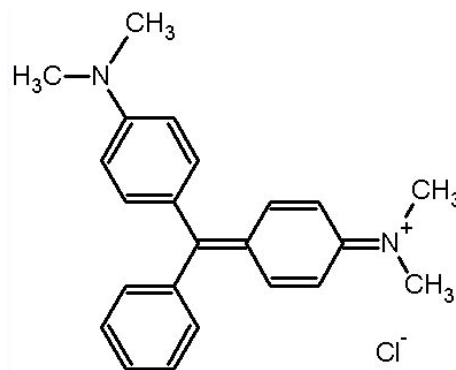
Malachitová zeleň je organická sloučenina, která se tradičně využívá jako barvivo pro materiály, jakými jsou například hedvábí, kůže a papír ^[35]. Navíc se široce využívala po celém světě v odvětví chovu ryb jako fungicid, dezinfekční prostředek a prostředek proti vnitřním parazitům ryb, protože působí proti oomycetě *Saprolegnia*, která infikuje rybí jikry v akvakultuře a také jako léčba proti *Ichthyophthirius* ve sladkovodních akváriích ^[36]. Ovšem bylo zjištěno, že v rybách léčených tímto barvivem byl nalezen metabolit leukomalachitová zeleň (LMG), který je potenciálním karcinogenem, tudíž

jeho přítomnost v rybách byla předmětem diskuzí a vládní regulace ^[37]. V roce 1992 bylo v Kanadě rozhodnuto, že jíst ryby kontaminované malachitovou zelení představuje významné zdravotní riziko, tudíž byla látka ve většině zemí zakázána ^[38].

Toto barvivo je vysoce cytotoxické pro buňky savců a také zvyšuje rizika rakoviny jater ^[37].

Dříve bylo toto barvivo využíváno pro histologické účely, například pro značení erytrocytů, dnes je nahrazeno jinými.

Malachitová zeleň slouží také jako pH indikátor. Prvním přechodem je změna barvy ze žluté na zelenou, kdy pod hodnotou pH 0,2 vykazuje žlutou barvu, nad hodnotou pH vyšší než 1,8 barvu zelenou. Druhý barevný přechod je z modrozelené (při pH nižším než 11,5) na bezbarvou (pH vyšší než 13,2) ^[31].



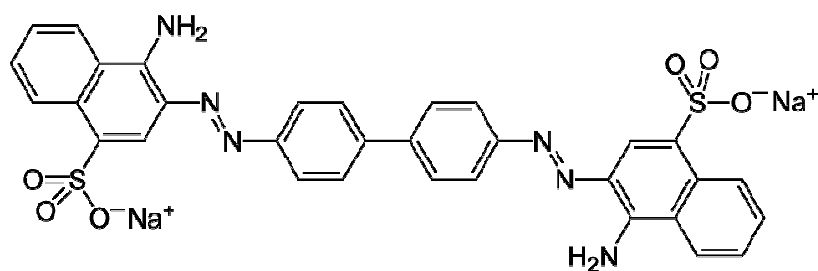
Obr. 11: Strukturální vzorec malachitové zeleně ^[31]

3.4. Diazo barviva

Kontrolní skupinu barviv, použitých v diplomové práci, představují diazo barviva. Zástupcem této skupiny je například barvivo kongo červeň. Pro barviva z této skupiny je typické, že nemají planární strukturu, díky čemuž by při následných magnetických separacích nemělo dojít k sorpci barviva na připravený materiál (magnetické částice s navázaným ftalocyaninem mědi). Tato skupina barviv byla pro tuto práci vybrána pro porovnání s ostatními skupinami, u kterých by měla být sorpce na materiál dobrá.

3.4.1. Kongo červeň

Kongo červeň patří mezi barviva, která lze díky svému chování (změně barvy při změně pH) použít jako pH indikátor. Při pH nižším jak 3,0 vykazuje barvu modrou, při zvýšení pH nad 5,0 ji mění na červenou. Další využití tohoto barviva je v biochemii a histologii, kde se používá pro značení mikroskopických preparátů, zejména cytoplazmy a erytrocytů. Také se využívá pro kontrastní značení hematoxylinu, pro negativní značení bakterií a spirochet, nejširší využití je však v patologii pro specifické značení amyloidu ^[31].



Obr. 12: Strukturní vzorec kongo červeň ^[31]

4. Experimentální techniky

Laboratorní pec

Syntéza nanočástic termicky indukovanou reakcí v pevné fázi probíhala v laboratorní muflové peci LM 212,11 (VEB Elektro Bad Frankenhausen) s pracovním rozsahem 25 až 1200 °C.

BET (měření specifické plochy povrchu)

Pro změření specifické plochy povrchu byl použit přístroj BET Sorptomatic 1990 (Thermofinnigan), pomocí kterého byla získána BET izoterma.

Výpočet specifické plochy povrchu byl stanoven metodou BET 3.

TEM (transmisní elektronová mikroskopie)

Pro určení velikosti a morfologických charakteristik připravených nanočástic byla využita metoda transmisní elektronové mikroskopie s použitím mikroskopu JEM2010 pracujícím při napětí 200 kV s bodovým rozlišením 1,9 Å.

SEM (skenovací elektronová mikroskopie)

Morfologie povrchu částic byla snímána na skenovacím elektronovém mikroskopu Hitachi SU6600, pracujícím s urychlovacím napětím v rozmezí 0,5–30 kV.

MS (Mössbauerova spektroskopie)

Transmisní Mössbauerova spektra oxidů železa byla měřena na Mössbauerově spektrometru a měření probíhalo v režimu konstantního zrychlení s použitím zářiče ^{57}Co při pokojové teplotě.

Pro nafitování získaných spekter byl použit program Moss Winn 3.0i XP.

XRD (rentgenová difrakce)

Pro změření difrakčních spekter byl použit práškový difraktometr X'Pert PRO MPD (v Braggově-Brentanově uspořádání) od firmy PANalytical, který je vybaven kobaltovým K_{α} zářičem a vysokorychlostním pevnolátkovým detektorem X'Celerator. Měření probíhalo v rozmezí úhlu 2θ od 5° do 120° po dobu 3 hodin.

Pro vyhodnocení změřených spekter byl použit program X'Pert High Score Plus s databází PDF-4.

XRF (rentgenová fluorescence)

Prvkové zastoupení bylo měřeno pomocí přístroje X-Ray Fluorescence od firmy Bruker vybaveného dvěma detektory (plynový proporcionální a scintilační), které jsou ve vlnově disperzním uspořádání.

Vyhodnocení probíhalo s použitím programu Spectra Plus.

UV-VIS spektrometr

Koncentrace studovaných barviv byla stanovena na přístroji 1200 RS Spectrophotometer a adsorpční spektra byla měřena na spektrometru CINTRA 20 (UV-Visible Spectrometer) na ÚSBE AVČR v Českých Budějovicích.

5. Experimentální část

5.1. Příprava oxidů železa

5.1.1. OC 78 (maghemit)

Jako prekurzor pro syntézu nanočástic byl použit octan železnatý $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Fe}$ od firmy Sigma Aldrich. Navážka činila 1 g. Vzorek byl vytvořen nanosením tenké vrstvy na keramickou misku a následně byl vložen do laboratorní pece. Syntéza byla provedena termicky indukovanou reakcí v pevné fázi ^[20] při teplotě 360 °C a probíhala po dobu 1 hodiny.

5.1.2. KR 2 (magnetit)

Vzorek magnetitu byl připraven v Českých Budějovicích srážecí metodou (koprecipitací) ^[39]. Pro přípravu byly použity 2 g tetrahydrátu chloridu železnatého ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) v 5 ml 2M HCl a 5,4 g hexahydrátu chloridu železitého ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve 20 ml 2M HCl a 25 ml hydroxidu amonného (NH_4OH) v 500 ml vody. Po smíchání 1 ml roztoku FeCl_2 a 4 ml roztoku FeCl_3 bylo přikapáno 50 ml roztoku NH_4OH . Tento roztok se nechal 5–10 minut stát a poté byl promyt vodou za přítomnosti externího magnetu.



*Obr. 13: Nanočástice oxidů železa v práškové formě
(vlevo: magnetit, vpravo: maghemit)*

5.2. Úprava povrchu připravených materiálů (silanizace)

5.2.1. Silanizace OC 78

Vzorek $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ o hmotnosti 1 g byl promýván destilovanou vodou a po důkladném promytí bylo k sedimentovanému maghemitu přidáno 20 ml 10% vodného roztoku 3-aminopropyltriethoxysilanu. Pro dosažení požadovaného pH 4,0 byla použita HCl. Takto připravená suspenze byla 4 hodiny míchána na vodní lázni při 80 °C. Silanizovaný maghemit byl nakonec důkladně promyt destilovanou vodou ^[40].

5.2.2. Silanizace KR 2

Vzorek magnetitu byl promyt vodou a posléze k němu bylo přidáno 3,2 ml 5% 3-aminopropyltriethoxysilanu. Vše bylo dobře promícháno a následně byla přidána HCl pro dosažení pH 4,0. Suspenze byla silanizována na vodní lázni po dobu 4 hodin při 75 °C. Silanizovaný magnetit byl promýván fosfátovým pufrům. Úprava probíhala na ÚSBE AVČR v Českých Budějovicích.

5.3. Navázání specifického ligandu (ftalocyanin mědi)

5.3.1. Navázání ftalocyaninu na OC 78

K suspenzi 5 g silanizovaného maghemitu ve 100 ml destilované vody byly přidány 2 g reaktivního Cu-ftalocyaninového barviva (Ostazinový tyrkys V-G) a 6 g NaCl. Suspenze byla zahřáta na 70 °C a po 15 minutách bylo přidáno 5 g bezvodého uhličitanu sodného. Dále byla suspenze míchána 4 hodiny při teplotě 70 °C a následně ponechána přes noc bez míchání při laboratorní teplotě. Nenavázané barvivo bylo důkladně vymýváno vodou s použitím plochého magnetického separátoru a nakonec extrahováno methanolem v Soxhletově aparatuře na olejové lázni ^[40].

