

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VYUŽITÍ METOD TERMICKÉ ANALÝZY PŘI STUDIU CHOVÁNÍ VODY
V BLÍZKOSTI HYDROFILNÍCH A HYDROFOBNIÍCH POVRCHŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

JAKUB VACEK

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0945/2014** Akademický rok: **2014/2015**
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student(ka): **Jakub Vacek**
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)
Vedoucí práce: **Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**
Konzultanti:

Název bakalářské práce:

Využití metod termické analýzy při studiu chování vody v blízkosti hydrofilních a hydrofobních povrchů

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracovat literární rešerši na zadané téma.
2. Na základě literární rešerše navrhnout a realizovat sérii experimentů, zaměřených na vlastnosti a chování vody v kontaktu s vybranými modelovými hydrofilními a hydrofobními povrchy.
3. Diskutovat výsledky, navrhnout další směřování výzkumu v dané oblasti.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

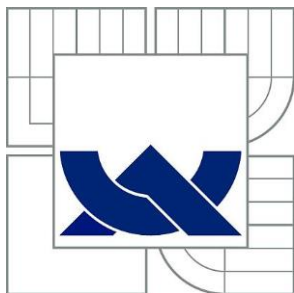
Jakub Vacek
Student(ka)

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VYUŽITÍ METOD TERMICKÉ ANALÝZY PŘI STUDIU CHOVÁNÍ VODY V BLÍZKOSTI HYDROFILNÍCH A HYDROFOBNIÍCH POVRCHŮ

UTILIZATION OF THERMAL ANALYSIS IN STUDY ON WATER BEHAVIOR IN THE VICINITY OF
HYDROPHILIC/HYDROPHOBIC SURFACES.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

JAKUB VACEK

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. PETR SEDLÁČEK, Ph.D.

BRNO 2015

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na studium chování vody v blízkosti hydrofilních a hydrofobních povrchů pomocí metod termické analýzy. Na základě literární rešerše byly navrženy a realizovány série experimentů. Při řešení byly využity jak základní metody, jako je analyzátor vlhkosti, tak i mnohem sofistikovanější metody, jako je izotermická titrační kalorimetrie, termogravimetrická analýza a diferenční kompenzační kalorimetrie. Hlavní cílem práce bylo zjistit, zda jsou tyto metody použitelné pro studium hydratace daných povrchů.

ABSTRACT

The main aim of the bachelor thesis was focused on study of behavior of water in the vicinity of hydrophilic and hydrophobic surfaces using thermal analysis. Based on literature research were designed and realised series of experiments. When solution were used basic methods such as moisture analyzer and more sophisticated method such as isothermal titration calorimetry, thermogravimetric analysis and differential scanning calorimetry. The main goal of this thesis was to find out whether these methods are useful for studying the hydration of the surfaces.

KLÍČOVÁ SLOVA

Voda, exkluzní zóna, termická analýza, hydratace

KEYWORDS

Water, exclusion zone, thermal analysis, hydration

VACEK, J. *Využití metod termické analýzy při studiu chování vody v blízkosti hydrofilních a hydrofobních povrchů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 43 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval Ing. Petru Sedláčkovi Ph.D. za odborné vedení při zpracování mé bakalářské práce, za poskytnuté materiály a úsilí věnované při navrhování experimentů. Dále bych chtěl poděkovat paní Leoně Kubíkové za pomoc při realizaci experimentů a osobní konzultace.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. CÍLE PRÁCE.....	8
3. TEORETICKÁ ČÁST	9
3.1 Voda jako chemická sloučenina	9
3.1.1 Struktura, vlastnosti a anomálie.....	9
3.1.2 Vodíková vazba	9
3.1.3 Hydratace.....	12
3.1.3.1 Hydrofilní hydratace	12
3.1.3.2 Hydrofobní hydratace.....	12
3.2 Termická analýza	13
3.2.1 Termogravimetrická analýza	13
3.2.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie	14
3.2.3 Izotermická titrační kalorimetrie	15
4. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	16
4.1 Využití metod termické analýzy při studiu hydratace	16
4.2 Exkluzní zóny v blízkosti hydrofilních povrchů.....	17
4.2.1 Nafion	18
4.2.2 Vliv pufru na vznik EZ.....	18
4.2.3 Rychlost vzniku exkluzní zóny.....	18
4.2.4 Viskozita vody v exkluzní zóně.....	19
4.2.5 Elektrický potenciál a pH v exkluzní zóně.....	20
4.3 Využití spektroskopických metod při studiu struktury exkluzní zóny	21
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
5.1 Použité chemikálie.....	25
5.2 Použité přístroje	25
5.3 Termické charakterizace exkluzní zóny	25
5.3.1 Analyzátor vlhkosti.....	25
5.3.2 Termogravimetrická analýza	26
5.3.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie	27
5.3.4 Izotermická titrační kalorimetrie	27
6. VÝSLEDKY A DISKUZE	28
6.1 Sledování průběhu vysoušení vody od různých povrchů pomocí analyzátoru vlhkosti.....	28
6.2 Využití izotermické titrační kalorimetrie pro studium smáčení povrchů	31
6.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie	32
6.4 Termogravimetrická analýza	34

6.4.1	Termogravimetrická analýza s konstantní rychlostí ohřevu	34
6.4.1.1	Hydratace Nafionu	34
6.4.2	Izotermální TGA měření	38
7.	ZÁVĚR	39
8.	POUŽITÁ LITARATURA	41
9.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	43
9.1	Použité zkratky	43
9.2	Použité symboly.....	43

1. ÚVOD

Zemský povrch je tvořen více jak ze tří pětín vodou. Voda se vyskytuje ve všech živých organismech, v buňkách, při metabolických drahách a tím pádem je základní podmínkou pro život. Molekula vody je chemicky složena ze dvou atomů vodíku a jednoho atom kyslíku, které jsou spojené kovalentní vazbou. Díky nelinearitě této vazby, je molekula vody polární a hraje tak významnou roli při rozpouštění polárních a iontových látek.

Vyskytuje se ve třech skupenských fázích. Pevná – led a sníh, kapalná – voda, plynná – vodní pára. Za normálních podmínek je kapalina bezbarvá a bez zápachu. Maximální hustoty dosahuje voda při 3,95°C a ne až ve svém pevném stavu, jak by se dalo očekávat. Tato anomálie je typická pouze pro vodu a je mimo jiné důležitá při přežití vodních živočichů v zamrzlých vodních tocích. Voda je také výjimečná svou vysokou permitivitou a slabou elektrickou vodivostí, která se mění s rozpouštěním příměsí.

Podobných vlastností vody, které jí činí zcela unikátní ve srovnání s jinými kapalinami je v současnosti známo několik desítek. Nejnovější anomálií, která byla objevena poměrně nedávno týmem Dr. Geralda Pollacka, je vznik mimořádně strukturované vrstvy vody v blízkosti hydrofilních povrchů, a to do vzdálenosti podstatně větší, než bylo dosud předpokládáno. Tato zóna, pojmenovaná Dr. Pollackem v důsledku exkluze rozptýlených částic jako exkluzní zóna, má své charakteristické chemické i fyzikální vlastnosti, které jsou odlišné od prozatím známých skupenství vody.

A to nás přivádí k otázce, jaké metody jsou využitelné pro detailní studium této anomálie. Už naši předci zaznamenali, že látky se zahříváním popřípadě ochlazováním mění. Proto není divu, že se vědní obor termické analýzy postupně rozvíjel až do dnešní podoby, kdy je nezastupitelnou součástí chemicko–fyzikální analýzy. Cílem této bakalářské práce je proto na základě literární rešerše představit metody, dosud využívané při studiu hydratační vody v těsné blízkosti hydrofilních resp. hydrofobních povrchů, a dále experimentálně ověřit využitelnost metod termické analýzy v této oblasti.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo zpracovat literární rešerši na zadané téma a na jejím základě navrhnout a realizovat sérii experimentů zaměřených na vlastnosti a chování vody v kontaktu s vybranými modelovými hydrofilními a hydrofobními povrchy. Následně diskutovat výsledky a navrhnout další směřování výzkumu v dané oblasti.

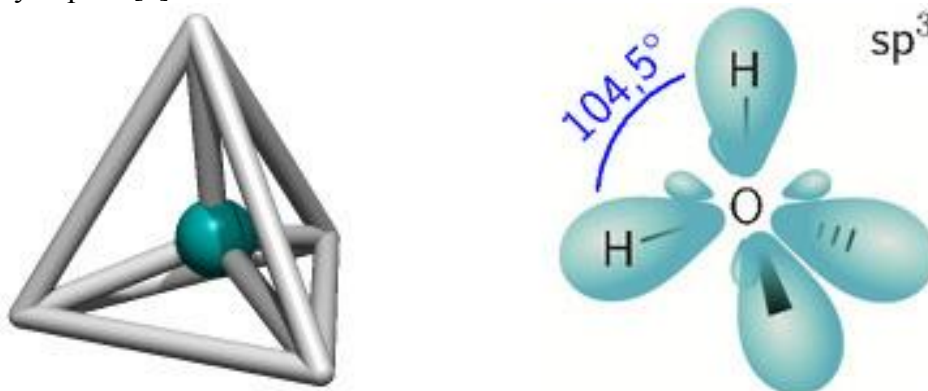
3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Voda jako chemická sloučenina

Voda se na první pohled zdá být jako nejběžnější sloučenina na zemi, která nás už nikterak nedokáže překvapit svým chováním. Jak již bylo podotknuto, vyskytuje se prakticky všude a ve všem jako nedílná součást života. I přes tyto fakta můžeme ve vodě nalézt několik desítek anomálií [1], které popírají dosavadní znalosti o struktuře kapalin.

3.1.1 Struktura, vlastnosti a anomálie

Voda má mnoho unikátních vlastností, které jí odlišují od zbytku kapalin. Jednu z mnoha můžeme najít už v její kovalentní struktuře. Molekula vody se z hlediska stability uspořádává do čtyřstěnu (hybridizace sp^3), ve kterém je ideální vazebný úhel $109,5^\circ$. Ve skutečnosti je tento úhel $104,5^\circ$ z důvodu kladně nabitých atomů vodíků, které zmenšují odpuzování elektronových párů [2].



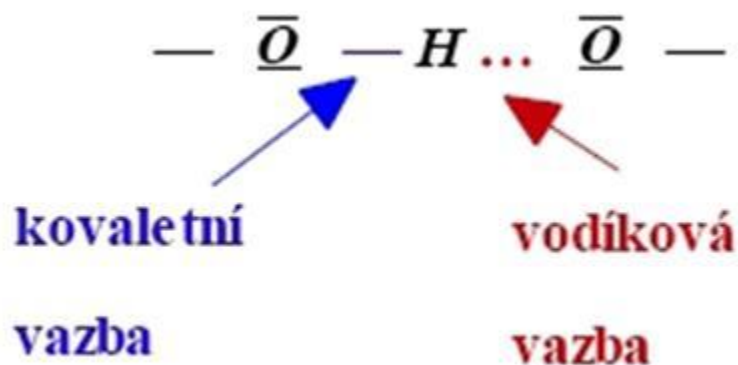
Obr. 1 Modelové uspořádání vody do čtyřstěnu [2].

Každá molekula vody se chová jako dipól. Parciální záporný náboj se vytváří na atomu kyslíku a kladný parciální náboj na atomu vodíku. Díky velice vysoké polaritě, která je vzhledem k velikosti molekuly vody opravdu unikátní, jsou tyto elektrostatické síly tak silné.

Voda má díky svým polárním vlastnostem zcela zásadní a praktický význam jako univerzální biologické rozpouštědlo. Rozpouští anorganické i organické látky důležité pro metabolismus a životaschopnost buněk, protože všechny životně důležité funkce probíhají ve vodných roztocích. Díky velkému dipólovému momentu silně interaguje s ostatními molekulami a ukazuje tak velké rozpětí chemických reakcí včetně reakcí, kdy se voda může jednou chovat jako kyselina a podruhé jako báze [3].

3.1.2 Vodíková vazba

Vodíková vazba je nejsilnější a také nejběžnější typ nekovalentních interakcí. Vzniká u většiny sloučenin, které obsahují atom vodíku kovalentně vázaný na atom o vysoké elektronegativitě.



Obr. 2 *Vodíková vazba*

Nejběžnější typem této vazby je bezpochyby $\text{X—H}\cdots\text{Y}$, kde X jsou elektronegativní atomy (F, O, N ale i C) a Y atomy navíc obsahují volné elektronové páry. Jsou známé ale i vazby, kdy protonovým akceptorem jsou systémy s delokalizovanými elektrony např. mezi vodou a benzenem. Charakteristické rysy tvorby vazby jsou dvojí:

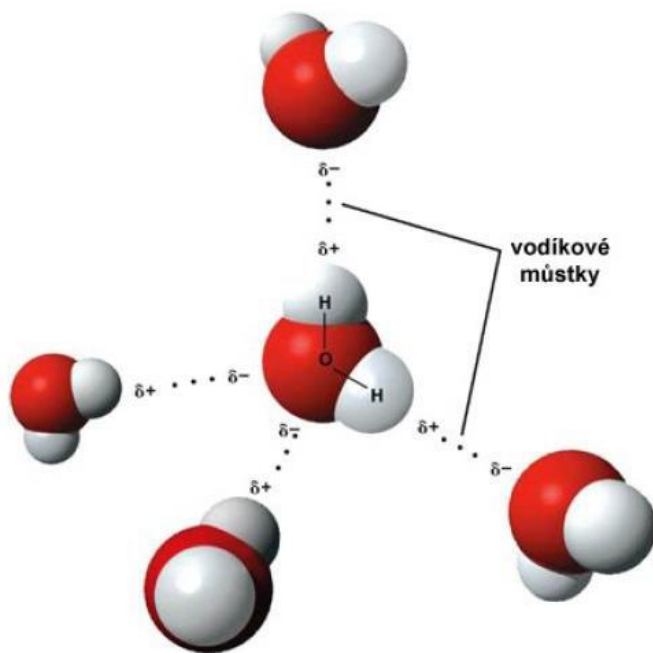
Za prvé se jedná o prodloužení vazby X—H , kdy toto prodloužení určitým způsobem koreluje se silou vazby.

Za druhé se jedná o malý, i když významný přenos frakce elektronů z protonového akceptoru na protonový donor.

Prostřednictvím infračervené spektroskopie lze detekovat posun pásu, příslušející valenční vibraci X—H směrem k delším vlnovým délkám. Tento velmi charakteristický jev, donedávna brán jako dogma, je nazván jako červený posun a je detekovatelný ve všech třech fázích vody. Proti tomuto názoru se však postavilo několik výzkumů, které naznačovaly, že tvorba komplexů není doprovázena červeným posunem, ale naopak modrým posunem. Veškeré prováděné výzkumy dokazující tento modrý posun, ukázaly tvorbu komplexů typu $\text{C—H}\cdots\pi$. Na základě těchto výsledků byl tento typ vodíkové vazby nazván jako nepravá vodíková vazba.

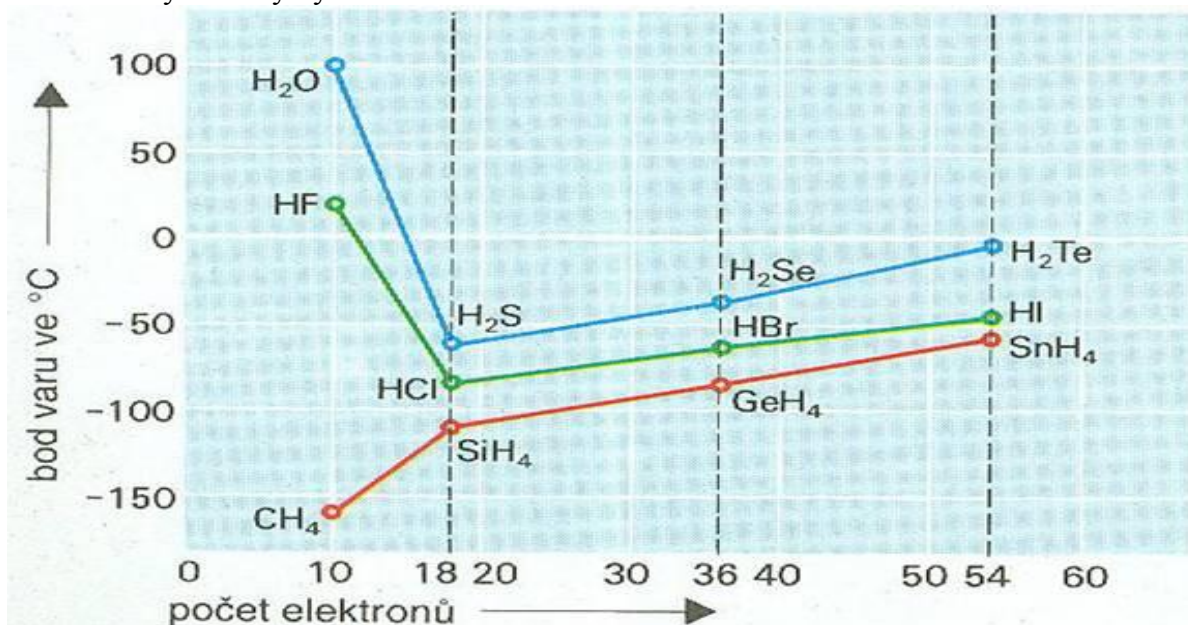
Jeden z nedávných výzkumů dokazuje vznik méně početných komplexů $\text{M—H}\cdots\text{H—Y}$, detekovaných v krystalech metalických krystalů. Kde M je atom kovu a Y je elektronegativní atom. Posléze byla tato vazba nazvána jako dvouvodíková a dokázána v několika dalších pokusech [4].

Mezi významnou anomálií a v přírodě životně důležitou patří schopnost vodních toků nezamrznout do hloubky. Dvě molekuly vody spolu reagují na základě elektrostatických sil, kdy záporný pól jedné molekuly přitahuje kladný pól druhé. Každá z těchto molekul se může podílet na stejném počtu těchto vazeb. Tyto jednotlivé směrové vazby na každou molekulu vody umožňují vznik periferně uspořádané hexagonální mřížky, tak jak jí známe u ledu či sněhových vloček. Při zvýšené teplotě se však vlivem tepelného pohybu molekul jejich dvouobsahové uspořádání zhroutlí a v průměru už voda nedosahuje 4, ale pouze 3,5 vodíkových vazeb. Díky tomuto jevu se mohou molekuly vody dostat k sobě blíže, proto má voda větší hustotu než led [5].



Obr. 3 Vodíková vazba v krystalické vodě

Další velice známá a denně viditelná anomálie této unikátní vazby, se týká teploty varu v porovnání s ostatními hydridy dalších prvků v periodické tabulce. Obecně by mělo platit, že čím větší molekulová hmotnost, tím vyšší teplota varu. Jak můžeme vidět na obr. 4, voda se z toho trendu výrazně vymyká.



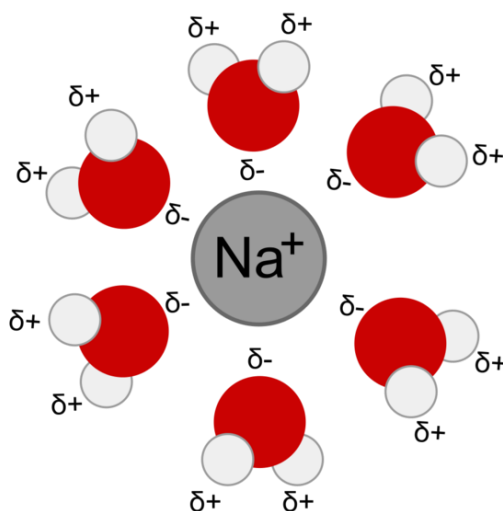
Obr. 4 Teploty varu hydridů prvků IV. A – VII. A skupiny.

3.1.3 Hydratace

Obecně platí, že hydratace je termín týkající se specifického vázání molekul vody na hydratované individuum (molekulu, agregát, povrch apod.). Je to jeden z nejdůležitějších faktorů hrající podstatnou roli v biologických funkcích v přírodních systémech. Vzhledem ke specifickým vlastnostem a silné afinitě vody držet pospolu pomocí vodíkových vazeb tvoří různé struktury, které mají odlišné fyzikálně – chemické vlastnosti. Hydratace molekul závisí hlavně na porovnání v relativní síle interakce molekula – voda a vodíková vazba – voda. Díky těmto specifickým interakcím, které jsou zároveň hnací silou, vznikají složité organizace (klastry). Voda se podílí na těchto procesech mnoha různými způsoby, jako je například přímé přemostění kolektivních účinků (hydrofobní efekt) [1].

3.1.3.1 Hydrofilní hydratace

O hydrataci iontů existuje nespočetně informací a dat, které nejsou tak úplně jednoznačné. Většina z nich zahrnuje množství molekul vody připadající na iont a samozřejmě jejich distribuci. Při hydrataci dochází k obalení iontu molekulami vody, které jsou nejvíce ovlivněny v případech, kdy leží nejbližší možně k příslušnému iontu. Při této interakci dochází k přeskupení molekul a vazeb, což souvisí s uvolněním hydratační energie. Molekuly vody jsou nejvíce polarizovány v blízkosti malých kationtů, tato polarizace má za následek posílení donor vodíkové vazby těchto kationtů [1]. Příklad typické interakce molekuly vody a sodíkového iontu je uveden na Obr. 5.

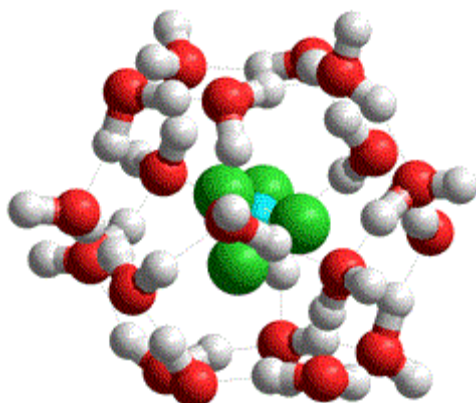


Obr. 5 Obalení sodného kationu během hydratace.

3.1.3.2 Hydrofobní hydratace

Hydrofobní účinky se týkají hlavně vyloučení z polárních rozpouštědel (především vody) velkých částic nebo slabě solvatovaných částic prostřednictvím vodíkových vazeb nebo dipolárních interakcí. Příklad tohoto efektu můžeme přirozeně vidět v nemísitelnosti oleje a vody. V podstatě se dá říct, že molekuly vody jsou k sobě silně přitahovány, což vede k přirozenému shlukování jiným molekul [1]. Tento efekt je také zodpovědný za stabilitu buněčných membrán, proto nezbytný pro život, i když dodnes není zcela objasněn jeho účinek. Někteří tvrdí, že hydrofobní interakce je většinou entropický účinek procházející

z narušení vysoce dynamických vodíkových vazeb mezi molekulami kapalné vody ze strany nepolární rozpuštěné látky.



Obr.6 *Hydrofobní hydratace molekuly CCl₄* [5]

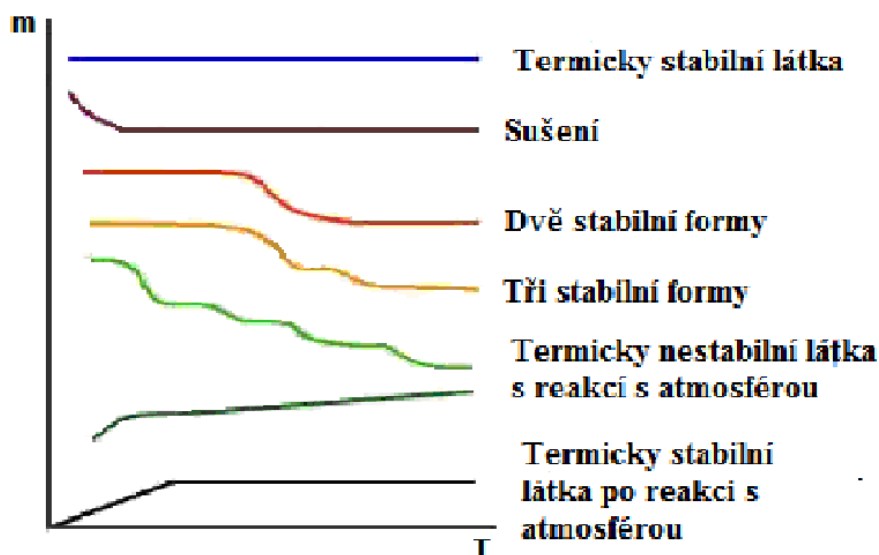
3.2 Termická analýza

Termická analýza (TA) je termín popisující analytické experimentální techniky, které zkoumají vlastnosti vzorku jako funkce teploty nebo času. Teplotní program může zahrnovat jak ohřev, tak chlazení za změny teploty či při konstantní teplotě s možností kombinace obou v jednom či více krocích. Základ této analýzy spočívá v měření vzorku za nerovnovážných podmínek, tím pádem teplota přechodu není ve skutečnosti rovnovážnou teplotou přechodu. Díky obrovské schopnosti kvalitativně a kvantitativně charakterizovat, při velké rozsahu a vysoké rychlosti, různorodost materiálů, našla TA široké uplatnění v průmyslových a vědeckých oblastech [6].

Tyto metody mají mnoho výhod, ať už velký rozsah teplotních programů, nízká spotřeba vzorku (cca 1 – 50 mg), možnost standardizace atmosféry kolem vzorku a mnoho dalších. Na druhou stranu jsou výsledky ovlivněny experimentálními parametry, jako je velikost vzorku, rychlost ohřívání nebo ochlazování, tepelnou a mechanickou historii vzorku [7].

3.2.1 Termogravimetrická analýza

Je obor TA, který zkoumá hmotnostní úbytek vzorku v závislosti na teplotě nebo jako funkci času při izotermických dějích. Řadíme k ní děje významné pro termální analýzu jako je například sublimace, redukce, oxidace, vypařování, naopak s ní nesouvisí děje způsobující změnu hmotnosti (tavení, krystalizaci, sklený přechod, ...). Je hlavně využívána na charakterizaci tepelné stability materiálů za různých podmínek a kinetiky fyzikálně-chemických procesů probíhajících ve vzorku. Výstupem této metody jsou termogravimetrické (TG) křivky, které jsou velice závislé na podmínkách pokusu. Příklady těchto křivek jsou znázorněny na obr. 7. Jako závislost změny hmotnosti na teplotě nebo čase při izotermickém ději [7].



Obr. 7 Modelové TG křivky v závislosti hmotnosti na teplotě [7]

3.2.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC) je jednou z nejrozšířenějších metod TA, ve které jsou vlastnosti vzorku sledované v závislosti na čase nebo teplotě ve zvolené či naprogramované atmosféře. Lze s ní testovat pevné i kapalně vzorky ve velmi širokém rozpětí teplot. Základní myšlenkou je zachování teplotního rozdílu mezi měřeným a srovnávacím. Z názvu je patrné, že proces ohřívání či ochlazování probíhá spolu se vzorkem kontrolním – zvolený referenční materiál. Výsledky měření nám poskytují kvalitativní i kvantitativní informace o fyzikálních a chemických změnách spojené s endotermickými a exotermickými procesy, popřípadě můžeme zjistit tepelnou kapacitu spojenou se skelným přechodem [6].

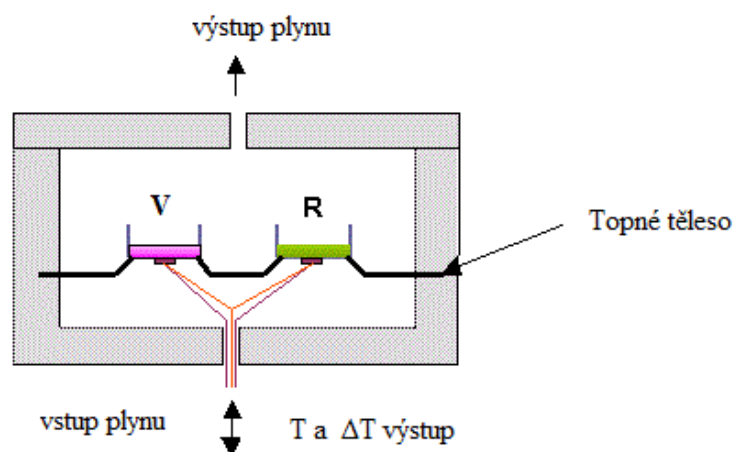
Používají se různé varianty DSC

- DSC s kompenzací příkonu

Podstatou této metody je zachování nulového teplotního rozdílu mezi naměřeným a srovnávacím vzorkem. Charakteristické pro tuto variantu jsou dvě oddělené měřicí cely a dva tepelné zdroje. Měří se příkon, který je potřebný k udržení konstantní teploty obou vzorků.

- DSC s tepelným tokem

U této metody je měření příkonu nahrazeno rozdílem teplot vzorku a vzorku srovnávacího, které jsou umístěné ve společné peci a jsou spojené tepelným mostem. Díky znalosti tepelného odporu mezi pecí a vzorkem a referenčním vzorkem lze uvažovat tepelný tok od vzorku za úměrný rozdílu teplot.

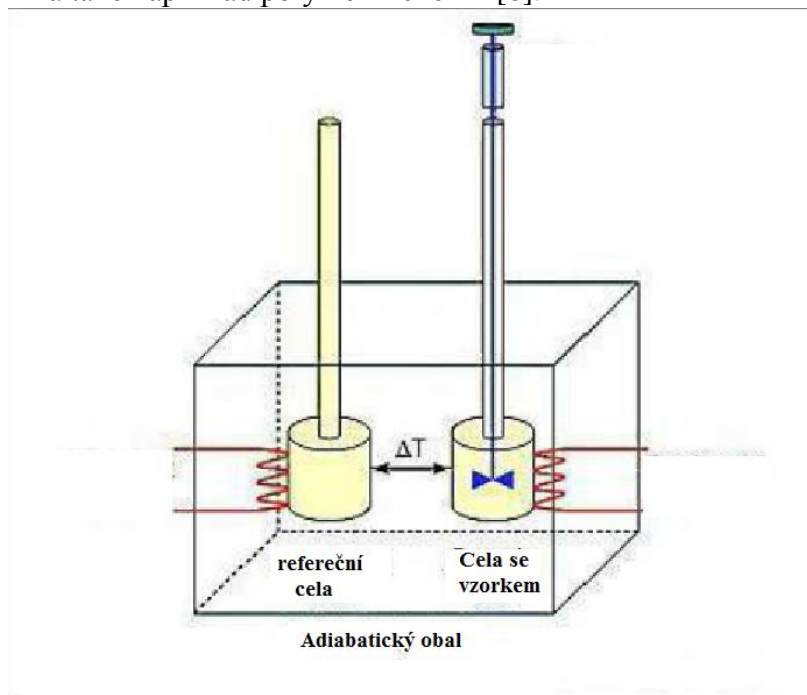


Obr. 8 Schéma diferenčního kompenzačního kalorimetru

3.2.3 Izotermická titrační kalorimetrie

V dnešní době se tato metoda dostává do popředí díky vynikající citlivosti pro charakterizaci intermolekulárních interakcí, rozeznávání reakcí a míru afinity reakce. Analyzované vzorky se dají zkoumat i v suspenzi částic a to díky nulovému vlivu zákalu či zbarvení na výsledek. Kromě této nesporné výhody, lze termodynamické parametry měřit bez imobilizace, úpravy či označování vazby partnerů a prakticky bez omezení molekulové hmotnosti.