5.3.2. Navázání ftalocyaninu na KR 2

K suspenzi 10 g silanizovaného maghemitu ve 200 ml destilované vody byly přidány 4 g reaktivního Cu-ftalocyaninového barviva (Ostazinový tyrkys V-G) a 12 g NaCl. Suspenze byla zahřáta na 70 °C a po 15 minutách bylo přidáno 10 g bezvodého uhličitanu sodného. Dále byla suspenze míchána 4 hodiny při teplotě 70 °C a následně ponechána přes noc bez míchání při laboratorní teplotě. Nenavázané barvivo bylo důkladně vymýváno vodou s použitím plochého magnetického separátoru a nakonec extrahováno methanolem v Soxhletově aparatuře na olejové lázni ^[40].

Navazování specifického ligandu probíhalo na ÚSBE AVČR v Českých Budějovicích.



Obr. 14: Soxhletova aparatura pro vymytí nenavázaného Cu-ftalocyaninového barviva

5.4. Příprava vzorků pro měření adsorpčních izoterem

Pro změření adsorpčních izoterem byly připraveny suspenze výše zmíněných magnetických sorbentů (maghemit OC 78, magnetit KR 2) a roztoky testovaných analytů (vybraná barviva). Bylo použito 5 barviv, která zastupovala různé skupiny. Zástupci heteropolyaromatických barviv byly safranin a akridinová oranž, trifenylmethanová barviva představovaly barvy malachitová zeleň a krystalová violet a diazo-barviva zastupovala kongo červeně.



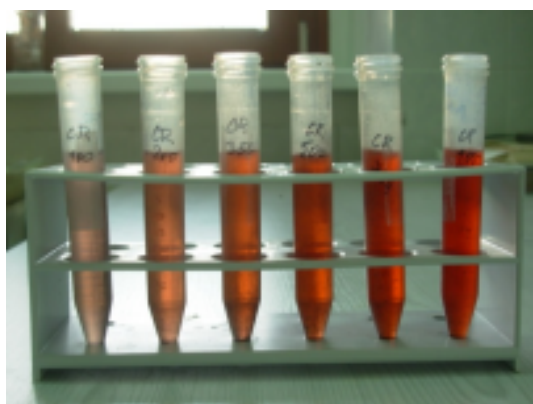
Obr. 15: Příklady zásobních roztoků barviv

Připravené sorbenty s navázaným ftalocyaninem mědi byly zředěny v magnetickou suspenzi v poměru 1:4 (1 díl sedimentovaného sorbentu, 3 díly vody). Suspenze byla rozmíchána a jednotlivé alikvoty byly pipetovány do zkumavek.

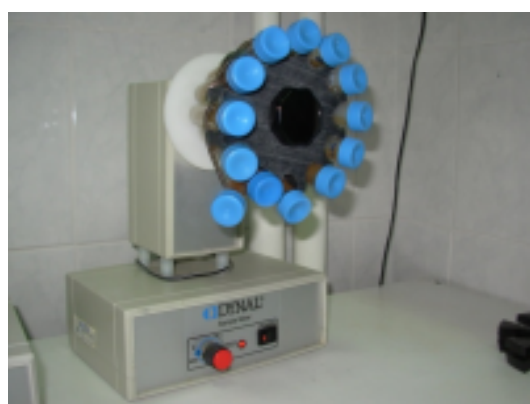
Pro každé barvivo bylo vždy připraveno 6 zkumavek o různé koncentraci barviva, ve kterých bylo dále 200 μ l suspenze magnetických částic a voda tak, aby všechny zkumavky obsahovaly 10 ml roztoku. Další zkumavka (sedmá) byl slepý pokus, tzn. bez barviva, pouze voda a suspenze magnetických částic. Roztoky byly připraveny dle následující tabulky 1.

Tabulka 1: Příprava roztoků do zkumavek

množství barviva D [μ l] (zásobního roztoku o koncentraci 1 mg/ml)	množství vody [ml]	množství suspenze [μ l]
0	9,80	200
100	9,70	200
200	9,60	200
350	9,45	200
500	9,30	200
750	9,05	200
1000	8,80	200



Obr. 16: Připravené zkumavky o různých koncentracích barviva



Obr. 17: Dynal Sample Mixer

Takto připravené roztoky v příslušných zkumavkách byly vloženy do Dynal Sample Mixeru, kde byly po dobu 1,5 hodiny promíchávány. Poté byly vloženy do magnetického stojánku a roztok bez magnetických částic byl odebírán pipetou a pomocí UV-VIS spektrometru 1200 RS byla při deklarované vlnové délce měřena absorbance roztoku.

Nastavované vlnové délky pro změření absorbance byly pro barvivo kongo červeň 564 nm, pro safranin 421 nm, akridinovou oranž 400 nm, malachitovou zeleň 512 nm a pro krystalovou violet 456 nm. Tyto vlnové délky neodpovídají absorpčním maximům pro daná barviva, ale vzhledem k širokému rozsahu koncentrací, které bylo nutno proměřit, byly vybrány vlnové délky mimo absorpční maximum.

K výpočtu maximální absorpční kapacity je zapotřebí získat hodnoty C_{eq} a q_{eq} .

$$C_{eq} = \frac{A}{k} \quad [\text{mg/l}] \quad (1)$$

Jde o hodnotu rovnovážné koncentrace analytu (koncentrace barviva, která se nenasorbovala na sorbent a zůstala v roztoku).

Pro její výpočet byla použita hodnota k z kalibrační křivky, příslušející danému barvivu a naměřená absorbance A roztoku. Hodnota k byla pro kongo červeň 0,0098, pro safranin 0,008, akridinovou oranž 0,0088, malachitovou zeleň 0,0085 a pro krystalovou violet 0,0066.

Z rovnice regrese: $y = kx + q$ (hodnota q je zanedbatelná), lze odvodit hodnotu C_{eq} jako:

$$A = kc \Rightarrow C_{eq} = \frac{A}{k}$$

$$q_{eq} = \frac{(D - 10C_{eq})}{\text{navážka}} \quad [\text{mg/g}] \quad (2)$$

Hodnota q_{eq} nám vypovídá o množství naadsorbovaného barviva na jednotkové množství adsorbentu po dosažení rovnováhy.

Hodnota D představuje celkové množství barviva, která bylo na počátku vneseno do roztoku (viz tabulka 1).

Navážka je množství sorbentu, které je přítomno v objemu 200 μl , který byl vnesen do zkumavek. Pro vzorek OC 78 byla tato navážka (množství připravené sušiny) 20 mg, pro vzorek KR 2 3,325 mg.

Z vypočítaných hodnot C_{eq} a q_{eq} je sestaven graf (osa x představuje hodnotu C_{eq} , osa y hodnotu q_{eq}). Získaná křivka odpovídá adsorpční izotermě.

Hodnoty maximální adsorpční kapacity Q_{max} byly získány z experimentálních dat s využitím Langmuirova výnosu a pomocí programu *Sigma Plot*.

Proces adsorpce je možno kvantifikovat pomocí různých modelů (adsorpčních izoterm). Na základě předběžných experimentů bylo prokázáno, že proces adsorpce testovaných barviv lze popsat Langmuirovou izotermou, kterou můžeme zapsat v následující podobě:

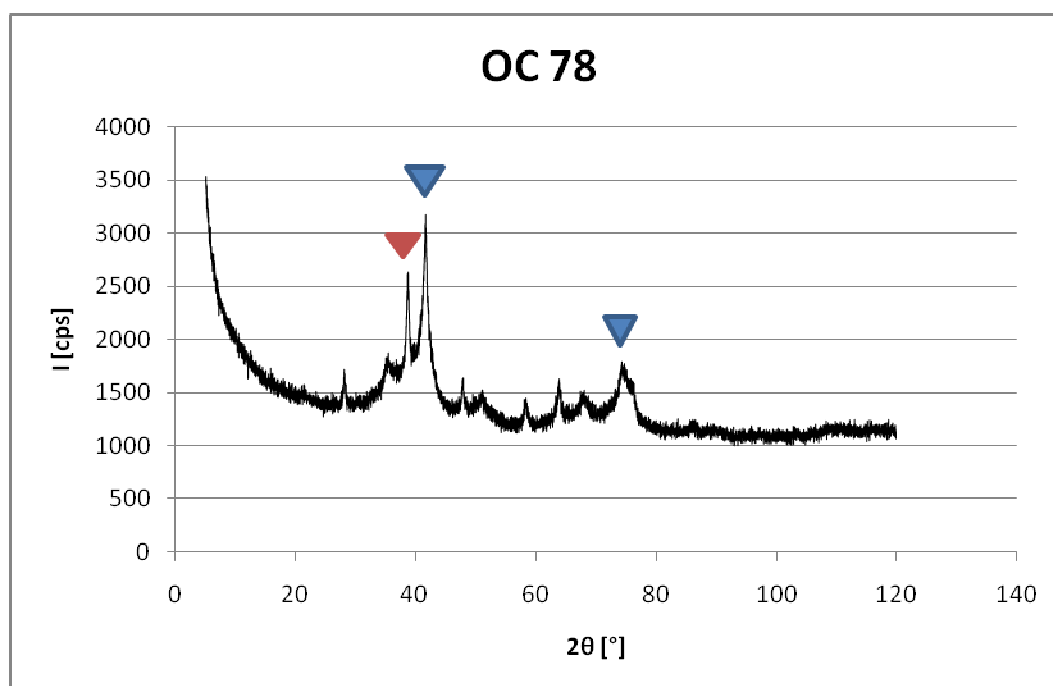
$$q_{\text{eq}} = \frac{Q_{\text{max}} b C_{\text{eq}}}{1 + b C_{\text{eq}}} \quad (3)$$

kde b představuje konstantu Langmuirovy izotermy a Q_{max} je maximální adsorpční kapacita [mg/g].