Izotermická titrační kalorimetrie (ITC - z anglického názvu *isothermal titration calorimetry*) je technika založena na měření tepla, které je generováno nebo absorbováno v interakci mezi dvěma molekulami. Byla využita pro určení konstanty stability stechiometrie a za určitých podmínek entropie Gibbsovy volné energie a změny tepelné kapacity. O využití této techniky svědčí mnohé výsledky získané v široké oblasti výzkumu v nanotechnologiích, farmacii, biochemii a také například polymerní chemii [8].



Obr. 9 Základní schéma titračního kalorimetru [8].

Jak ukazuje Obr. 9, kalorimetr se skládá ze dvou cel a to z referenční cely a cely, kde je umístěn vzorek. Celý kalorimetr je obklopen adiabatickým obalem. Při měření musí být zachovány izotermické podmínky. Jsou zde zaznamenávány teplotní rozdíly na termoelektrických obvodech.

4. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

4.1 Využití metod termické analýzy při studiu hydratace

Metody termické analýzy představují v současnosti jeden z klíčových nástrojů studia hydratace. Proto můžeme najít mnoho článků a prací, při jejich použití jak na hydrataci molekul, tak i na hydrataci membrán.

Jednu z těchto termických metod (DSC) použily i bratři S. Tagikami a M. Tagikami ve své práci pro studium derivátů kyseliny hyaluronové vytvořených za pomoci formaldehydu. Hlavní předmětem zkoumání bylo zjistit různé síly vázání vody na HyA a jejich důsledků na projevu mrznutí vody. Na základě interakcí vody s HyA zvolily tři hlavní reprezentanty a to volnou nevázanou mrznoucí, vázanou mrznoucí a vázanou nemrznoucí vodu [9].

T. de Vriener a spol. v rámci studie koloidních struktur přítomných v neiontových mastích studovali interakce mezi vodou a polyoxyethylenem pomocí DSC. Jsou zde diskutovány účinky směšovacího tepla a tepla tání a podchlazení na naměřené hodnoty entalpií. Z frakce nemrznoucí vody se dospělo k závěru, že dvě molekuly vody jsou pevně vázané na jednotku polymerního řetězce [10].

J. Berthold a spol. studovali sorpci vlhkosti na různé typy derivátu celulózy, jako funkci relativní vzdušné vlhkosti na vlivu počtu iontů na absorpční mechanismus. Z výsledků toho experimentu vyplývá, že všechny typy testovaných derivátů měli určitou vrstvu nemrznoucí vody interagující blízko vazebných míst, kdy za přítomnosti nabitých skupin ($-COOH$ nebo $O-SO_3H$) může být tato vrstva obklopena vrstvou vody mrznoucí. Z toho lze usuzovat, že určité typy iontů a elektronových párů ovlivňují obsah vlastnosti absorbované vody [11].

B. E. I. Abdelrazig a spol. se zaměřili na vliv dávky chloridu vápenatého na hydratační chování OPC past pro různé doby staří pomocí DSC a TGA. Výsledky jsou diskutovány ve vztahu k relativnímu množství hydroxidu vápenatého a celkového reakčního produktu. Termické metody se ukázaly jako efektivní při charakterizaci produktů hydratace v přítomnosti chloridu [12].

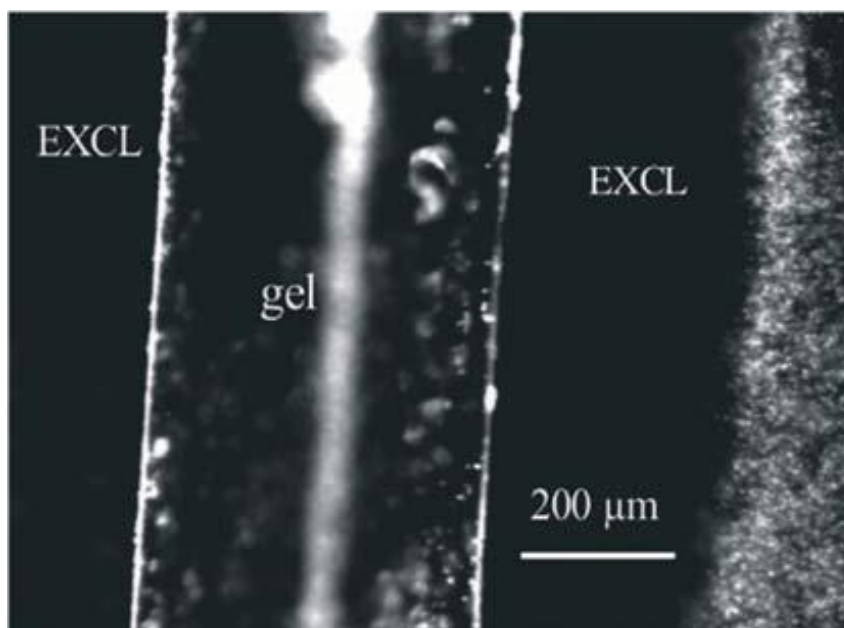
V. A. Sirotkin a D. V. Korolev porovnávali data izotermické kalorimetrie na interakci sérového albuminu s vodou za přítomnosti a nepřítomnosti dioxanu a izotermy absorpce vody a dioxanu na hovězí albumin. Experiment za pomoci infračervené spektroskopie pomohl navrhnout experimentální způsob izolace příspěvku z organického rozpouštědla na základě termodynamických a sorpčních vlastností hydratace proteinu v celém rozsahu aktivity vody [13].

Až doposud byla řeč o hydratačních procesech v molekulách. Pro příklad je níže uveden i případ, kdy se jedná o hydrataci membrány, v tomto případě lipidové dvojvrstvy.

Výzkum se týká dvojvrstvy nenasyčeného lipidu DOPC, pro který sestavily fázový diagram vědci Anne S. Ulrich, Malkit Sami a Anthony Watts ve vodných disperzích pomocí DSC. Pokryly rozsah hydratace od monohydrátu až po nadbytečnou volnou vodu. Zjistily, že teploty tání řetězce lipidů a teploty tání ledu jsou závislé na míře hydratace. Z těchto hodnot byla vypočítána termodynamická aktivita mezivrstvé vody a také kvantitativně stanoveny hydratační odpudivé síly [14].

4.2 Exkluzní zóny v blízkosti hydrofilních povrchů.

Molekuly vody sousedící s hydrofilním rozhraním jsou uspořádány do pravidelných a stabilních řad. Jeden z posledních výzkumů naznačuje, že určitý stupeň uspořádanosti může vystupovat z povrchu ve formě vrstev. Těchto vrstev molekul vody může být až několik milionů nad sebou. Roztoky koloidů různých velikostí jsou exkludovány od oblasti hydrofilního povrchu až do vzdálenosti několika milimetrů. Na základě toho poznatku, kdy exkludovány částice jsou zcela patrně na obr. 10, byla tato oblast pojmenována jako exkluzní zóna [15].



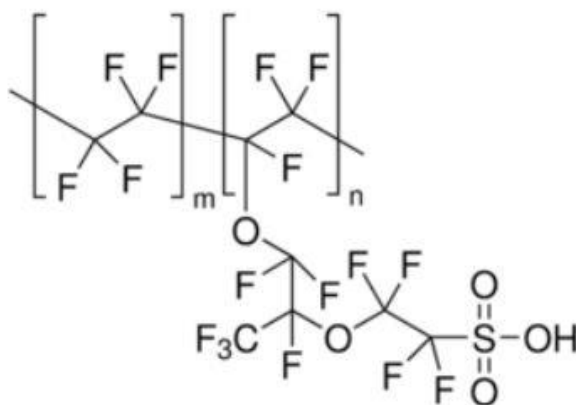
Obr. 10 Koloidní roztok v oblasti gelu polyakrylové kyseliny. [15]

Tato zóna se dá považovat za vysoce stabilní uspořádanou řadu. Můžeme se na ní dívat jako na kapalný krystal, ve kterém jsou molekuly více uspořádány než u kapaliny, ale méně než u pevné látky. Dá se uvažovat, že tyto tekuté krystaly budou mít tendenci růst do všech směrů jako u pevné látky, což je viditelné na Obr. 10 – exkluzní zóna rostla po celé délce gelu. Zóna se objevovala i u jiných polymerních struktur jako je například Nafion. Dokonce byla pozorována v blízkosti vláken svalů, ale na rozdíl od umělých gelů, zde zóna nebyla absolutní – byly přítomny nízké koncentrace dispergované látky [15].

4.2.1 Nafion

Při výzkumu exkluzních zón, byl tento polymer zařazen jako hlavní kvůli jeho interakcím s vodou a prokazatelnému vzniku exkluzních zón. Jeho základ je tvořen uhlíko-fluorovým skeletem s perfluorovanými postranními řetězci, které obsahují sulfonové skupiny, vyrobené z kopolymeru tetrafluoroethylenu a perfluorovaných monomerů. Sulfonové skupiny udělují hydrofilitu jinak hydrofobnímu povrchu [16] [17].

Výhodou nafionu v technických aplikacích je výjimečná stabilita fluoro-uhlíkového řetězce nabízející dlouhodobé nedegradující membrány. Sulfonové skupiny dávají tomuto skeletu schopnost sorbovat vodu a vyměňovat ionty. Z několika studií se došlo k závěru, že tyto skupiny nejsou rovnoměrně rozloženy v polymeru, ale shlukují se do menší nebo větších agregátů. Je to síť vzájemně propojených svazků bohatých na vodu, které umožňují transport protonu [17] [16].



Obr. 11 Molekulární struktura nafionu.

4.2.2 Vliv pufru na vznik EZ

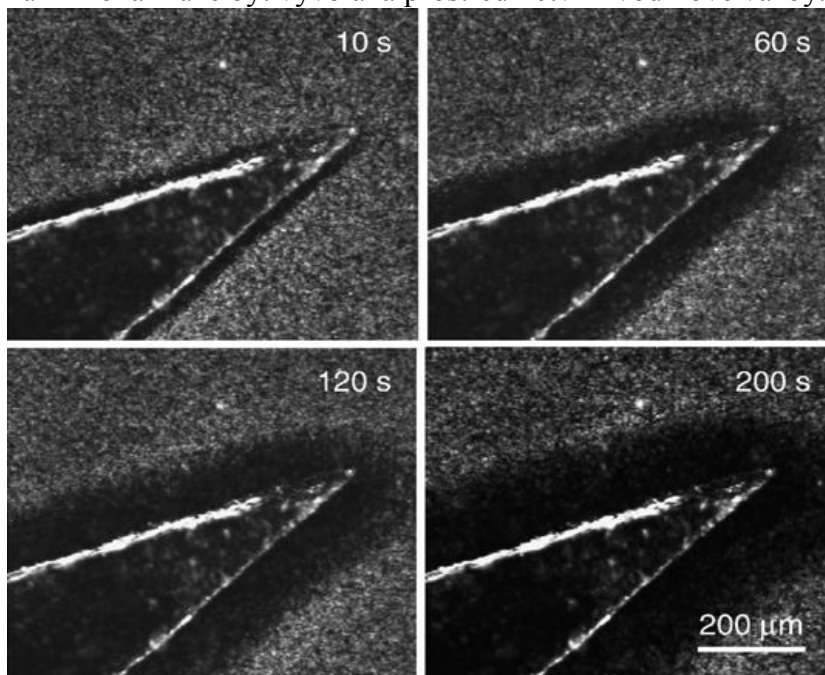
Je dokázáno, že pH má vliv na velikost EZ a s odkazem na tuto práci byl proveden pokus různými druhy pufrů.

Bylo zjištěno, že pufrы stabilizují EZ a dokonce jí dělají více robustní. Pokud v čisté vodě byla přítomna malá EZ a nebo dokonce vůbec žádná, tak i přidání malého množství pufru vyvolalo zvětšení EZ. Nejvíce patrné zkreslení se objevilo při nízkých koncentracích pufru, ale se zvýšením koncentrace byl opět prokázán stabilizační účinek pufru [18].

4.2.3 Rychlost vzniku exkluzní zóny

Na základě předpokladu růstu této zóny do všech vzdáleností od polymeru byl proveden pokus v závislosti rychlosti růstu na čase. Při studiu rychlosti vzniku EZ (viz.[16]) byl vložen vzorek Nafionu do disperzního roztoku. Dispergovaná látka se okamžitě vzdalovala od vzorku polymeru přibližnou rychlostí 2 $\mu\text{m/s}$. Během 10 minut zóna vzrostla po celé délce polymeru na 600 μm . Rozšiřování se zpomalovalo, až dosáhlo maximální velikosti a to 1 mm. Viditelný postup dispergované látky z časné fáze ukazuje obr. 12.

Tato metoda ukazuje, že pro proces vyloučení dispergované látky z exkluzní zóny nevyžaduje gel, ale pouze povrch s hydrofilními skupinami. Zdánlivý hydrofobní požadavek znamená, že exkluzní zóna může být vyvolána prostřednictvím vodíkové vazby.

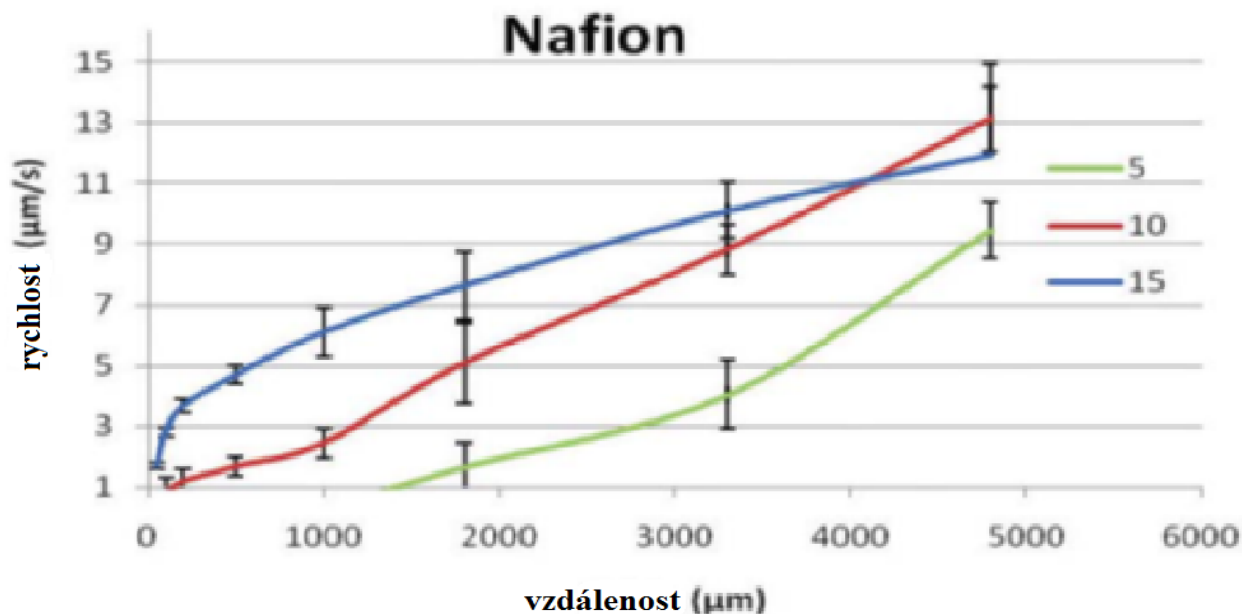


Obr. 12 *Závislost rychlosti zvětšování exkluzní zóny na čase.*

4.2.4 Viskozita vody v exkluzní zóně

Voda v exkluzní zóně, jakožto kapalný krystal, by měla mít díky své soudržnosti větší viskozitu než obyčejná voda.