6. Výsledky a diskuze

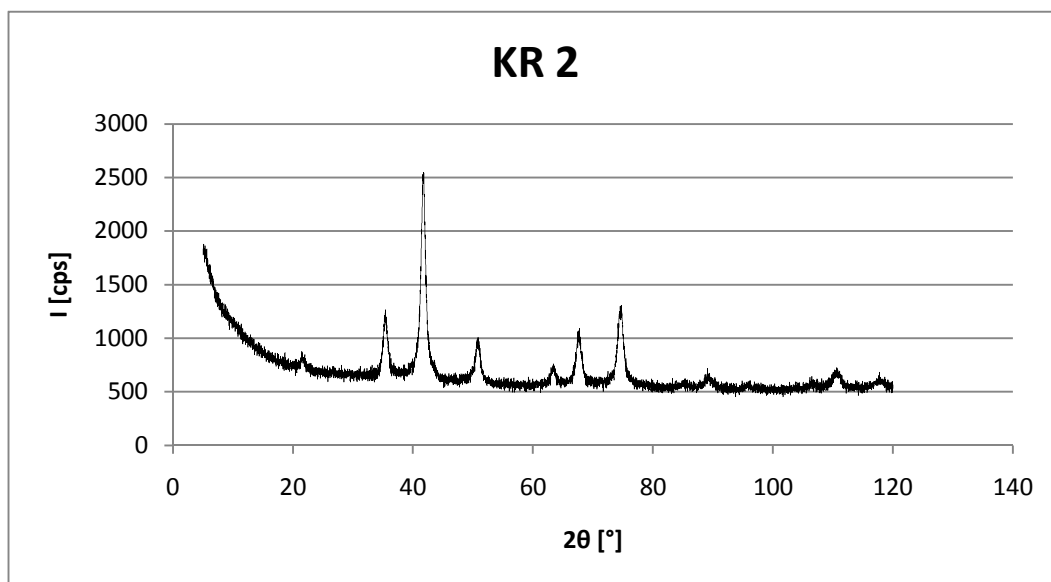
6.1. Strukturní a fázová charakterizace připravených nanočástic

Základní informace o struktuře připravených nanočástic byly získány z rentgenové práškové difrakce vyhodnocením poloh, intenzit a šířek difrakčních maxim. Vzorek OC 78 připravený v Olomouci termicky indukovanou reakcí v pevné fázi se skládá ze 2 krystalických fází: maghemitu a hematitu (viz obr. 18). Velikost koherentních domén byla stanovena z Debye-Scherrerovy metody a má hodnoty 7 nm pro maghemit a 23 nm pro hematit. Z difrakčního záznamu můžeme vidět, že jsou zde patrná maxima intenzit v okolí 40° a 75° . Na snímku jsou modře označeny polohy význačných linií typických pro maghemit, které připadají úhlům 40° (100) a 75° (35). Červeně je pak vyznačena typická význačná linie maximální intenzity pro hematit.



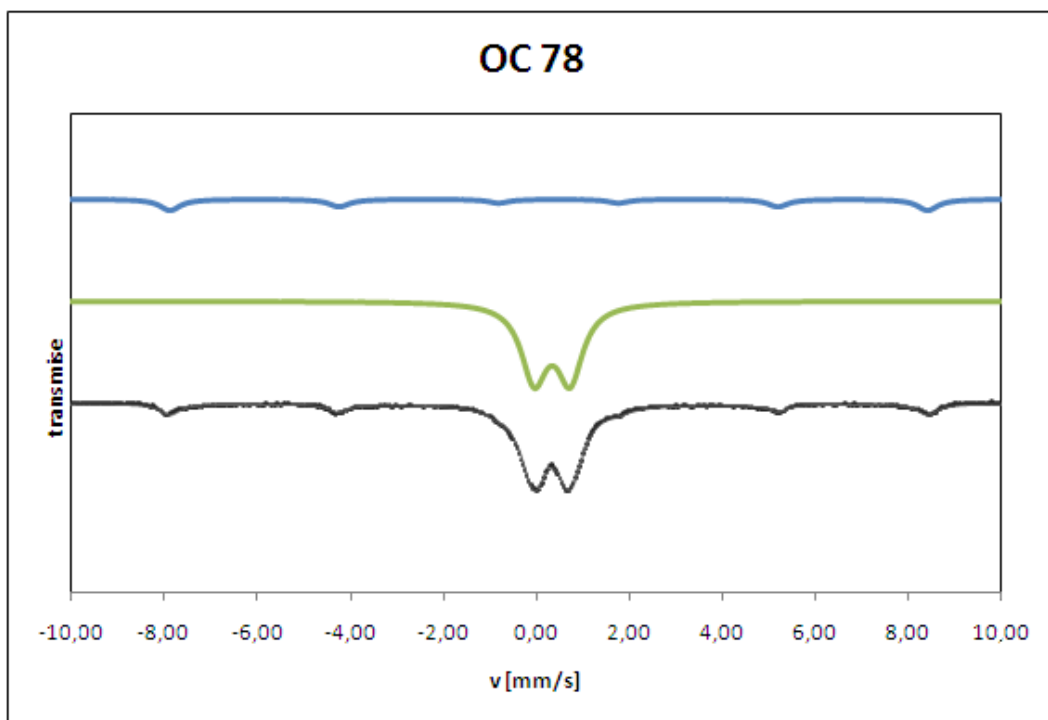
Obr. 18: Difrakční záznam vzorku OC 78 (modré značky odpovídají význačným liniím maghemitu, červená hematitu)

Difrakční záznam vzorku KR 2, připraveného v Českých Budějovicích srážecí metodou, vypovídá o tom, že se vzorek skládá z jedné krystalické fáze – magnetitu. Velikost koherentních domén má hodnotu 12 nm (viz obr. 19).



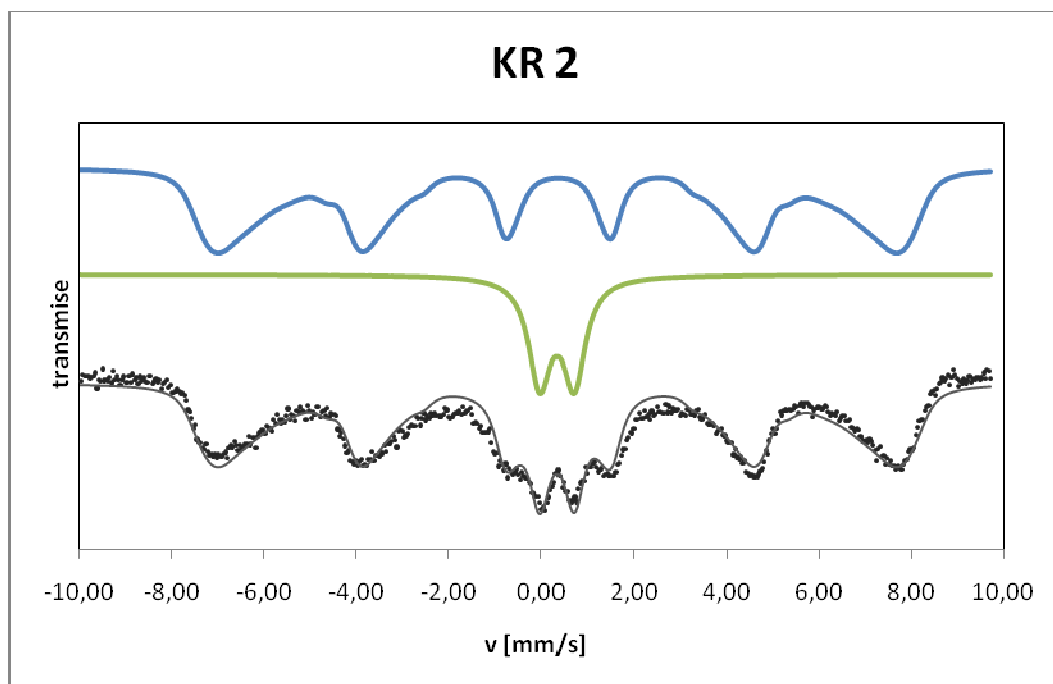
Obr. 19: Difrakční záznam vzorku KR 2

K potvrzení strukturní formy a zjištění magnetických vlastností připravených materiálů bylo realizováno měření mössbauerovského spektra při pokojové teplotě. Ze zaznamenaných minim Mössbauerovy spektroskopie (jejich množství, intenzit, poloh a tvarů) určíme parametry Mössbauerova spektra. Tyto parametry odrážejí hyperjemné interakce mezi jádry železa a okolními elektrony. Mezi nejvýznamnější parametry patří izomerní posuv δ , kvadrupólové štěpení ε_Q a magnetické štěpení B_{hf} . Obr. 20 ukazuje Mössbauerovo spektrum vzorku OC 78. Po nafitování bylo stanoveno, že vzorek obsahuje směs maghemitu (81,4 %) a hematitu (18,6 %), kdy dublet o parametrech $\delta = 0,33$ mm/s, $\varepsilon_Q = 0,77$ mm/s je přiřazen superparamagnetickým nanočásticím maghemitu a sextet ($\delta = 0,36$ mm/s, $\varepsilon_Q = -0,21$ mm/s, $B_{hf} = 50,72$ T) vypovídá o přítomnosti hematitu.



Obr. 20: Mössbauerovo spektrum vzorku OC 78 (černá barva odpovídá experimentálně naměřeným hodnotám, zelená představuje nafitovaný dublet a modrá nafitovaný sextet)

U vzorku KR 2 bylo potvrzeno, že obsahuje nanočástice magnetitu (79,5 %), kterému odpovídá sextet o parametrech $\delta = 0,36$ mm/s, $\varepsilon_Q = -0,02$ mm/s, $B_{hf} = 42,31$ T (viz obr. 21). Dublet s parametry: $\delta = 0,34$ mm/s a $\varepsilon_Q = 0,77$ mm/s je přiřazen superparamagnetickým ultrajemným částicím maghemitu. Sextet byl fitován pomocí distribuce hyperjemných polí.



Obr. 21: Mössbauerovo spektrum vzorku KR 2 (černá barva odpovídá experimentálně naměřeným hodnotám, zelená představuje naitovaný dublet a modrá naitovaný sextet)

Tabulka 2 shrnuje hyperjemné parametry obou vzorků.

Tabulka 2: Hyperjemné parametry Mössbauerovských spekter vzorků OC 78 a KR 2, kde δ je izomerní posuv, ε_Q představuje kvadrupólové štěpení, B_{hf} magnetické štěpení a RA je relativní zastoupení spektrální složky, SP maghemit je superparamagnetický maghemit

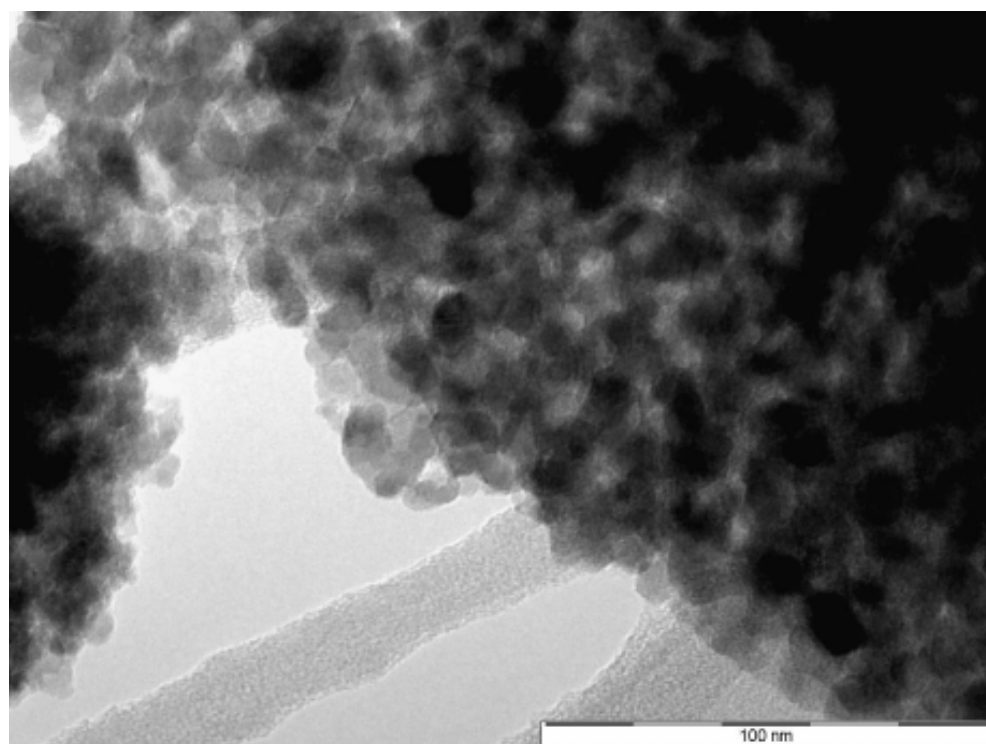
Vzorek	spektrální složka	spektrální δ [mm/s]	ε_Q [mm /s]	B_{hf} [T]	RA [%]	přiřazení
OC 78	dublet	0,33	0,77	–	81,4	SP maghemit
	sextet	0,36	-0,21	50,72	18,6	hematit
KR 2	dublet	0,34	0,77	–	20,5	SP maghemit
	sextet	0,36	-0,02	42,31	79,5	magnetit

Z výsledků strukturní a fázové charakterizace obou vzorků je patrné, že vzorek OC 78 obsahuje dvě strukturní fáze o rozdílných velikostech částic, a to maghemit v superparamagnetickém stavu a hematit, zatímco vzorek KR 2 se skládá ze superparamagnetického dubletu a krystalického magnetitu.

6.2. Velikostní a morfologická charakterizace

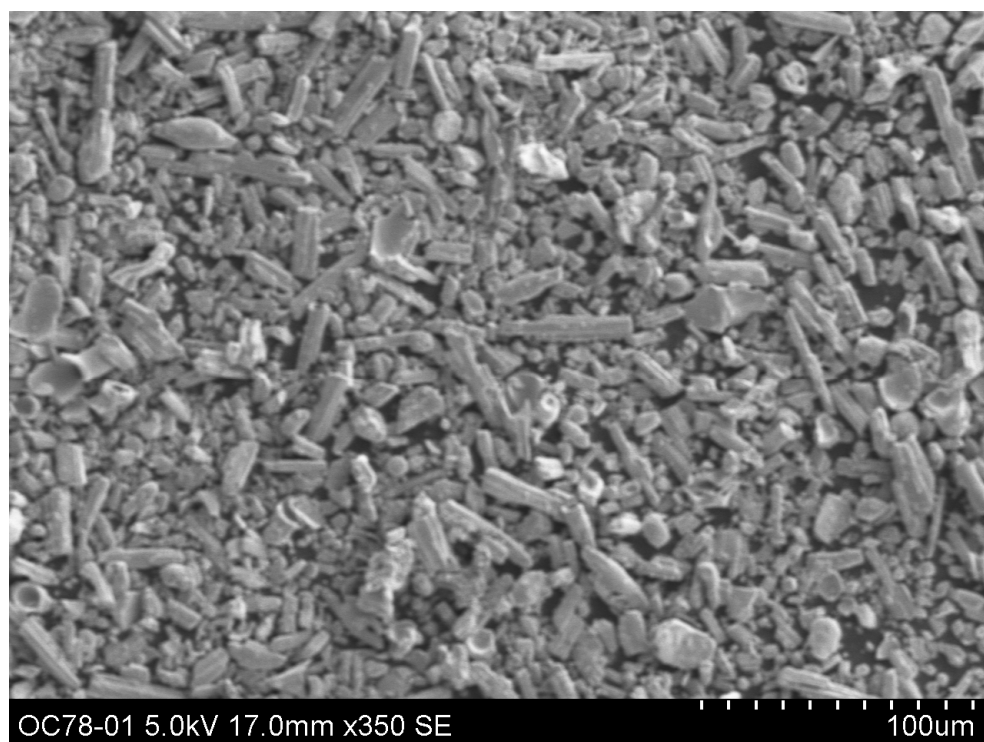
Pro posouzení velikosti, tvaru a morfologie připravených nanočástic byly vzorky měřeny na transmisním a skenovacím elektronovém mikroskopu.

Z TEM snímků vzorku OC 78 (viz obr. 22) je patrné, že se ve vzorku vyskytují nanočástice kulovitého tvaru o velikostech v rozmezí asi 6–20 nm, což odpovídá i výsledkům Debye-Scherrerovy metody z rentgenové difrakce.

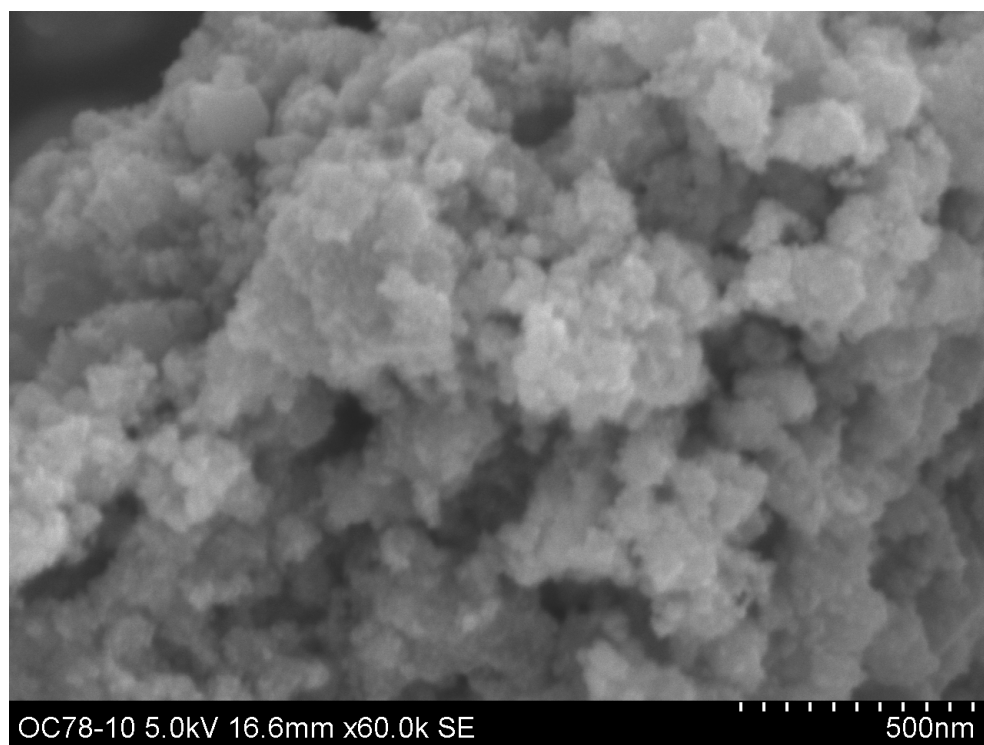


Obr. 22: TEM snímek vzorku OC78

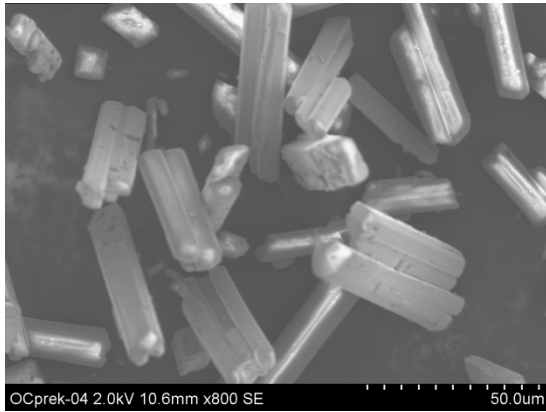
Snímky vzorku OC 78 ze SEM vypovídají o zastoupení klastrů (viz obr. 23), které jsou řádově v rozmezí desítek μm a na jejichž povrchu můžeme dobře pozorovat shluky nanočástic (viz obr. 24). Je patrné, že produkt si zachovává tvarové vlastnosti prekurzoru octanu železnatého (viz obr. 25 – nanočástice jsou uskupeny ve špalkovitých útvarech). Shluky nanočástic do klastrů podobných tvarů jako krystaly prekurzoru jsou zřejmé z TEM snímku vzorku OC 78 (viz obr. 26).