Při použití viskozimetru, u kterého byl proužek nafionu nalepen na dno experimentální nádoby. Tato nádoba byla následně naplněna vodou. Díky kuličkám padajícím k nafionu se dala pozorovat rychlost jejich přibližování se k nafionu. Při vzdálenosti 15 a 10 μm od nafionu bylo zjištěno mírné zpomalení. Nejvýraznější zpomalení nastalo při vzdálenosti 5 μm od nafionu, což je viditelné na obr. 13 [15]. Při vypočítání viskozity z rychlosti padání je patrné, že čím blíže jsme k povrchu nafionu, tím větší je viskozita.



Obr. 13 Závislost rychlosti padání kuliček na vzdálenosti od nafionu. [15]

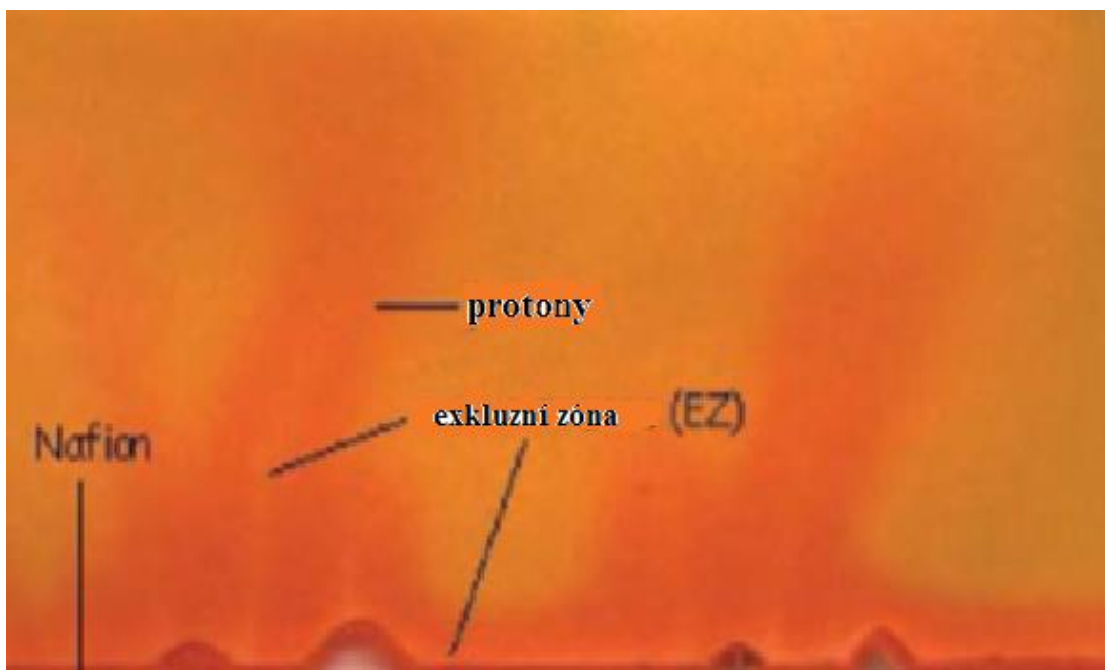
4.2.5 Elektrický potenciál a pH v exkluzní zóně

Významný poznatek u exkluzní zóny je její negativní elektrický potenciál. Nejvíce negativní je u hydrofilního povrchu a postupně se zmenšuje s přibližováním se k hranici exkluzní zóny a vody. Důsledkem tohoto negativního potenciálu může být přítomnost záporného náboje v této zóně. Proti tomu náboji by měl existovat opačný náboj, který by mohl být uschován v nevázaných protonech vody nebo přítomen v nafionu [15] [19].

V jiném experimentu, kdy cílem bylo potvrdit změnu potenciálu, byla referenční elektroda umístěná mimo exkluzní zónu, zatímco špička mikroelektrody byla přibližována k povrchu gelu. Se špičkou mimo exkluzní zónu byl naměřen nulový potenciál. S přibližováním se k povrchu gelu, byl registrován negativní potenciál. V případě gelu polyakrylové kyseliny byl tento potenciál přibližně -120 mV a v případě nafionu přibližně -150 mV. Tyto potenciály byly změřeny pouze v exkluzní zóně, mimo zóny byly nulové [15] [19] [20].

Trvalý potenciálový přechod je možný, pouze pokud není přítomen volný náboj zodpovědný za změnu potenciálu. Z tohoto důvodu se zdají být molekuly vody uvnitř exkluzní vrstvy stabilní. [19] [15].

Navázáním na experiment s elektrickým potenciálem a s předpokládaným nadbytkem nevázaných protonů, bylo použito univerzální indikátorové pH barvivo. Z pozorování se zdá pravděpodobnější, že volné protony pocházejí spíše z vody v exkluzní zóně než z nafionu. Na obr. 14 jsou viditelné vertikálně postavené červené zóny (větší koncentrace protonů), dokazující, že větší část protonu pochází z vody [15] [19].



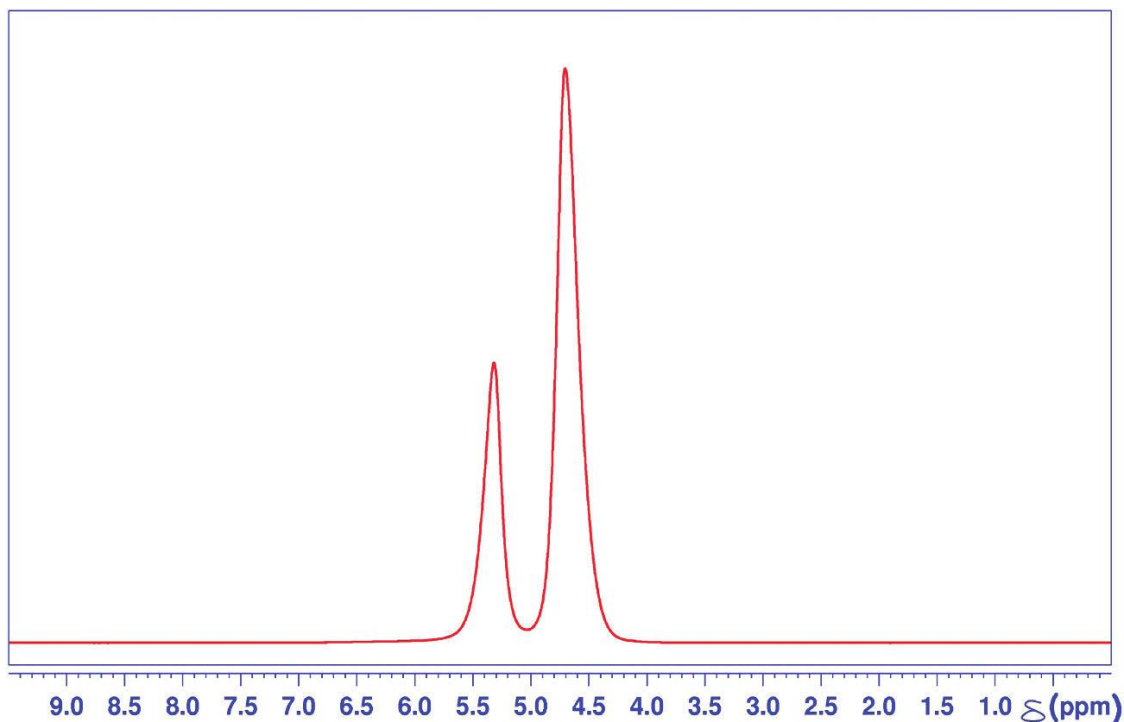
Obr. 14 Exkluzní zóna v blízkosti nafionu s optimálním pH barvivem.[15]

V souvislosti s experimentem s pH barvivem hodnota pH rychle se vzdáleností od nafionu klesala. Ve vzdálenosti 1 mm od nafionu byl pokles pH trojnásobný, což představuje 1000 krát větší nárůst koncentrace protonů. Ve všech měřených vzdálenostech bylo změřeno menší pH než v originální vodě, hodnoty byly podobné z důvodu nastávající difuze. Tento výsledek se velice podobá experimentu s barvivem. [19] [15].

4.3 Využití spektroskopických metod při studiu struktury exkluzní zóny

Technika nukleární magnetické rezonance (NMR) je vhodná pro stanovení chemického složení a prostředí ve vodných systémech. Zvláště úspěšné se ukázalo měření chemického posunu, relaxace a autodifúze při snímání mezifázové struktury vody v blízkosti různých polymerních a biologických povrchů.

Nejpozoruhodnější zjištěním této studie bylo, že v kapkách suspenzí nebyla zaznamenána přítomnost vody, při měření relaxace a autodifúze. Absorbovaná voda v blízkosti Nafionu se ukázala být anizotropická z důvodu omezené geometrie polymeru.

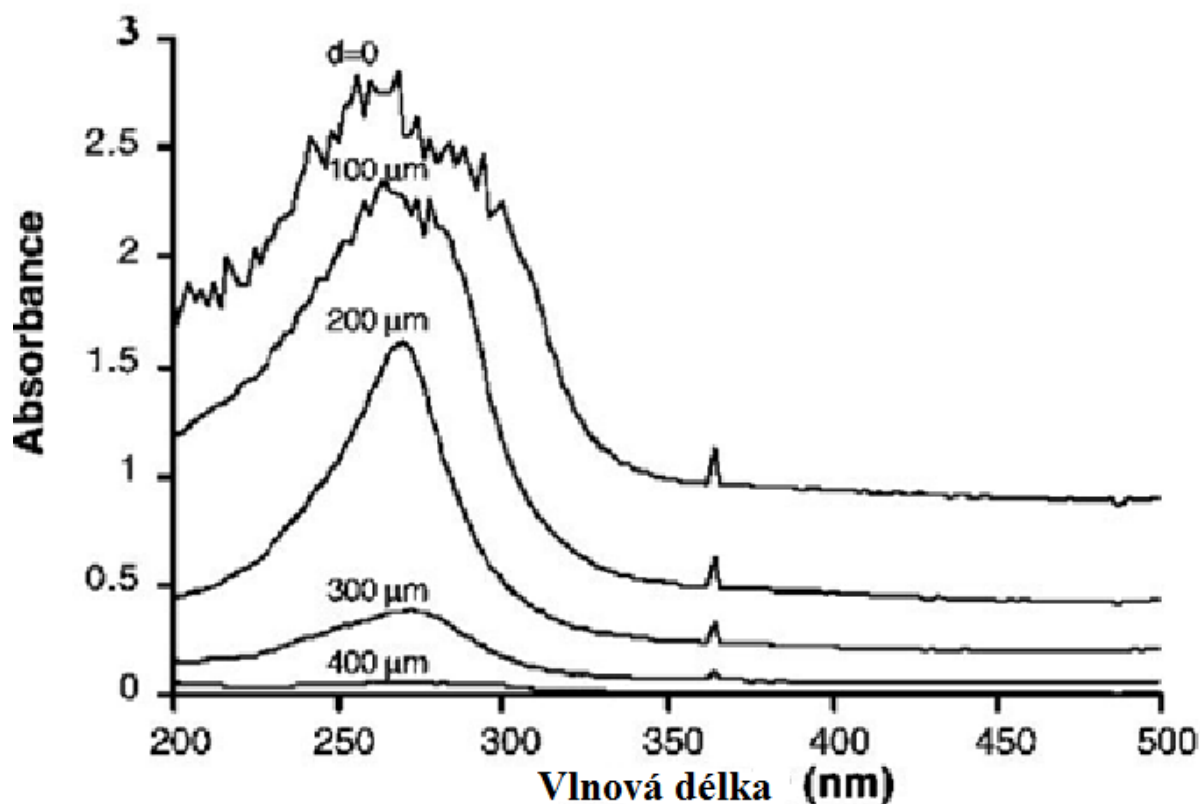


Obr. 15 *NMR spektrum vody v blízkosti nafionu.* [21]

Na obr. 15 je viditelné 1D ¹H NMR spektrum systému nafionu a vody. Jsou zde viditelné dvě protonové rezonance, přičemž každá odpovídá vnitřní a meziprostorové vodě.

Z toho experimentu je výsledkem, že chemický posun poskytuje jedinečnou strukturální identifikaci molekuly, nevykazuje však možnou existenci mezimolekulárních interakcí. I když se chemický posun z exkluzní zóny liší od vody mimo zónu minimálně, tak hodnoty T1 relaxace a autodifúze jsou jasnými indikátory potvrzující dosavadní známé charakteristiky exkluzní zóny. Tato studie také zdůrazňuje organizační a dynamickou složitost vody v blízkosti hydrofilních povrchů [21].

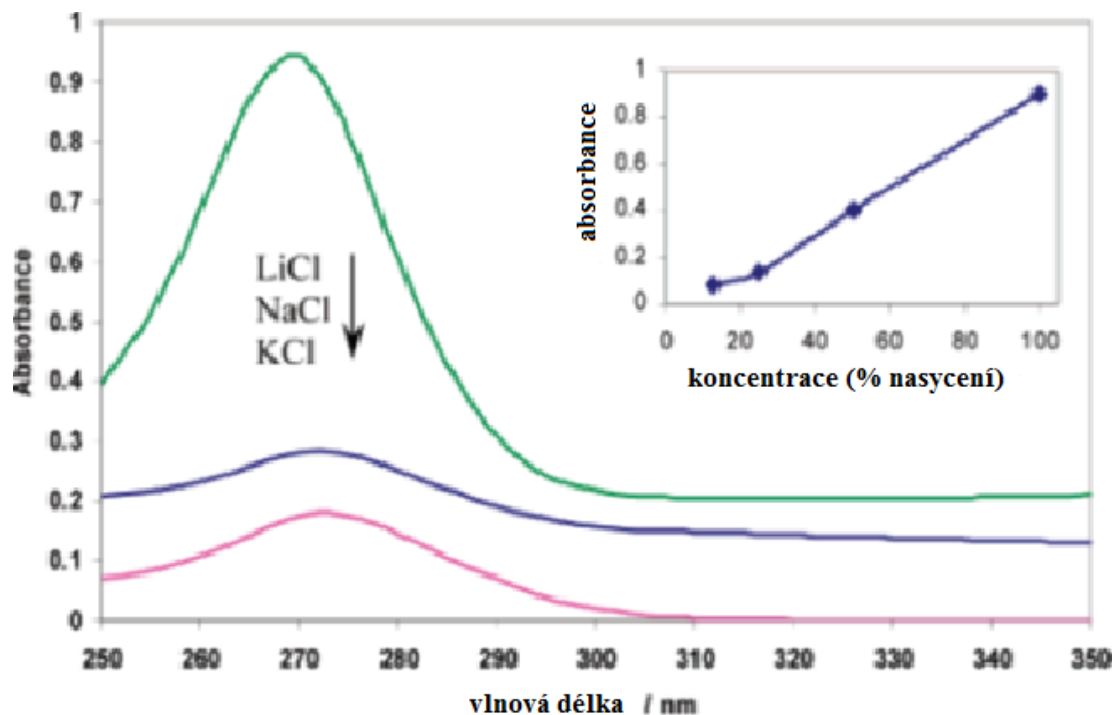
Voda v blízkosti hydrofilních povrchů má typické absorpční spektrum při UV- VIS spektroskopii. Ve větší vzdálenosti od povrchu nafionu byly absorpční křivky ploché nebo bez výraznějších píků. S klesající vzdáleností od nafionu se začal objevovat pík při přibližně 270 nm. Intenzita rostla s přibližováním se k nafionu. Toto spektrum je viditelné na Obr. 16 [22].