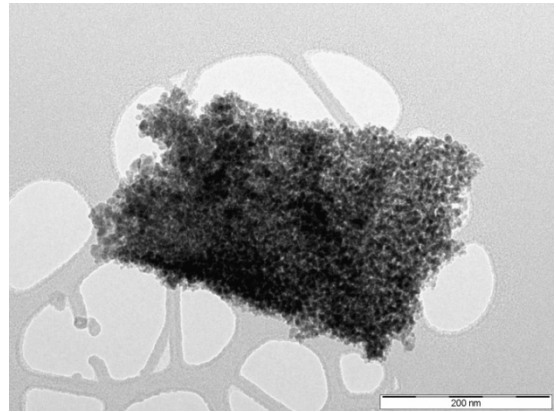
Obr. 23: SEM snímek vzorku OC 78



Obr. 24: SEM snímek, detail povrchu OC78

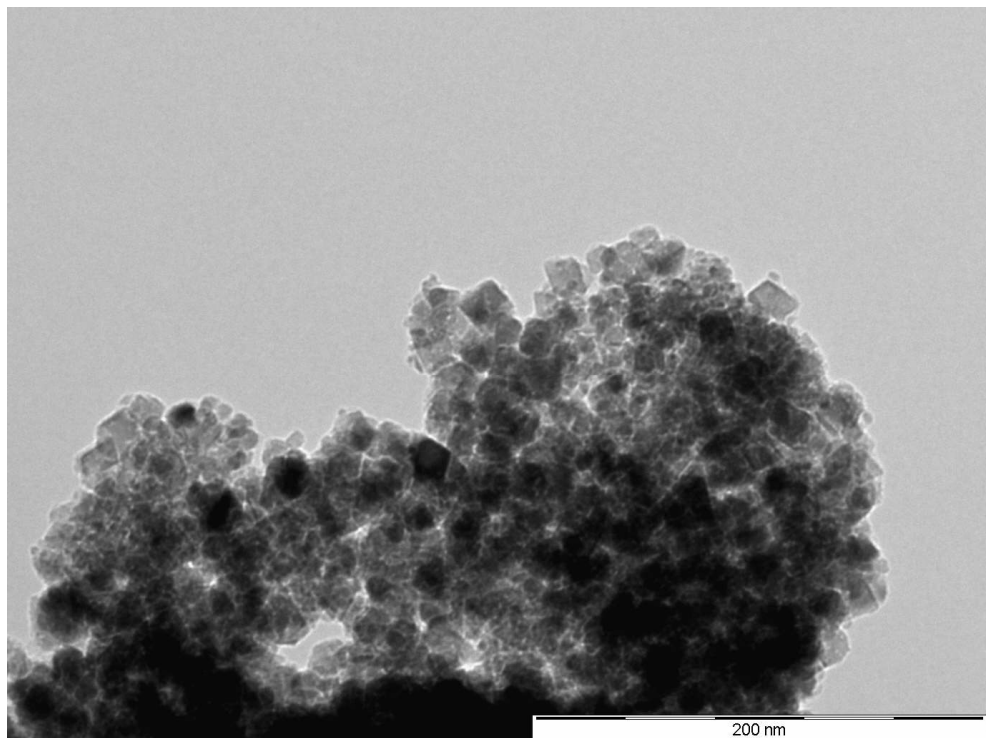


Obr. 25: SEM snímek prekurzoru octanu železnatého



Obr. 26: TEM snímek vzorku OC 78

TEM snímky vzorku KR 2 vypovídají o kubické struktuře nanočástic (viz obr. 27), jejichž velikost odpovídá zhruba 12 nm, což je v souladu s výsledky z rentgenové difrakce.

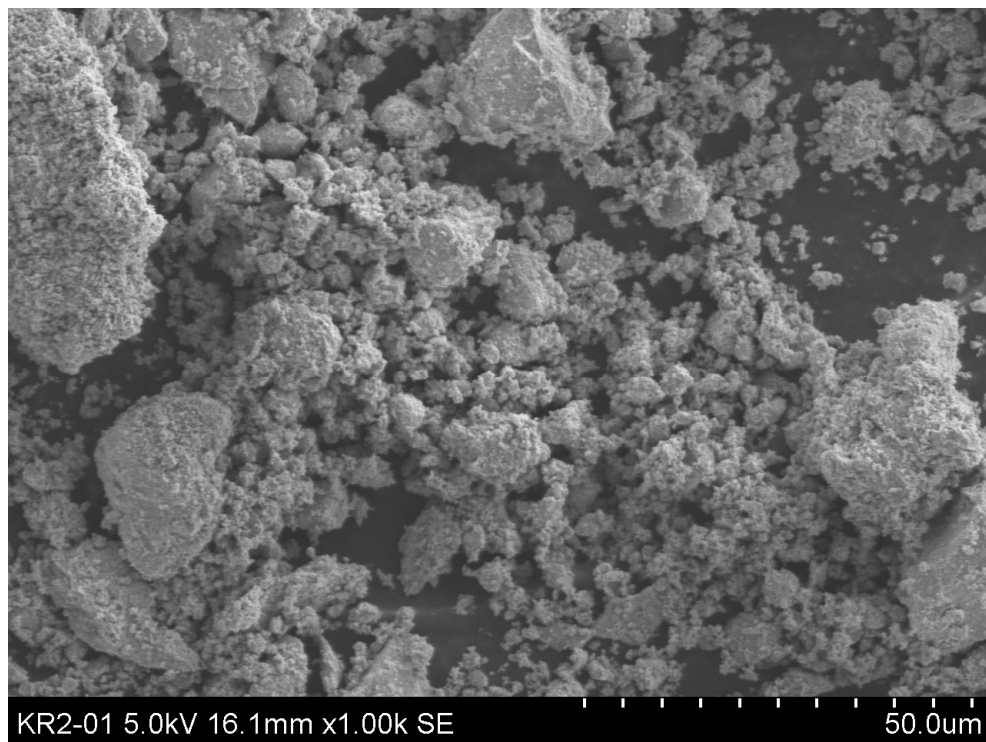


Obr. 27: TEM snímek vzorku KR 2

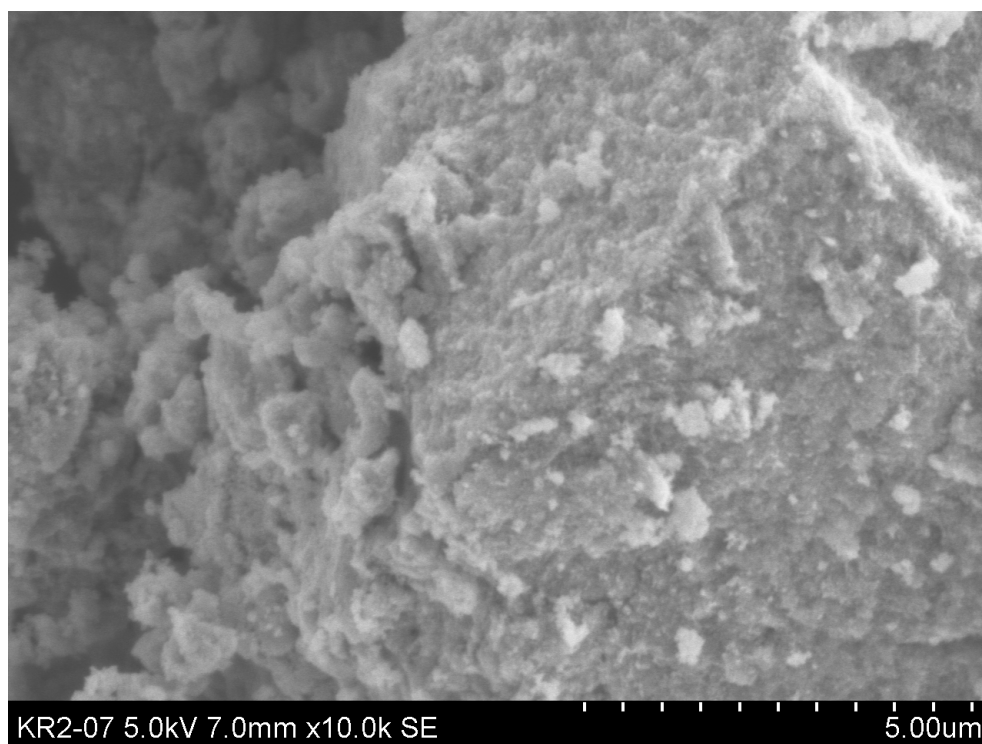
Ze SEM snímků vzorku KR 2 (viz obr. 28) je při porovnání s OC 78 patrné, že částice obou vzorků tvoří aglomeráty. Na obrázku 29 lze vidět, že povrch agregátu tvoří shluky nanočástic a tudíž celé agregáty jsou vyskládány z jednotlivých nanočástic.

Díky velké hloubce ostrosti obrazu v SEMu byl získán „pseudo“ 3D obraz, který potvrzuje informace získané z TEMu.

Výsledky z TEM a SEM mikroskopie jsou v souladu s výsledky z RTG difrakce a Mössbauerovy spektroskopie.



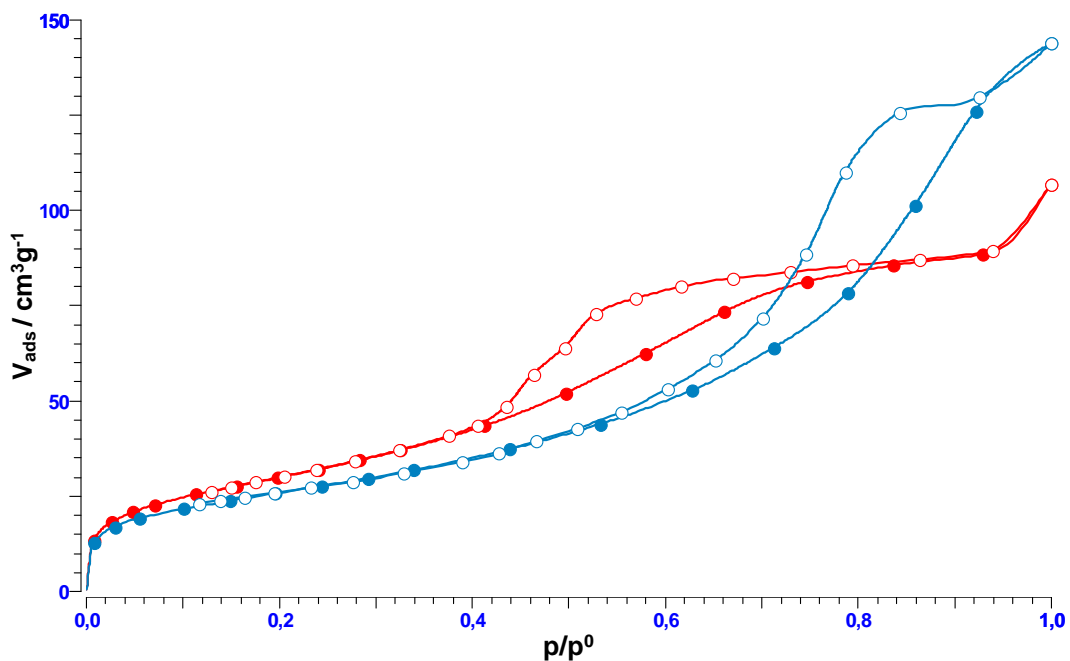
Obr. 28: SEM snímek vzorku KR 2



Obr. 29: SEM snímek vzorku KR 2, detail povrchu

Pro nepřímé stanovení velikosti částic práškových vzorků byl použit přístroj na měření specifické plochy povrchu BET, jehož princip vychází z Langmuirovy kvantitativní teorie adsorpce plynů na tuhých látkách. Lineární část změřené adsorpční křivky se využívá pro stanovení plochy povrchu zkoumaného materiálu. Jelikož však nebyl pro měření k dispozici výchozí vzorek KR 2, byly oba vzorky (OC 78 i KR 2) měřeny v modifikovaném stavu (viz obr. 30), to znamená po silanizaci a navázání ftalocyaninu mědi. Experimentálně stanovená plocha povrchu modifikovaného vzorku OC 78 je $103 \text{ m}^2/\text{g}$, což se téměř neliší od $93 \text{ m}^2/\text{g}$ u vzorku KR 2.

Je třeba vzít v potaz, že je důležitá nejenom celková plocha povrchu, ale důležitou roli hraje aktivní povrch, to znamená povrch částic, který je přístupný pro následnou modifikaci částic (silanizací a navázáním afinitního ligandu), a adsorpci cílových analytů.



Obr. 30: BET izoterma; červená: vzorek OC 78, modrá: vzorek KR 2

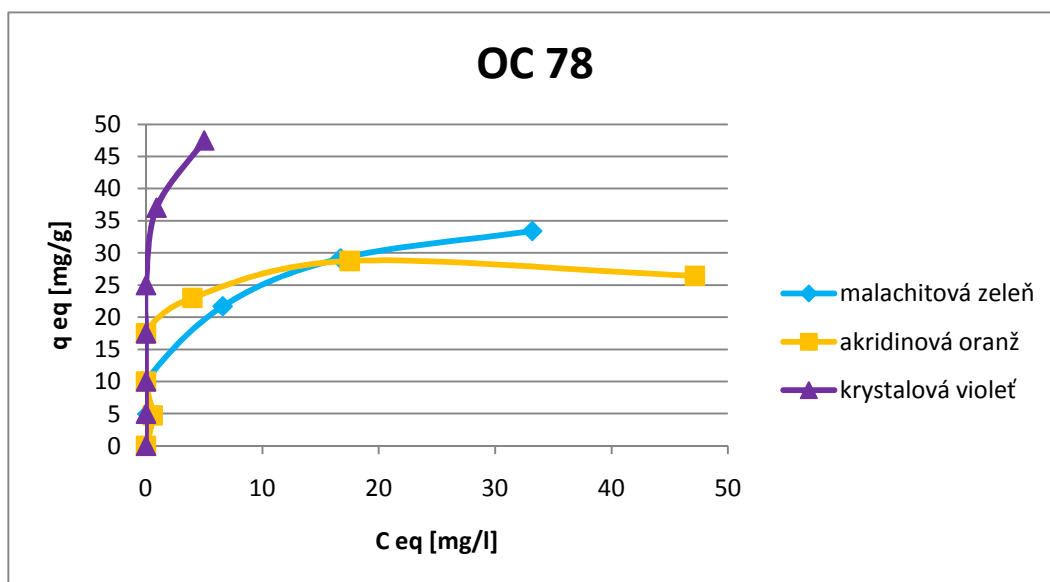
Z obrázku 30 je patrné, že oba vzorky mají podobnou plochu povrchu, což lze vyčíst zhruba z první poloviny jednotlivých křivek. Jejich druhá část ukazuje rozdílnost tvaru hysterezních smyček, která je způsobena rozdílnými distribucemi šířek pórů. Červená izoterma odpovídá vzorku OC 78, modrá vzorku KR 2.

6.3. Povrchová úprava připravených nanočástic a jejich sorpční vlastnosti

Silanizace povrchu nanoprášků byla provedena za účelem navázání aminoskupiny přítomné v silanizačním činidle. Tato aminoskupina ční do volného prostoru je přístupná pro následnou kovalentní vazbu ftalocyaninu mědi (ve formě reaktivního textilního barviva Ostazinový tyrkys VG), který je použit pro výslednou adsorpci barviv. Pomocí rentgenové fluorescence byla ověřena přítomnost křemíku po silanizaci a přítomnost mědi po reakci s imobilizovaným ftalocyaninem mědi u obou vzorků.

Koncentrace křemíku byla stanovena pro vzorek OC 78 0,94 %, pro KR 2 pouze 0,47 %. Koncentrace mědi činila u vzorku OC 78 0,44 % a u vzorku KR 2 0,35 %.

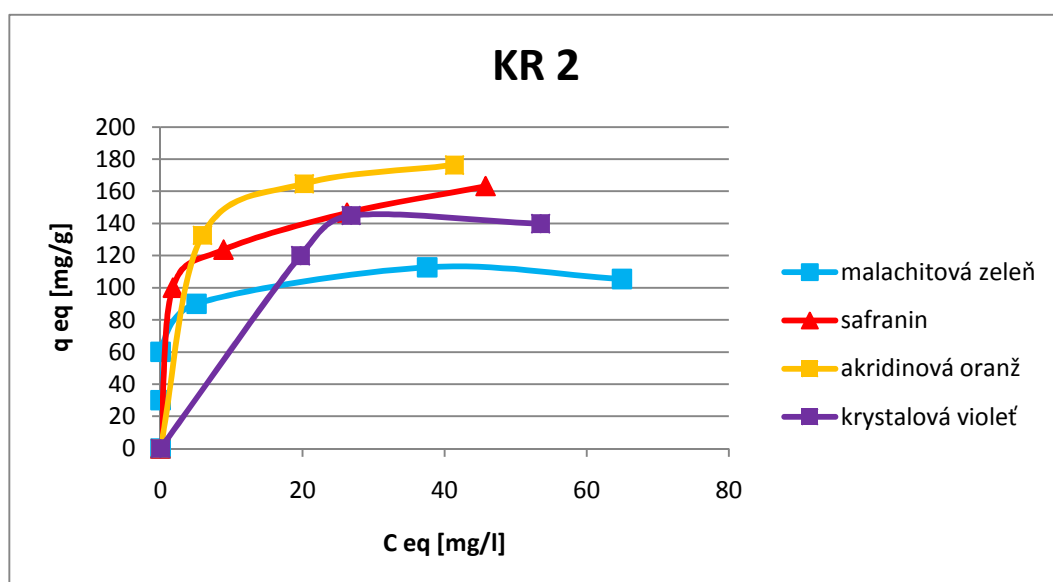
Pro porovnání sorpčních vlastností obou připravených nanoprášků bylo použito několik druhů barviv. Pro vzorek OC 78 byla použita barviva malachitová zeleň, akridinová oranž, krystalová violeť a kongo červeně (viz obr. 31). Maximální adsorpční kapacity pro tento sorbent se dle druhu barviva pohybovaly v rozmezí 29–50 mg/g. Nejvyšší sorpční schopnost vykazoval sorbent OC 78 pro barvivo krystalová violeť, naopak nejmenší adsorpční kapacitu pro barvivo akridinová oranž. Barvivo kongo červeně není v grafu zaznamenáno, neboť k jeho adsorpci na sorbent nedošlo, jak bude rozepsáno dále.



Obr. 31: Porovnání jednotlivých adsorpčních izoterm pro testovaná barviva u vzorku OC 78

Pro sorbent KR 2 byla použita barviva malachitová zeleň, akridinová oranž, krystalová violeť, kongo červeň a safranin, u kterých se maximální adsorpční kapacity pohybovaly v rozmezí 110–180 mg/g (viz obr. 32). Nejnižší sorpční schopnosti vykazuje vzorek KR 2 pro trifenylmethanová barviva (malachitová zeleň a krystalová violeť), nejvyšší adsorpční kapacity vykazuje vzorek pro heteropolyaromatická barviva ze safraninové a akridinové skupiny (safranin a akridinová oranž). Kongo červeň zastupuje skupinu diazo barviv, u které k specifické adsorpci nedošlo, protože jejich molekula není planární.

Velikost sorpčních schopností pro dané sorbenty není závislá ani na druhu jednotlivých barviv, ani na skupinách barviv. Zřejmé je, že vzorek KR 2 má mnohem vyšší sorpční schopnosti než vzorek OC 78 (vztaženo na hmotnost sušiny použitého magnetického adsorbentu).



Obr. 32: Porovnání jednotlivých adsorpčních izoterem pro testovaná barviva u vzorku KR 2

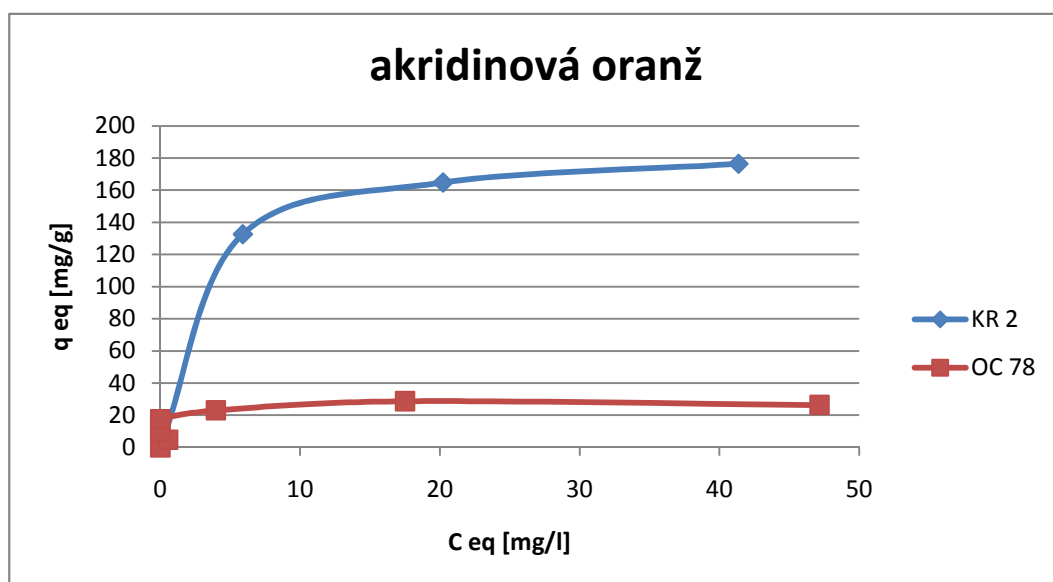
Z měření prováděných na barvivo kongo červeň bylo u obou vzorků potvrzeno dřívější zjištění^[40], že sloučeniny, které nemají planární molekulu, se prakticky neadsorbují na tyto typy sorbentů.