Obr. 16 Absorpční spektrum, závislost absorbance na vzdálenosti od nafionu. [22]

V jiné ze svých prací se Dr. Pollack zabýval možností ovlivnění toho spektra nasycenými solemi některých sloučenin. Byly měřeny absorpční spektra nasycených roztoků chloridu sodného, chloridu draselného a chloridu litného, při pH 7. NaCl a KCl ukazují jemné píky v blízkosti 270 nm. Nejnižší koncentrace, při níž bylo možné tyto píky detekovat, byla přibližně 1 M, což zhruba odpovídá 50-60 molekulám vody na jednu molekulu soli. Obr. 17 ukazuje průběh absorpčních spekter [22].

Pokusy byly prováděny i s nasycenými roztoky KI a NaI. Tyto soli ukázaly jasné píky při 270 nm, tím je vyvráceno, že absorpční pík je spojen s Cl^-



Obr. 17 Závislost absorpance na vlnové délce v přítomnosti elektrolytů. [22]

Při absorpci UV- viditelných fotonů dochází k přechodu elektronu na vyšší energetickou hladinu, návrat do základního stavu je doprovázen vyzářením emise známí jako fluorescence.

Fluorescence je velice citlivá na kontaminaci ze strany všudypřítomných stopových organických chemikálií. Mezi ně patří aromatické organické sloučeniny, ale i suspendované částice, jako je například prach.

Počáteční měření byla prováděná přímo v exkluzní zóně. Emisní vrchol se pohyboval v závislosti na vzdálenosti od povrchu nafionu, zůstal ale trvale mezi 400 – 500 nm. Jako u jiných předešlých měření intenzita rostla s přibližujícím se excitačním paprskem směrem k nafionu. Obecně byla intenzita poměrně nízká. U solí se vrchol pohyboval mezi 480 až 490 nm, ale intezity byly opět slabší. To znamená, že v těchto roztocích se vyskytovala pouze jedna fáze uspořádané vody. Naopak u látek jako je nafion, D – alanin, D – glukóza a sacharóza se vyskytovaly větší výchylky spekter. Toto ukazuje na jistý strukturální polymorfismus – mohou vykazovat různé krystalické struktury.

Vzhledem k těmto výsledkům můžeme usoudit, že při UV záření alespoň část absorbované energie je přeměna na fluorescenci [22].

Problémem u předešlých studií jako je například NMR, je rozšířit tuto studii z *in vitro* do živých buněk. Většina technických metod je nekompatibilní s živými buňkami nebo nejsou schopny poskytnout dostatečně odpovídající detekci. Tento problém byl vyřešen pomocí Ramanovy mikrospektroskopie, která je kompatibilní s měřením v živých buňkách a zároveň dokáže poskytnout dostatečné informace o struktuře vody [23].

Proto byla Ramanova mikrospektroskopie použita při studiu intracelulárních struktur vody v živých kvasinkách. Pokusy byly prováděny na membráně Nafionu , která byla plně navlhčena H₂O a D₂O. Výsledky měření Ramanova rozptylu H⁺ a D⁺ nafionu, ukazují, že prakticky všechny molekuly vody se podílejí na vodíkové vazbě [17].

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie

- Nafion, Sigma Aldrich
- deionizovaná voda
- chlorid sodný, Lach-Ner
- silikagel, penta
- dusičnan draselný, Fluka
- pentahydrát síranu měďnatého, Penta
- PHB, poskytnutý pracovníky ÚCHPBT

5.2 Použité přístroje

- analytické váhy, Scaltec
- vysoušecí váhy, Denver instrument
- modulární mikrok calorimetr TAM III
- termogravimetrický analyzátor TGA Q5000

5.3 Termické charakterizace exkluzní zóny

5.3.1 Analyzátor vlhkosti

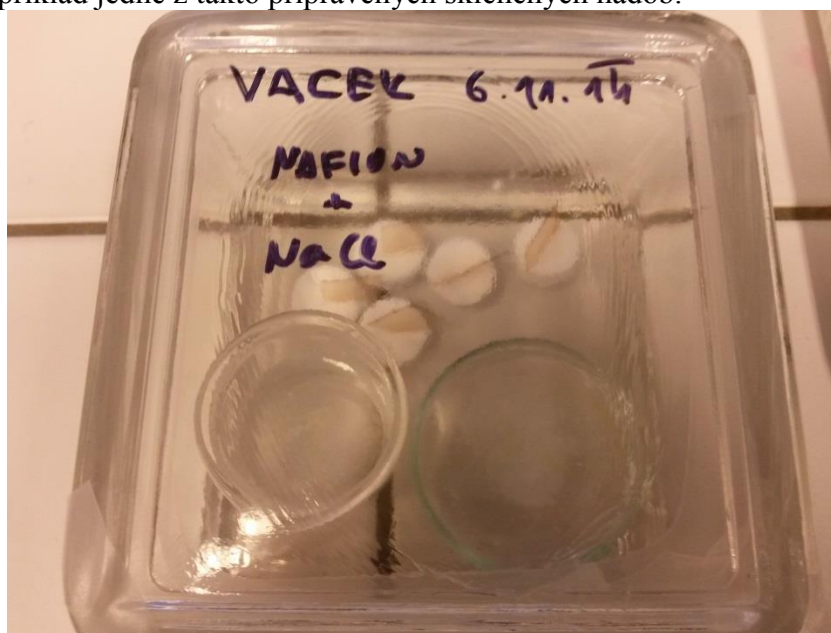
Pomocí této metody bylo zjišťováno, zda dochází k rozdílu, při vypařování deionizované vody. Prvně bez přítomnosti nafionu a poté v přítomnosti nafionu a PHB. Vzorky nafionu a PHB byly odstříženy z folie tak, aby co nejvíce možně zakrývaly dno vialky a zváženy na analytických vahách. Měření probíhalo na analyzátoru vlhkosti při 110 °C, při zapisování hmotnosti vzorku po 30 s, po dobu 99 minut. Na začátku měření bylo do čisté vialky, pomocí mikropipety přidáno 2 ml deionizované vody a to jak v případě bez Nafionu a PHB tak i s Nafionem a PHB. Všechny experimenty byly pro věrohodnost pět krát zopakovány.



Obr. 18 Použitý analyzátor vlhkosti.

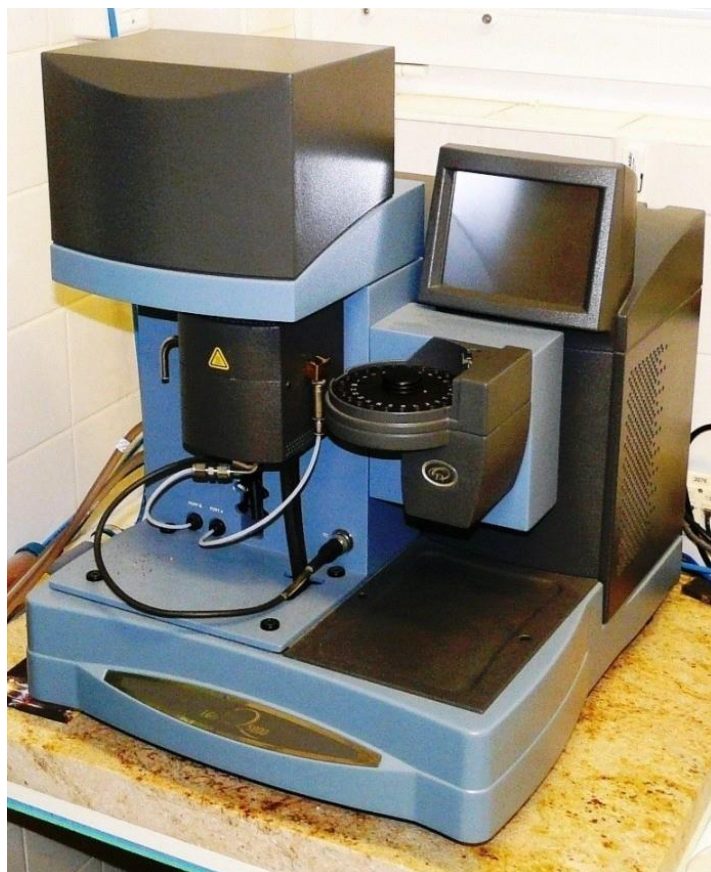
5.3.2 Termogravimetrická analýza

Pro tuto metodu bylo nejprve potřeba připravit vzorky nafionu v řízených atmosférách o různých vlhkostech, pro nasorbování určitého množství vody z plynné fáze na povrch nafionu. K tomuto účelu byly připraveny nasycené roztoky sloučenin NaCl (75% rel. vlhkost), KNO₃ (92,3% rel. vlhkost), CuSO₄·5H₂O (98% rel. vlhkost). Dále byl ještě použit siligagel (0% rel. vlhkost) a deionizovaná voda (100% rel. vlhkost). Do skleněných nádob byly umístěny vzorky nafionu o velikosti cca 2 cm², které byly upevněné v polystyrénovém kruhovému podstavci. K nim byly přidány Petriho misky a kádinky s připravenými roztoky. Všech pět skleněných nádob bylo pečlivě uzavřeno a utěsněno parafilmem. Pro ilustraci je na Obr. 19 vidět příklad jedné z takto připravených skleněných nádob.



Obr. 19 *Připravená řízená atmosféra se vzorky nafionu.*

Pro obě měření bylo naváženo 8–11 mg vzorku na analytických vahách. První způsob měření proběhl rychlostí ohřevu 5 °C/min v teplotním rozsahu z laboratorní teploty (25 °C) až na 250 °C. Druhý způsob měření proběhl zahřátím vzorku na 110 °C po dobu 90 minut. Obě měření probíhaly v atmosféře N₂ a na přístroji termogravimetrický analyzátor TGA Q5000. Výsledky byly vyhodnoceny v programu TA Universal Analysis 2000.



Obr. 20 *Termogravimetrický analyzátor TGA Q5000.*

5.3.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Měřené vzorky pro tuto metodu byly připraveny stejným způsobem jako v kapitole 4.3.2. Pro měření bylo naváženo 5–8 mg vzorku na analytických vahách. První krokem bylo mrznutí, kdy rychlost byla nastavena na 2 °C/min až na teplotu –70 °C, na které byl vzorek po dobu jedné minuty ponechán. Druhý krokem, navazující na první, bylo zahřívání probíhající rychlostí ohřevu 2 °C/min až na teplotu 40 °C. Výsledky byly vyhodnoceny v programu TA Universal Analysis 2000.

5.3.4 Izotermická titrační kalorimetrie

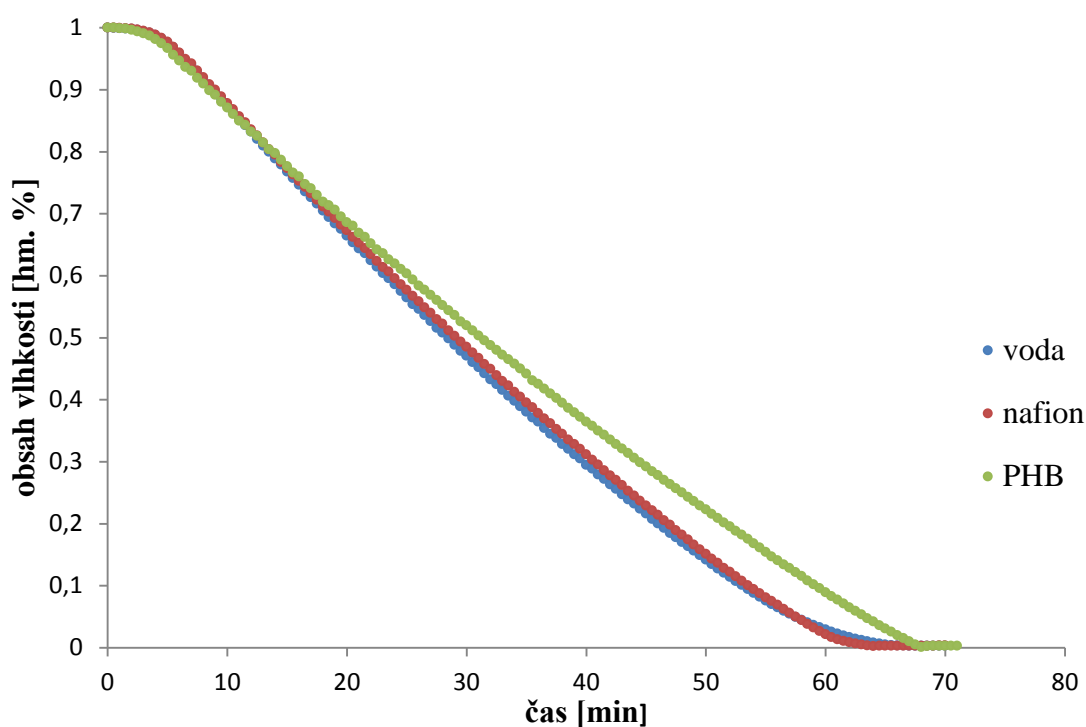
Měřené vzorky pro tuto metodu byly připraveny stejným způsobem jako v kapitole 4.3.2. Pro měření byl uštířen malý kousek nařionu a vložen do měřené cely. Na začátku probíhala po určitou dobu kalibrace. Po uplynutí této doby bylo ke vzorku přidáno 250 µl deionizované vody. Měření probíhalo po dobu jedné hodiny.

6. VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Sledování průběhu vysoušení vody od různých povrchů pomocí analyzátoru vlhkosti.

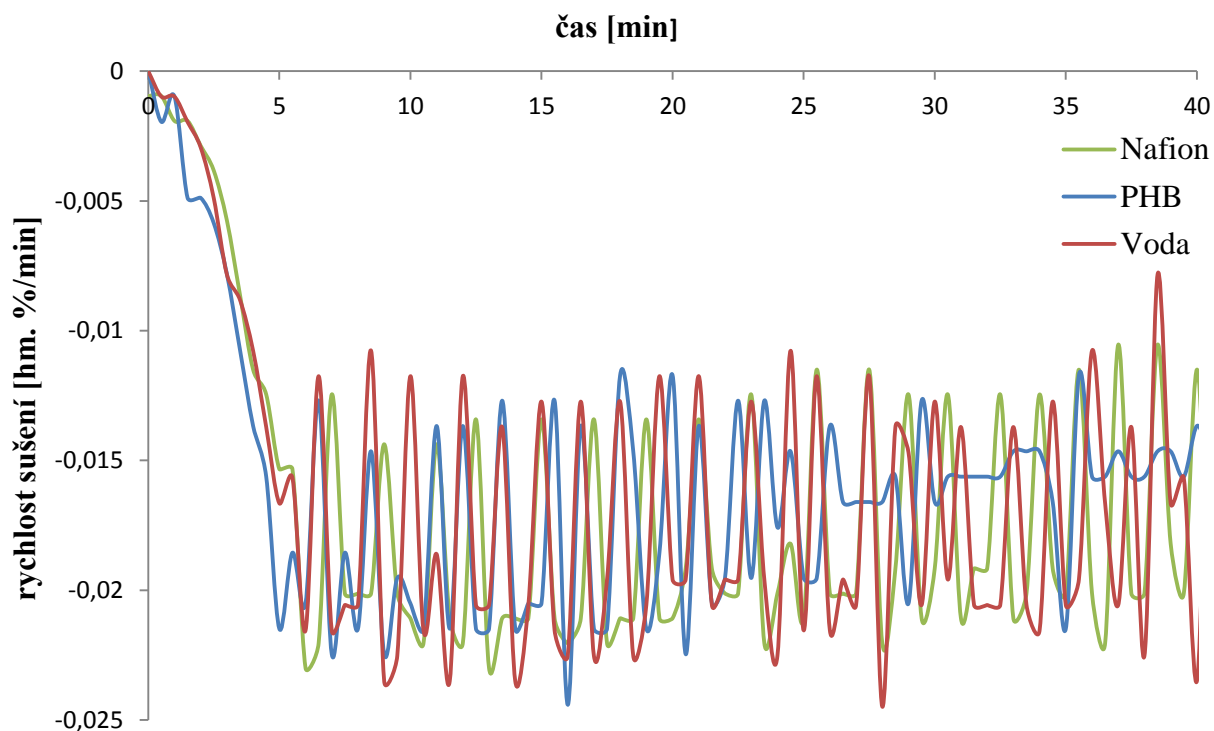
Jak již bylo podotknuto, voda v blízkosti hydrofilních povrchů jeví jisté anomálie, které nejsou zcela objasněny, ale víme, že se voda v této podobě zdá být více strukturovaná a tím pádem odlišná od normální masy vody. Proto se dá usoudit, že při vysoušení bude docházet k jistým interakcím, které zabrání této více vázané vodě přejít do plynné fáze. Toto by mělo být, z důvodu našeho předchozího předpokladu, viditelné na průběhu vysoušecí křivky.