Porovnání sorpčních kapacit vzorků OC 78 a KR 2 pro jednotlivá barviva jsou znázorněny na obrázcích č. 33, 34 a 35. Z výsledků vyplývá, že vzorek KR 2 (magnetit, připravený srážecí metodou) je po silanizaci a následném navázání ftalocyaninu mědi

lepším sorbentem (vztaženo na jednotkové množství sorbentu). Může to být způsobeno tím, že vzorek OC 78 obsahuje částice, které se od sebe velikostně podstatně liší. Tento vzorek dále tvoří klastry, tudíž je zde menší počet částic, přístupných pro imobilizaci afinitního ligandu a následnou adsorpci.

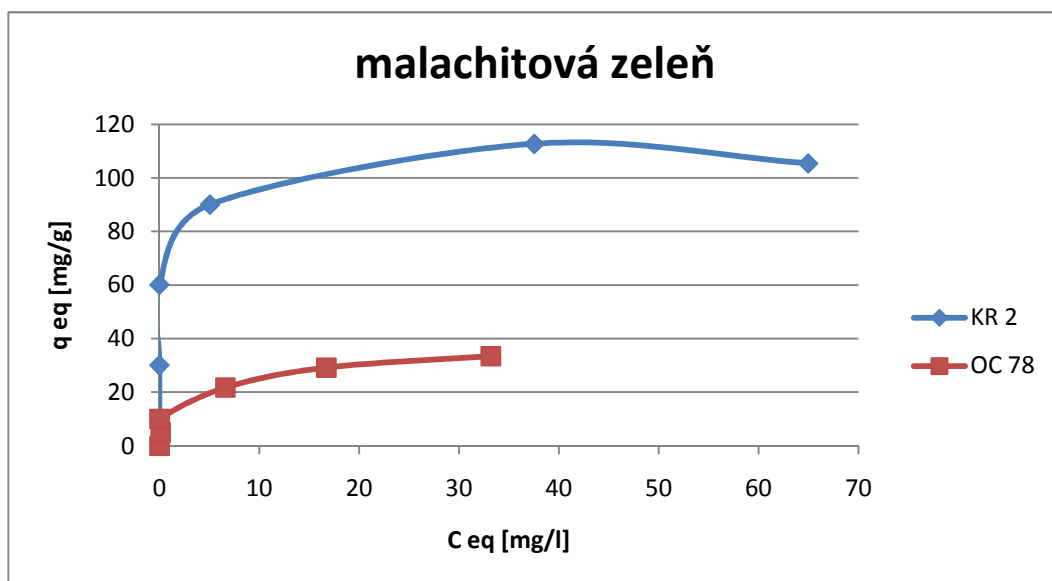
Oba vzorky mají sice podobnou celkovou plochu povrchu, ale vzorek KR 2 má pravděpodobně vyšší aktivní plochu povrchu, která je mnohem důležitější, a která představuje plochu, přístupnou jak pro modifikaci (silanizaci a navázání afinitního ligandu), tak i dostupnou pro adsorpci cílového analytu (barviva).

Z obrázku 33 je patrné, že pro barvivo akridinová oranž je mnohem lepším sorbentem vzorek KR 2, u něhož maximální adsorpční kapacita nabývá hodnoty asi 180 mg/g. Pro sorbent OC 78 je tato kapacita naopak velmi nízká, jen kolem 30 mg/g.



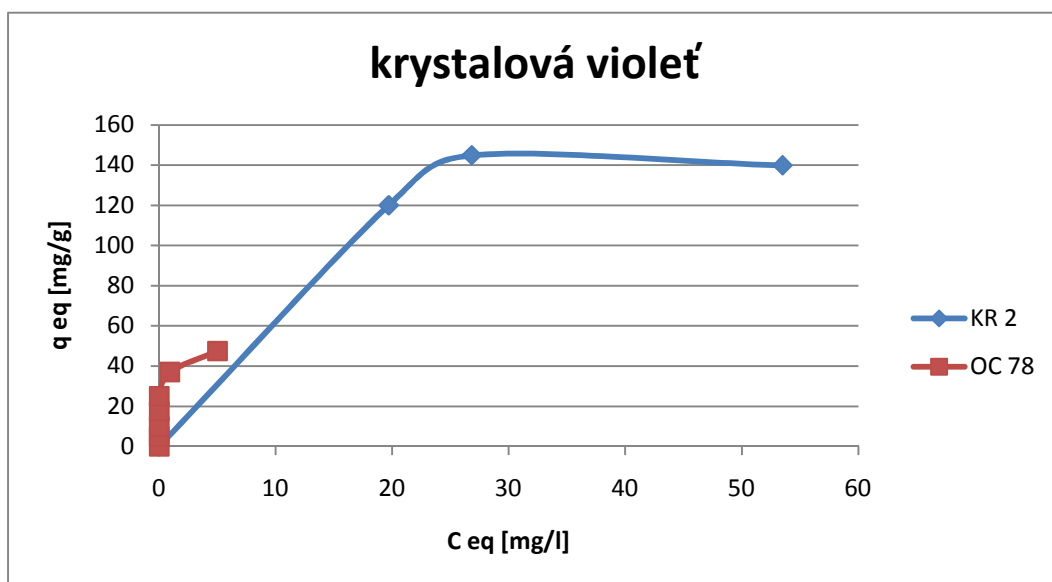
Obr. 33: Porovnání jednotlivých adsorpčních izoterem pro dané sorbenty u barviva akridinová oranž

Obrázek 34 ukazuje v porovnání s obr. 33 nižší maximální adsorpční kapacitu barviva malachitová zeleň (v porovnání s ostatními barvivy) pro sorbent KR 2: 115 mg/g, u sorbentu OC 78 je tato maximální adsorpční kapacita o něco vyšší, asi 35 mg/g. Ovšem je zřejmé, že sorbent KR 2 má stále mnohem lepší sorpční schopnosti.



Obr. 34: Porovnání jednotlivých adsorpčních izoterem pro dané sorbenty u barviva malachitová zeleň

Obrázek 35 jen potvrzuje předchozí grafy, kde vykazuje vzorek KR 2 mnohem lepší sorpční schopnosti proti vzorku OC 78. Je patrné, že OC 78 pro barvivo krystalová violeť zde dosahuje svého maxima v adsorpčních schopnostech: 50 mg/g, ale ani zdaleka nedosahuje úrovně vzorku KR 2.



Obr. 35: Porovnání jednotlivých adsorpčních izoterem pro dané sorbenty u barviva krystalová violeť

Porovnáme-li vlastnosti připravených sorbentů ve vztahu k jejich sorpčním kapacitám pro vybraná barviva je jasné, že pouze plocha povrchu a velikost částic nestačí pro posouzení sorpčních vlastností daných materiálů, protože vzorek OC 78 i KR 2 mají téměř totožné hodnoty specifické plochy povrchu. Nabízí se několik dalších kritérií pro posouzení adsorpce v tomto případě na silanizovaný povrch částic. Jistě bude hrát roli stupeň aglomerace částic a poréznost aglomerovaných částic. Můžeme hovořit o jakési těsnosti či dokonce srůstu jednotlivých nanočástic při syntéze. Známým faktem při syntézách nanočástic termálně indukovanou reakcí v pevné fázi je, že produkt si zachovává morfologii prekurzoru a jednotlivé částice jsou tedy uskupeny v předem určených tvarech původních krystalů, kde navenek vytváří mikroporézní materiál pevně seskupených nanočástic. Z tohoto pohledu je u vzorku OC 78 připraveného z octanu železnatého značná část nanočástic uvnitř porézní matrice, a proto jejich povrch není přístupný pro sorpci jakékoliv biologicky aktivní molekuly. Pokud by mělo dojít k sorpci i uvnitř matrice, analyt by musel dovnitř difundovat, což zpomaluje celou reakci a tím dochází k sorpci menšího množství barviva za daný čas. U reakce afinitního ligandu, která probíhá na povrchu, dochází k adsorpci ihned, čímž se během stejného časového úseku může navázat mnohem více barviva, než v případě, kdy musí barvivo difundovat. Nanočástice vzorků připravených koprecipitací jsou více separované, stupeň jejich aglomerace je značně menší a proto mají na svém povrchu více přístupných míst pro navázání cílového analytu

Z naměřených hodnot rentgenové fluorescence vyplývá, že u vzorku OC 78 bylo navázáno mnohem více jak křemíku, tak i mědi, což by mělo vypovídat o jeho vyšších sorpčních schopnostech, které však nebyly potvrzeny. Důvodem mohlo být to, že se na povrch vzorku OC 78 povedlo navázat tak velké množství ftalocyaninu, které při následné vazbě analytu zabráňovalo jeho ukotvení na povrch. Ftalocyanin a analyt si navzájem „překážely“ (sterické odpuzování).

V neposlední řadě může hrát roli krystalinita a fázové složení materiálů. V případě OC 78 vzorek obsahuje směs maghemitu a hematitu, na rozdíl od vzorku KR 2 obsahující převážně krystalický magnetit. Aktivní povrch pro sorpci analytu může být těmito fakty ovlivněn, ale není podložen. Tyto vlivy krystalinity, struktury a fázového složení na sorpční vlastnosti mohou být předmětem dalšího zkoumání.

Závěr

Cílem této diplomové práce byla příprava, strukturní a magnetická charakterizace nanočástic oxidů železa připravených termicky indukovanou reakcí v pevné fázi a porovnání jejich sorpčních schopností s nanočásticemi připravenými koprecipitační metodou.

Bylo potvrzeno, že se teplotní dekompozicí octanu železnatého na vzduchu podařilo připravit nanočástice obsahující dvě strukturní fáze oxidů železa, a to maghemit v superparamagnetickém stavu a krystalický hematit. TEM i SEM u vzorku OC 78 prokázaly přítomnost kulovitých nanočástic v rozmezí 6 až 20 nm, které tvoří shluky o velikosti řádově desítek mikrometrů. Vzorek KR 2 připravený koprecipitací železnatých a železitých iontů obsahuje nanočástice magnetitu o velikosti koherentních domén okolo 12 nm. Tento výsledek byl potvrzen i TEM a SEM mikroskopií, kde na snímcích byly přítomny kubické částice o velikosti asi 12 nm.