Na začátku bylo nejdříve potřeba optimalizovat tuto metodu. Byly zkoušeny pokusy, jaké množství vody a jakou teplotu zvolit pro vysoušení. Nejprve byla zvolena teplota 80 °C a množství vody 2 ml. Tato teplota se ukázala jako nedostačující, protože nezbyl dostatečný čas po vysoušení celého objemu vody. Tato časová rezerva byla potřeba ponechat z důvodu našeho předpoklad ohledně interakcí vody s hydrofilním povrchem. Z toho důvodu byla teplota zvýšena na 110 °C a pokus zopakován s uspokojujícím výsledkem. Měření se všemi vzorky byly provedeny pětkrát, ale z důvodu přehlednosti (všechny opakování vykazovaly prakticky totožný průběh) jsou na grafech v této kapitole ilustrovány závislosti vždy pro jedno vybrané opakování.



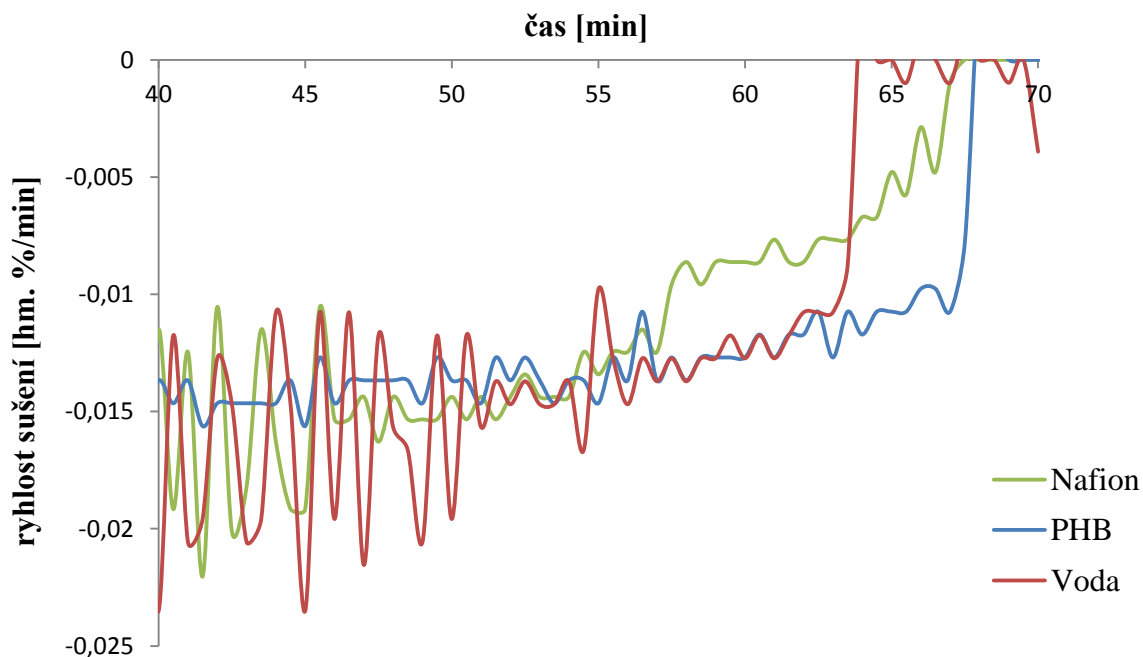
Obr. 21 Závislost obsahu vlhkosti na čase.

Jak lze vidět na Obr. 21 sušící křivky se od sebe takřka neliší a nelze tak říci, jestli voda nějakým způsobem interaguje s povrchem. Proto bylo potřeba s daty dále pracovat a vypočítat první derivaci obsahu vlhkosti na čase a vynést závislost na čase. Tímto způsobem jsme získali křivku rychlosti sušení z naměřené sušící křivky.



Obr. 22 *Závislost rychlosti sušení na čase, časový interval (0 – 40 min).*

Na základě úpravy dat a vynesení závislost rychlosti sušení na čase byla získána křivka rychlosti sušení Obr. 22. Z těchto křivek můžeme je patrné, že při sušení v intervalu od 0 s po dobu přibližně 45 minut, nejsou nijak markantní rozdíly při rychlosti sušení. V této době se nejspíše vysoušela stále nevázaná (volná) voda.



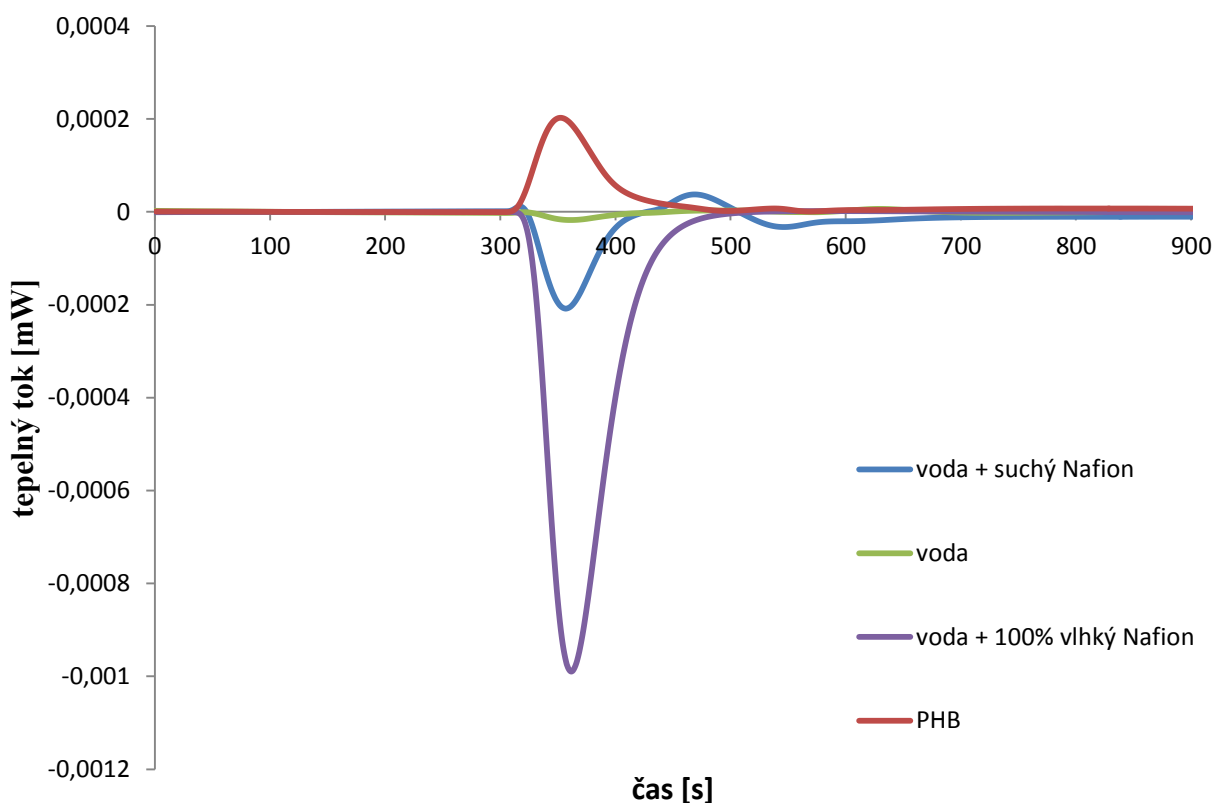
Obr. 23 *Detail závislosti rychlosti sušení na čase. Interval od 40 do 70 min.*

Z detailního pohledu na Obr. 23, zjistíme, že průběhy těchto křivek se liší a to velice podstatně. Pokud si vezme křivky s vodou a PHB, u kterých předpokládáme minimální, případně žádné interakce mezi hydrofobním povrchem PHB a vodou v jeho kontaktu, které by ovlivňovaly průběh sušení, zjistíme, že se nám plně shodují v celém úseku sušení. Dokud je přítomna voda, sušení probíhá konstantní rychlostí. Přibližně v 64. minutě (u vody) a 68. minutě (u PHB) můžeme vidět rapidní skok na nulovou hodnotu, který nám značí, že všechna voda byla vysušena a že se nám zde nenachází jiná než volná voda. To znamená, že podle předpokladu nedochází k žádné markantní interakci s povrchem PHB.

Naopak z rychlosti sušení Nafionu je viditelné, že se tato křivka výrazně liší. Na rozdíl od samostatné vody a PHB nemá razantní skok na nulovou hodnotu, ale přibližně v 54. Minutě začne pozvolna klesat až na nulovou hodnotu. Rychlost sušení vody se tedy z konstantní hodnoty, odpovídající sušení volné vody, která není v kontaktu s povrchem Nafionu (v anglické literatuře trefně označováno jako tzv. „bulk“ voda), postupně snižuje přes mezistavy s nižší rychlostí sušení až na nulovou hodnotu odpovídající kompletně vysušenému vzorku. Z toho lze usuzovat, že nám voda interaguje s povrchem Nafionu a vytváří tak pevněji vázanou vodu, která potřebuje více energie potřebné na přetrhání vazeb a uvolnění se tak ve formě páry.

6.2 Využití izotermické titrační kalorimetrie pro studium smáčení povrchů

Výsledky přechozího pokusu naznačily, že voda s PHB, jako hydrofobní povrchem, nijak neinteraguje, aspoň z hlediska rychlosti sušení, ale i tak byl zařazen do dalšího pokusu z důvodu porovnání s hydrofilním povrchem. Nafion nám naopak ukázal jeho významnost jako hydrofilního povrchu a poskytl zajímavé výsledky interakce s vodou. Proto dalším předmětem zkoumání bylo posoudit tepelné zbarvení interakce vody s oběma modelovými povrchy, jestli je tato interakce spojena s uvolněním (exotermická interakce) či spotřebováním tepla (endotermická interakce). K tomuto účelu nám posloužila ITC jako ideální metoda pro zjištění těchto dějů.



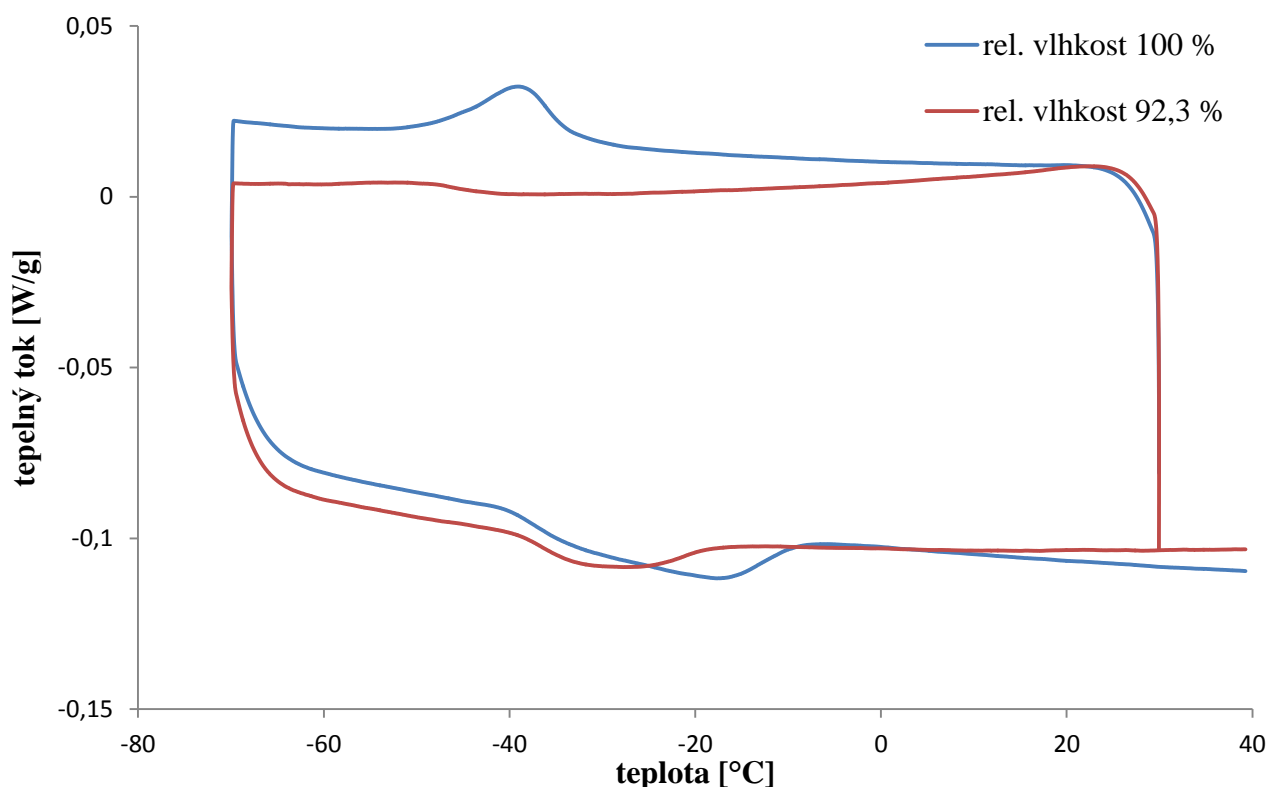
Obr. 24 Závislost tepelného toku na čase. Výstup z techniky ITC.

Na obr. 24 je vidět časový průběh reakcí PHB a Nafionu s vodou při přidání 250 μ l deionizované vody (pro přesné určení základní linie byl přídavek vody injektován v čase 300 s). Pokud byla voda injektována do prázdné měřicí cely, byl zde zaznamenán minimální pík spojený s endotermní reakcí, to mohlo být způsobeno nečistotou či interakcí s povrchem cely. Pík PHB je jako jediný spojený s exotermní reakcí. To je zřejmě spojeno se vznikem klatrátových útvarů vody v blízkosti hydrofobního povrchu. V případě, kdy Nafion byl předem připravený v řízené atmosféře se 100 % relativní vlhkostí, ukazuje endotermní pík, který je až čtyřikrát větší než opačný pík PHB. Pokud se však pozorně podíváme na pík suchého Nafionu, zjistíme, že zde není pouze jeden pík, ale jejich zde hned několik. Tyto píky mají charakter jak exotermní, tak endotermní a navíc nejsou detekovány pouze v okamžiku přidání vody, ale ještě několik minut po přidání.

Z experimentu Dr. Geralda Pollacka vyplývá, že exkluzní zóna nevzniká v jeden okamžik, ale vytváří se po dobu několika stovek vteřin. Na základě toho předpokladu, může být reakce suchého spojena s vrstev strukturované vody, zodpovědných za vznik exkluzní zóny.

6.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Při této metodě je vzorek podroben lineárnímu ohřevu nebo chlazení, což je spojeno s charakteristickou změnou tepelného toku úměrnou měrnému teplu právě probíhajícího tepelně zabarveného děje. Díky tomuto můžeme získat charakteristické teploty tání, skelného přechodu, krystalizace a jiné.



Obr. 25 Závislost tepelného toku na teplotě. Pro vzorky Nafionu hydratované v různé atmosféře.

Na Obr. 25 je viditelný průběh mrznutí a následného zahřívání vzorků Nafionu, které byly hydratovány z řízené atmosféry o 100 % a 92,3 % relativní vlhkosti (příprava vzorků blíže popsána v kapitole 4.3.2). U ostatních atmosfér s nižší rel. vlhkostí nebyly v průběhu experimentu detekovány charakteristické píky krystalizace resp. tání, nejspíše z důvodu nízkého obsahu nasorbované vody a nedostatečné citlivosti DSC.

Pokud se podíváme na průběh křivky pro vzorek Nafionu hydratovaný z atmosféry se 100 % rel. vlhkosti, je v první fázi (mrznutí) viditelný pík přibližně v $-38,6$ °C, který je spojen s fázovým přechodem prvního řádu, konkrétně krystalizací. Tento přechod je charakterizován změnou vnitřní energie a měrného objemu a dá předpokládat při zmrznutí volné masy vody. U rel. vlhkosti 92,3 % je tento pík méně výrazný a také mírně posunut k nižším teplotám. Avšak při detailnějším pohledu se spíše jedná o skok než-li o pík, který může být přiřazen fázovému přechodu druhého řádu. Při tomto přechodu se obvykle nemění

měrný objem látky, látka nepřijímá ani neodevzdává teplo, pouze se mění skokem charakteristické veličiny. Pro vodu je skelný přechod prakticky nedosažitelný, proto může tento pík dokazovat přítomnost více vázané a uspořádané vody. Dá se předpokládat, že i malé množství této vody bylo přítomno u vzorku se 100 % rel. vlhkostí, ale bylo zastíněno přítomností většího množství volné vody a tím pádem píkem krystalizace.

Při zahřívání, se podle očekávání objevil jasně zřetelný pík u 100% rel. vlhkosti pro endotermickou změnu a to tzv. tání. Zajímavé však je překrytí dvou píku u 93,2 % rel. vlhkosti. Už na základě posunu teploty tání k nižším respektive k vyšším teplotám, můžeme rozlišit dva typy různě silně vázaných vod. Méně jednoznačné je pak to, která voda je více vázaná a která méně. Pokud by první pík (nižší teplota) byl spjat se slaběji vázanou vodou a druhý pík se silněji vázanou vodou, znamenalo by to, že hydrofilní povrch stabilizuje strukturu silněji vázané vody a tím pádem je potřeba více energie na rozkmitání a porušení vazeb. Na druhou stranu je klidně možné, že je tomu právě naopak a hydrofilní povrch by mohl jistým způsobem narušovat vazby a tím pádem je zeslabit na tolik, že by byly slabší než ve vodě slaběji vázané.

6.4 Termogravimetrická analýza

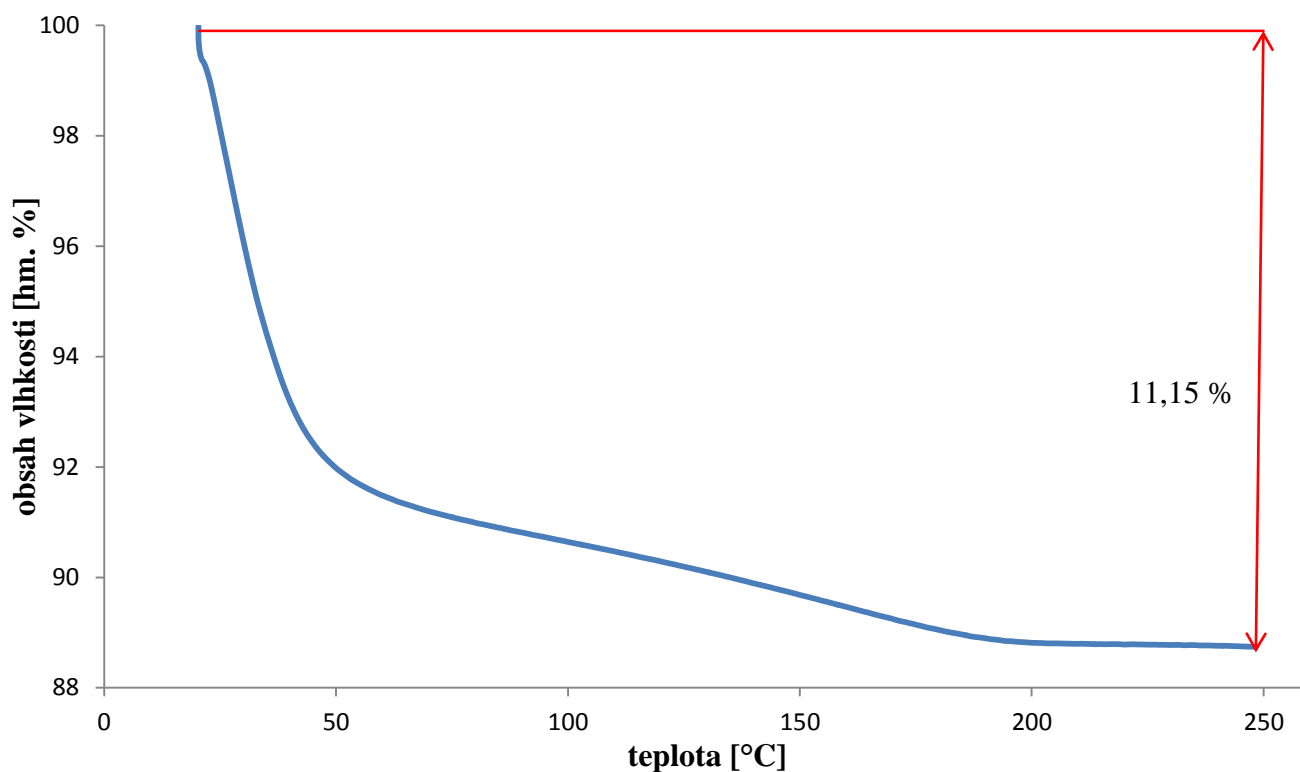
Z hlediska termické analýzy je tato metoda sice nejjednodušší, ale zároveň i nejdůležitější. Dokáže analyzovat široké spektrum vzorků od anorganických materiálů až po biologické molekuly. V tomto případě byla tato metoda použita na zjištění množství sorbované vody a odlišení typu navázané vody.

6.4.1 Termogravimetrická analýza s konstantní rychlostí ohřevu

6.4.1.1 Hydratace Nafionu

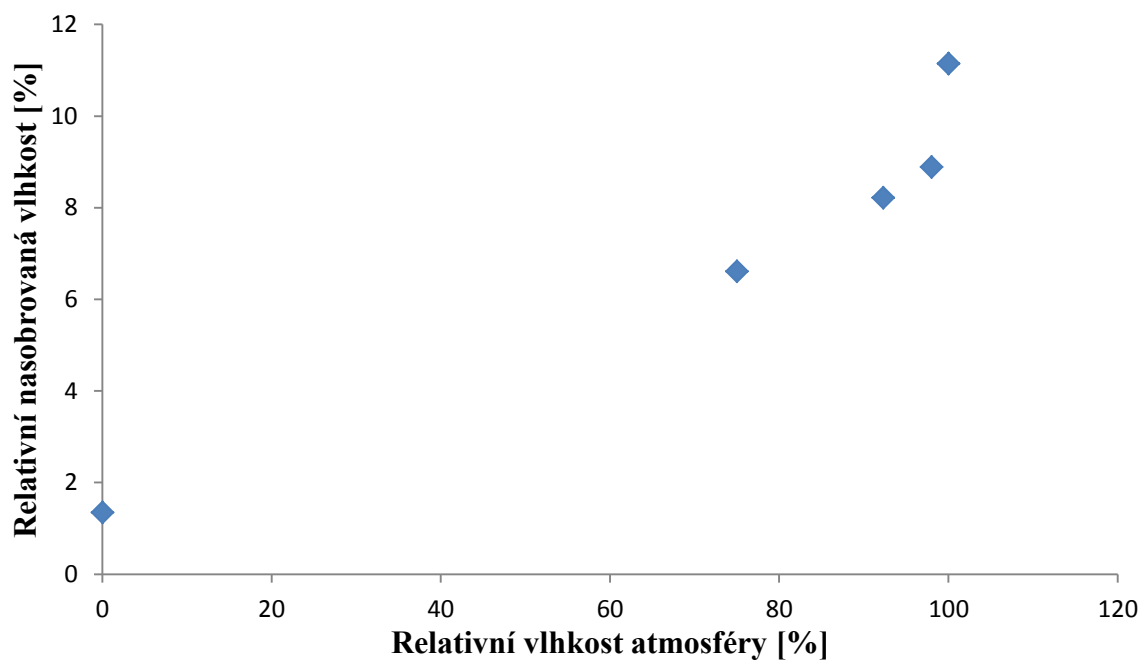
Při tomto experimentu byla zkoumána hydratace povrchu Nafionu. Nebyl zde využit PHB, protože z přechodných studií bylo známo, že se tento povrch nijak nehydratuje, tudíž by bylo zbytečné, pokoušet se sorbovat nějaké množství vody na jeho povrch.

Kvůli tomuto účelu byly připraveny atmosféry o definované relativní vlhkosti, jak již bylo popsáno výše, ve kterých docházelo k rovnoměrnému sorbování vlhkosti na povrch Nafionu.



Obr. 26 Závislost procentuálního úbytku hmotnosti na teplotě. Rozdíl mezi původní hmotností a konečnou.

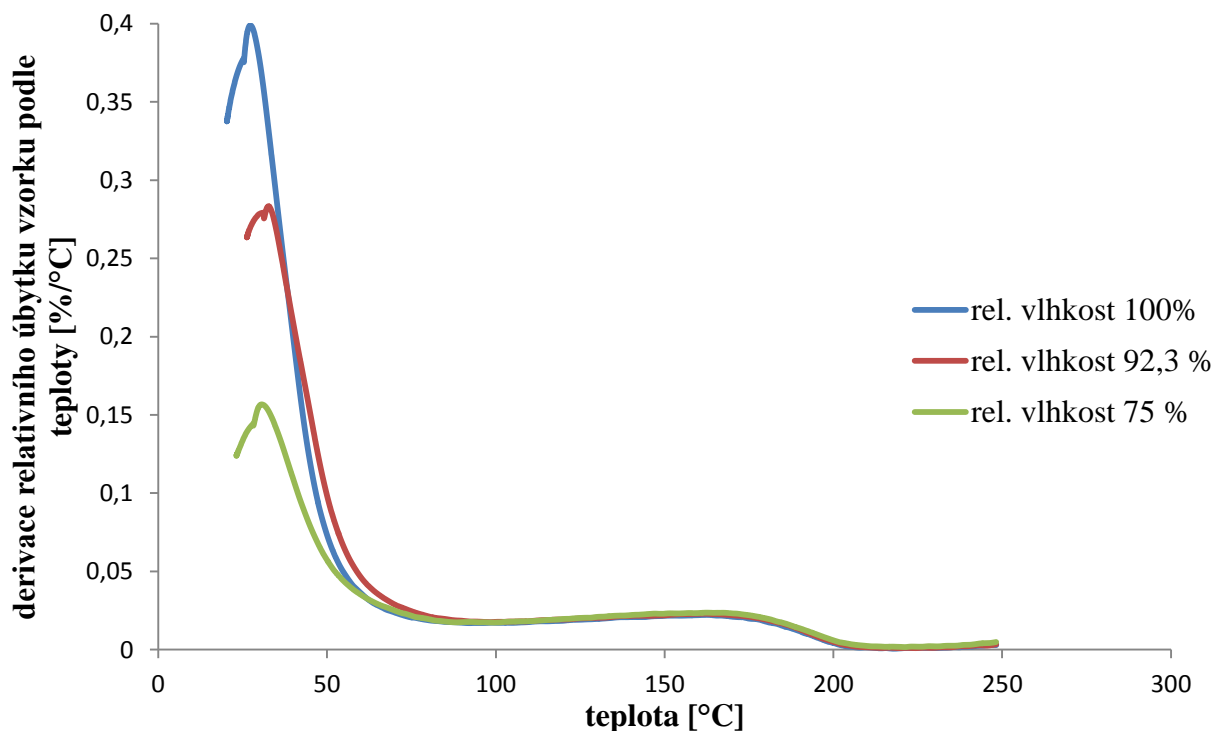
Na Obr. 26 můžeme vidět jednoduchou metodu, kterou bylo zjištěno množství vody, které se nasorbovalo na povrch Nafionu. Je zde uveden pouze příklad atmosféry se 100 % relativní vlhkostí, protože u všech ostatních křivky vykazovaly analogický průběh. Byla porovnána hmotnost vzorku na začátku experimentu a poté na konci a zjištěn její procentuální rozdíl. Tato hodnota byla použita pro vynesení sorpční izotermy.



Obr. 27 *Sorpční izoterma hydratace Nafionu v atmosférách s určitou relativní vlhkostí.*

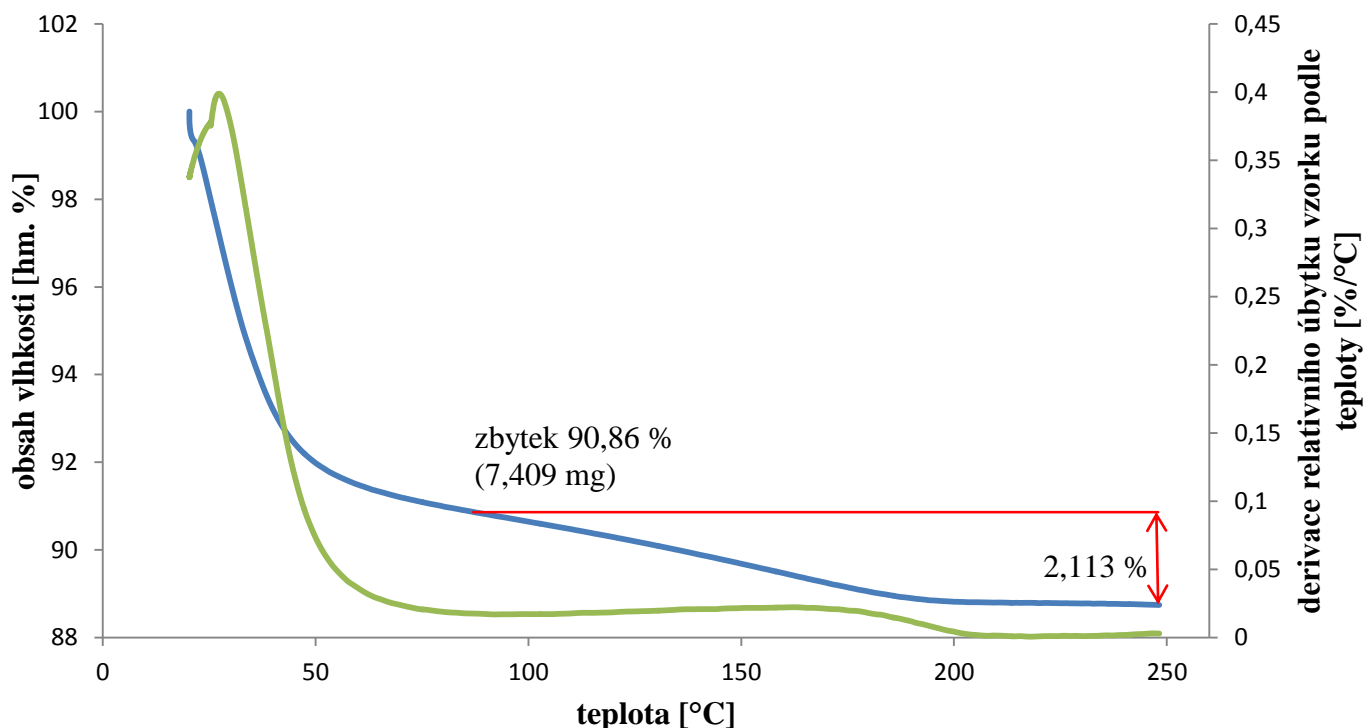
Na obr. 27 lze vidět, že se zvyšující se relativní vlhkostí dané atmosféry se zvyšuje i množství nasorbované vody na Nafion. Můžeme si všimnout, že i Nafion v atmosféře se silikagelem nasorboval určité množství vody konkrétně 1,3 % relativní vlhkosti. To mohlo být způsobeno manipulací vzorku po vyjmutí ze sorpční atmosféry (např. při přenosu vzorku ze skleněné nádoby do měřicí cely, kdy mohlo dojít k sorpci okolní atmosféry). Také lze pozorovat, že relativní vlhkost vzorku roste s relativní vlhkostí atmosféry prakticky lineárně, pouze u 100 % rel. vlhkosti je nárůst vyšší než by odpovídal tomuto trendu.