Oba vzorky byly dále povrchově upravené silanizací s následným navázáním reaktivního ftalocyaninového barviva, což bylo potvrzeno přítomností křemíku a mědi z rentgenové fluorescence. Takto připravené sorbenty byly zkoumány z pohledu sorpčních vlastností (maximální adsorpční kapacita) pro různé typy aromatických karcinogenních barviv (v zastoupení modelových sloučenin).

Vzorek KR 2 se pro vybraná barviva jeví lepším sorbentem než vzorek OC 78. Oba vzorky mají sice podobnou plochu povrchu, lišit se však pravděpodobně budou velikostí aktivní plochy povrchu, která bude vyšší pro vzorek KR 2. Na rozdíl sorpčních vlastností bude mít zřejmě vliv i rozdílná distribuce velikostí nanočástic u vzorku OC 78, která je u vzorku KR 2 jednotná, a v případě OC 78 i tvorba větších aglomerátů do uskupení jakési porézní matrice vázající jednotlivé nanočástice těsněji u sebe a uvnitř daných špalkovitých útvarů, což jim znemožňuje přístup pro daný sorbovaný analyt.

Na závěr lze shrnout, že jako primární měřítko pro výši sorpčních schopností nelze brát samotné údaje o specifické ploše povrchu, neboť není zárukou, že zároveň s ní bude vyšší i aktivní plocha povrchu. Tudiž pro některé aplikace nemusí samotná vysoká plocha povrchu korespondovat s vysokými separačními vlastnostmi. Zároveň je vidět, že různé aplikace mohou vyžadovat různé typy magnetických materiálů. Materiál OC 78 po modifikaci vykazoval v popsáných experimentech horší adsorpci testovaných

analytů oproti materiálu připravenému koprecipitací, přesto i nižší adsorpce např. xenobiotik v zásadě umožňuje použít tento materiál v analytickém uspořádání, např. při předkoncentraci stopových množství cílových analytů.

Použitá literatura

- [1] Šafaříková, M., Šafařík, I. Magnetické separace v přírodních vědách a biotechnologiích. *Chemické listy*, 1995, 89, 280–287.
- [2] Rosensweig, R. E. Magnetic fluids. *Scientific American*, 1982, 247, 136–145.
- [3] Odenbach, S. Magnetic fluids. *Advances in Colloid Interface Science*, 1993, 46, 263–282.
- [4] Weetall, H. H., Lee, M. J. Antibodies immobilized on inorganic supports. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1989, 22, 311–330.
- [5] Lenfeld, J. Magnetic bead cellulose. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 1993, 212, 147–155.
- [6] Hassan, E. E., Parish, R. C., Gallo, J. M. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole. *Pharmaceutical Research*, 1992, 9, 390–397.
- [7] Šafařík, I. Removal of organic polycyclic compounds from water solutions with a magnetic chitosan based sorbent bearing copper phthalocyanine dye. *Water Research*, 1995, 29, 101–105.
- [8] Šafařík, I. Magnetic biospecific affinity adsorbents for lysozyme isolation. *Biotechnology Techniques*, 1991, 5, 111–114.
- [9] Šafařík, I., Šafaříková M. Batch isolation of hen egg white lysozyme with magnetic chitin. *Journal of Biochemical and Biophysical methods*, 1993, 27, 327–330.
- [10] Miltenyi, S., Müller, W., Weichel, W., Radbruch, A. High gradient magnetic cell separation with MACS cytometry, 1990, 11, 231–238.
- [11] Murno, P. A., Dunnill, P., Lilly, M. D. Nonporous magnetic materials as enzyme supports: Studies with immobilized chymotrypsin. *Biotechnology and Bioengineering*, 1979, 19, 101–124.
- [12] Ugelstad, J., Kilaas, L., Stenstad, P., Ellingsen, T., Bjorgum, J., Aune, O., Nilsen, T. N., Schmid, R., Berge, A. Magnetic separation techniques applied to cellular and molecular biology. Somerset, wordsmiths' conference publication, 1991.
- [13] Inada, Y., Takahashi, K., Yoshimoto T., Kodera, Y., Matsushima, A., Saito, Y. Application of PEG-enzyme and magnetite-PEG-enzyme conjugates for biotechnological processes. *Trends in Biotechnology*, 1988, 6, 131–134.

- [14] Goetz, V., Remaud, M., Graves, D. J. A novel magnetic silica support for use in chromatographic and enzymatic bioprocessing. *Biotechnology and Bioengineering*, 1991, 37, 614–626.
- [15] Halling, P. J., Dunnill, P. Magnetic supports for immobilized enzymes and bioaffinity adsorbents. *Enzyme and Microbial Technology*, 1980, 2, 2–10.
- [16] Lochmüller, C. H., Wigman, L. S., Kitchell, B. S. Aerosol-jet produced, magnetic carrageenan-gel particles: A new affinity chromatography matrix. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1987, 40, 33–40.
- [17] Bolto, B. A. Magnetic particle technology for wastewater treatment. *Waste Management*, 1990, 10, 11–21.
- [18] Povey, A. C., O'Neill, I. K. Copper phthalocyanine labeled magnetic microcapsules-preparation, and binding-properties invitro and invivo for mutagens having planar molecular-structure. *Carcinogenesis*, 1990, 11, 1989–1993.
- [19] Šafaříková, M., Šafařík, I., Vrchotová, N. Study of sorption of triphenylmethane dyes on a magnetic carrier bearing an immobilized copper phthalocyanine dye. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 1995, 60, 34–42.
- [20] Kluchová, K. Diplomová práce, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, 2005.
- [21] Cornell, R. M., Schwertmann, U. *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*. Second, completely revised and extended edition. Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003.
- [22] Kluchová, K. Disertační práce, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, 2009.
- [23] Zbořil, R., Mašláň, M., Petridis, D. Iron (III) oxides from thermal processes-synthesis, structural and magnetic properties, mössbauer spectroscopy characterization, and applications. *Chemistry of Materials*, 2002, 14, 969–982.
- [24] Jeong, J. R., Lee, S. J., Kim, J. D., Shin, S. C. Magnetic properties of γ -Fe₂O₃ nanoparticles made by coprecipitation method. *Physica Status Solidi B-Basic Research*. 2004, 241, 1593–1596.
- [25] Pascal, C., Pascal, J. L., Favier, F., Elidrissi Moubtassim, M. L., Payen, C. Electrochemical synthesis for the control of γ -Fe₂O₃ nanoparticle size. Morphology, microstructure, and magnetic behavior. *Chemistry of Materials*. 1999, 11, 141–147.

- [26] Zhang, L., Papaefthymiou, G. C., Ying, J. Y. Size quantization and interfacial effects on a novel gamma-Fe₂O₃/SiO₂ magnetic nanocomposite via sol-gel matrix-mediated synthesis. *Journal of Applied Physics*, 1997, 81, 6892–6900.
- [27] Löbber, G. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim, Wiley-VCH, 2002.
- [28] Hayatsu, H. Cellulose bearing covalently linked copper phthalocyanine trisulphonate as an adsorbent selective for polycyclic compounds and its use in studies of environmental mutagens and carcinogens. *Journal of Chromatography A*. 1992, 597, 37–56.
- [29] Safarikova, M., Safarik, I. Interaction of tricyclic drugs with copper phthalocyanine dye immobilized on magnetic carriers. *European Cells and Materials*. 2002, 3 (Suppl. 2), 188–191.
- [30] Vieira, A. P., Santana, S. A. A., Bezerra, C. W. B., Silva, H. A. S., Chaves J. A. P., de Melo, J. C. P., da Silva Filho, E. C., Airoidi, C. Epicarp and mesocarp of babassu (*orbignya speciosa*): Characterization and application in copper phthalocyanine dye removal. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 2011, 22, 21–29.
- [31] Conn, H. J. *Biological Stains: a handbook on the nature and use of the dyes employed in the biological laboratory*. Ninth edition. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1977.
- [32] Rosenberg, L. Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *Journal of Bone Joint and Surgery*, 1971, 53, 69–82.
- [33] Rushing, L. G., Bowman, M. C. Determination of crystal violet in animal feed, human urine, and wastewater by high pressure liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 1980, 18, 224–232.
- [34] White, D. J., Johnson, E. M., Warnock, D. W. Management of persistent vulvo-vaginal candidosis due to azole resistant *Candida glabrata*. *Genitourinary Medicine*, 1993, 69, 112–114.
- [35] Culp, S. J., Beland, F. A. Malachite green: a toxicological review. *Journal of the American College of Toxicology*, 1996, 15, 219–238.
- [36] Alderman, D. J. Malachite green: a review. *Journal of Fish Diseases* 1985, 8, 289–298.
- [37] Safarik, I., Safarikova, M. Detection of low concentrations of malachite green and crystal violet in water. *Water Research*, 2002, 36, 196–200.

- [38] Andersen, W. C., Turnipseed, S. B., Roybal, J. E. Quantitative and confirmatory analyses of malachite green and leucomalachite green residues in fish and shrimp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54, 4517–4523.
- [39] Berger, P., Adelman, N. B., Beckman, K. J., Campbell, D. J., Ellis, A. B., Lisensky, G. C. Preparation and properties of an aqueous ferrofluid. *Journal of Chemical Education*, 1999, 76, 943–948.
- [40] Šafaříková, M., Šafařík I. Copper phthalocyanine dye immobilized on magnetite particles: An efficient absorbent for rapid removal of polycyclic aromatic compounds from water solutions and suspensions. *Separation Science and Technology*, 1997, 32, 2385–2392.

Použité zkratky a symboly

ÚSBE AV ČR	Ústav systémové biologie a ekologie Akademie věd České republiky
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
MS	Mössbauerova spektroskopie
XRD	rentgenová prášková difrakce (X-Ray Diffraction)
XRF	rentgenová fluorescence (X-Ray Fluorescence Spectroscopy)
δ	izomerní posuv
ε_Q	kvadrupólové štěpení
B_{hf}	magnetické štěpení
RA	relativní zastoupení spektrální složky
SP	superparamagnetický