Celkový obsah vlhkosti ve vzorku ovšem není jedinou cennou informací, kterou tato metoda poskytuje. Z teplotní závislosti derivace relativního úbytku vzorku podle teploty můžeme odlišit jednotlivé separátní děje, které v průběhu zahřívání vzorek podstupuje. Takto je hypoteticky možné rozlišit různé pevně vázané vody, u nichž se dá předpokládat, že budou podléhat odpaření při různých teplotách, a také, při jaké teplotě se tyto jednotlivé formy vody odpařují.



Obr. 28 *Závislost derivace relativního úbytku vzorku podle teploty na čase. Metoda TGA rampy. Vybrané křivky a jim příslušné derivace na čase.*

Výsledek této derivace je patrný na Obr. 28, kde lze krásně rozlišit dva různé píky, které jasně ukazují, při jakých teplotách se začaly vypařovat různé typy jinak vázaných vod. První již při teplotě přibližně 30 °C, ta by měla odpovídat méně silně vázané vodě a druhá až při teplotě cca 170 °C, ta by měla odpovídat silněji vázané vodě.



Obr. 29 Vyhodnocení procentuálního množství více vázané vody na hmotnost Nafionu

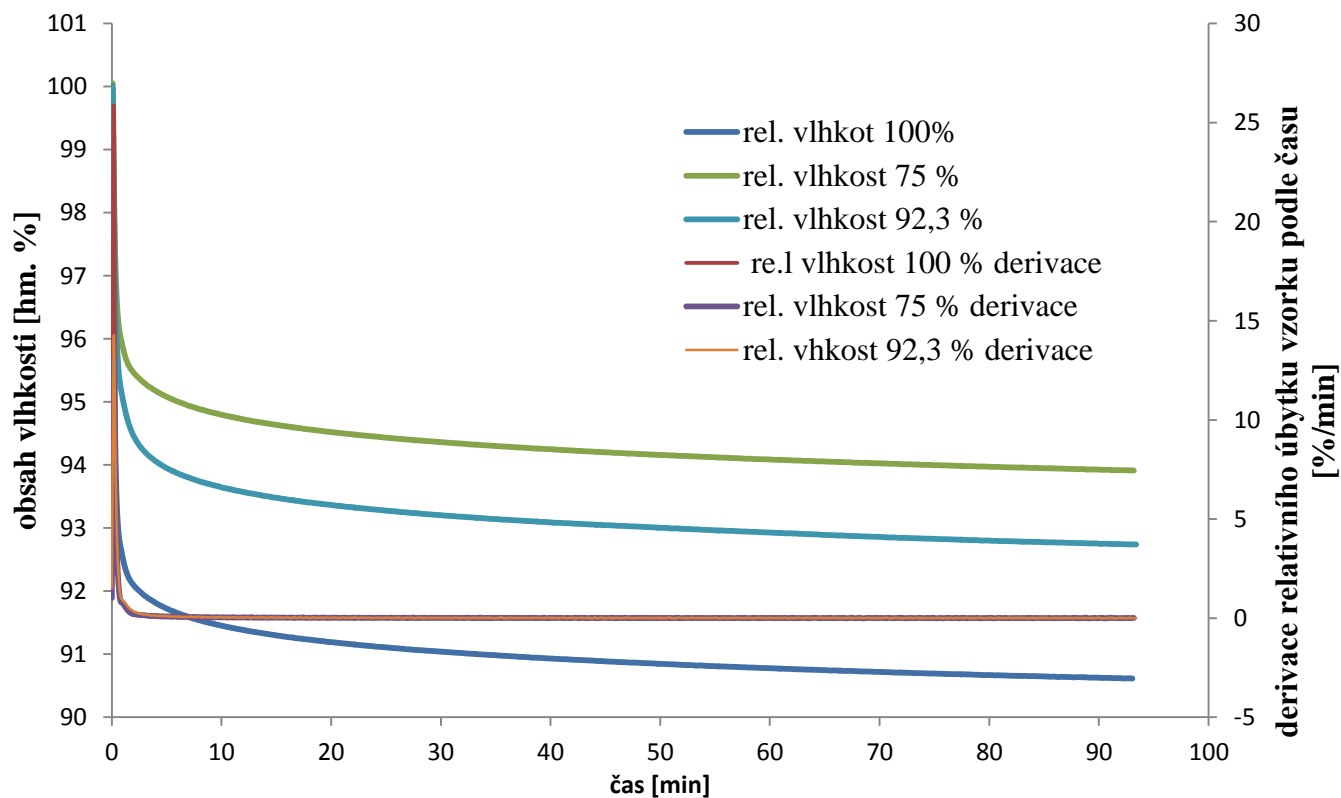
Z derivace lze samozřejmě i zjistit, kde tyto píky začínají a kde končí, tedy jejich teplotní meze. Jednoduchým odečtením procentuálních úbytků hmotností v těchto teplotních mezích je pak možné určit obsah těchto různě vázaných forem vody. Příklad takového vyhodnocení je viditelný na Obr. 29. Nejvíce zajímavé a diskutabilní bylo porovnání více vázané formy vody u všech atmosfér. Výsledky je možné vidět v Tabulce č. 1. Z výsledků je jasně patrné, že u všech atmosfér byl více méně stejný. To představuje velmi zajímavé zjištění, které naznačuje, že kapacita povrchu Nafionu pro silnou vazbu vody je konstantní, po jejím vyčerpání se dále sorbovaná voda váže k povrchu slaběji a její uvolnění je méně energeticky náročné.

Tabulka č. 1: Vypočítané hodnoty množství vázané vody

Atmosféra	Obsah více vázané vody / nafion [mg/g]			
H ₂ O (rel. vlhkost 100 %)	23,26			
CuSO ₄ · 5 H ₂ O (rel. vlhkost 98 %)	24,16			
KNO ₃ (rel. vlhkost 92,3 %)	23,84			
NaCl (rel. vlhkost 75 %)	24,29			
	průměr	23,89	odchylka	0,46

6.4.2 Izotermální TGA měření

Na vzorcích, hydratovaných z atmosfér o různé relativní vlhkosti, byla provedena také izotermální termická charakterizace. Tato analýza je analogická k pokusu, při němž byly vzorky Nafionu s přidanou vodou sušeny na analyzátoru vlhkosti (viz. kap. 5.1), které v tomto případě nebylo možné pro velmi nízký obsah sorbované vody využít.



Obr. 30 Závislost procentuálního úbytku hmotnosti na teplotě. Metoda izotermální TGA. Vybrané křivky a jim příslušné derivace na čase.

Jak je z průběhů křivek na Obr. 30 patrné, dochází k výraznému poklesu obsahu vlhkosti až na konstantní hodnotu za velmi krátkou dobu, tato hodnota se až do konce experimentu nemění. Dále můžeme vidět, že průběh derivací je přibližně stejný a dochází tak k překryvu. Podle předpokladu měla být vidět změna na derivaci jako u analyzátoru vlhkosti. Tento předpoklad se nepotvrdil, proto zde buď nejsou přítomny jinak pevně vázané vody, nebo tato metoda neposkytuje dostatečnou citlivost pro zjištění těchto interakcí.

7. ZÁVĚR

Cílem předložené bakalářské práce bylo na základě literární rešerše představit metody, dosud používané při studiu hydratační vody v těsné blízkosti hydrofilních resp. hydrofobních povrchů a dále experimentálně ověřit využitelnost metod termické analýzy v této oblasti.

První měření probíhalo za pomoci analyzátoru vlhkosti. Pomocí této metody byly zkoumány možné interakce při smáčení hydrofilních, popřípadě hydrofobních povrchů vodou. Z průběhu křivky rychlosti sušení bylo zjištěno, že hydrofobní povrch nijak neinteraguje s vodou při sušení. Naopak hydrofilní povrch vykazuje jisté interakce, které zabránily konstantní rychlosti sušení vody po celou dobu sušení. Ke konci experimentu začala rychlost přes mezistavy postupně klesat až na nulu, místo skoku z konstantní rychlosti sušení na nulu jako u hydrofobního povrchu. Z toho bylo usouzeno, že voda při interakci s hydrofilním povrchem vytváří pevněji vázanou vodu, která potřebuje více energie k přetrhání vazeb a uvolnění se tak v plynné formě.

Další předmětem bylo zkoumání tepelného zbarvení interakce vody s oběma modelovými povrchy pomocí izotermické titrační kalorimetrie. Hydrofobní povrch se jako jediný projevil exotermním píkem, nejspíše spojeným se vznikem klastrátových útvarů v blízkosti tohoto povrchu. Hydrofilní povrch už se neprojevil tak jednoznačně, ale jeho tepelná stopa ukázala více píku a to jak exotermních, tak endotermních po dobu až několika minut. Na základě předpokladu, že exkluzní zóna nevzniká v jeden okamžik, ale vytváří se po dobu několika stovek vteřin, může být tento průběh být spojen s tvorbou vrstev strukturované vody, zodpovědných za vznik exkluzní zóny.

Při využití metody diferenční kompenzační kalorimetrie, kdy je vzorek podroben lineárnímu ohřevu nebo chlazení a je sledována změna tepelného toku úměrná měrnému teplu, byly získány charakteristické píky krystalizace respektive tání. Při chlazení vzorku hydratovaného z atmosféry o 100 % relativní vlhkosti se objevil charakteristický pík prvního řádu pro krystalizaci očekávaný při zmrznutí volné masy vody. U vzorku hydratovaného z atmosféry o relativní vlhkosti 92,3 % byl detekován méně výrazný a také mírně posunutý pík oproti vzorku hydratovaného z atmosféry o 100 % relativní vlhkosti. Spíše se jednalo o skok, než o pík, který je charakteristický pro fázový přechod druhého řádu, v tomto případě skelný přechod. Při zahřívání, se podle očekávání objevil jasně zřetelný pík u vzorku hydratovaného ve 100% relativní vlhkosti pro endotermickou změnu a to tzv. tání. Zajímavé je však překrytí dvou píků u vzorku hydratovaného v 93,2 % relativní vlhkosti. Už na základě posunu teploty tání k nižším, respektive k vyšším teplotám, můžeme rozlišit dva typy různě silně vázaných vod. Zde se však nedalo jednoznačně určit, jaký pík náleží slaběji vázané vodě a který silnější vázané vodě. Záleží na tom, jestli povrch narušuje nebo stabilizuje vazby silněji vázané vodě.

Poslední, avšak neméně důležitá metoda byla termogravimetrická analýza. Zde byly použity dva druhy pokusů. Za prvé se jednalo o analýzu při konstantním ohřevu pro zjištění množství nasorbované vody na hydrofilní povrch a vytvoření tak sorpční křivky. Z průběhu derivace relativního úbytku vzorku na teplotě bylo pomocí jednoduché metody zjištěno množství více vázané formy vody. Z výsledků můžeme usuzovat, že hydrofilní povrch má

určitou kapacitu pro silněji vázanou vodu, která je konstantní a po vyčerpání se již váže voda pouze slaběji. Za druhé se jednalo o izotermální analýzu, při které byl vzorek velice rychle zahřátý na danou teplotu. Toto měření mělo být analogií pro analyzátor vlhkosti, avšak výsledky neukázaly jinak pevně vázané vody nejspíše kvůli nedostatečné citlivosti této metody.

Jak se ukázalo, tak většina použitých metod termické analýzy jsou vhodné pro analýzu struktury vody v blízkosti hydrofilních, popřípadě hydrofobních povrchů a poskytují důležité výsledky o možných interakcích vody s vybranými modelovými povrchy.

S ohledem na výsledky, by určitě pro budoucí studii stálo za to, prozkoumat detailněji možný skelný přechod hydratované vody na hydrofilním povrchu. Tento přechod by mohl hrát klíčovou roli v otázkách struktury vody v blízkosti hydrofilních povrchů. Největší pozornost by se však měla upínat k možné kapacitě povrchu Nafionu pro více vázanou vodu. Sérii podobných experimentů, avšak pro více hydrofilních povrchů s větším rozsahem atmosfér s relativní vlhkostí, by se mohlo ověřit, že se tato kapacita netýká pouze Nafionu a dále zjistit, jak je zde uspořádána struktura vody a proč dochází k tomuto omezení.

8. POUŽITÁ LITARATURA

- [1] CHAPLIN, M. *Water structure and Science*. LONDON SOUTH BANK UNIVERSITY. London South Bank university[online]. 3. duben 2014 [cit. 2015- 03-20]. Dostupné z: <<http://www.lsbu.ac.uk/water/>>.
- [2] KOLAFA, J. Struktura a anomálie vody. *Vesmír* [Online] 16. červenec 2014. [cit. 2015-03-20]. Dostupné z: <http://vesmir.cz/2014/07/16/struktura-anomalie-vody/>.
- [3] WYTTEBACH, T., BOWERS, M.T. Hydratacion of biomolecule. *Chemical psysics lettters* . 2009.
- [4] HOBZA, P.: *Nekovalentní interakce s přímou participací vodíku: vodíková vazba,nepravá vodíková vazba a dvouvodíková vazba*. Chem. listy. 2008, č. 102.
- [5] JUNGWIRTH, Pavel. Voda, samá voda. *Chem. listy*. 2008, č. 102.
- [6] WUNDERLICH, Bernhard. *Thermal analysis of polymeric materials*. Berlin : Springer, 2005, 894 s. ISBN 3-540-23629-5.
- [7] HATAKEYAMA, T. *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications Polymer Science*. 2nd Ed. Chicheste : John Wiley and Sons, 1999. ISBN 04-719-8362-4.
- [8] BOUCHEMAL, Kawthar. New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry. *Drug Discovery Today*.2008, roč. 13, č. 21-22.
- [9] TAGIKAMI, S., TAGIKAMI, M., PHILLIPS, G. O. Hydration characteristics of the cross-linked hyaluronan derivative hylan. *Carbohydrate Polymers*. 1993, roč. 22, č. 3.
- [10] VRINGER, T de., J. G. H. JOOSTEN, H. E. JUNGINGER a W SHA. A study of the hydration of polyoxyethylene at low temperatures by differential scanning calorimetry. *Colloid and Polymer Science*.1986, roč. 264, č. 7.
- [11] BERTHOLD, J., J. DESBRIÈRES, M. RINAUDO a L. SALMÉN. Types of adsorbed water in relation to the ionic groups and their counter-ions for some cellulose derivatives. *Polymer*. 1994, roč. 35, č. 26.
- [12] ABDELRAZING, B. E. I., MAIN a D. V. NOWELL. Hydration studies of modified OPC pastes by differential scanning calorimetry and thermogravimetr. *Journal of thermal analysis*.1992, roč. 38, č. 3.
- [13] SIROTKIN, V. A. a D. V. KOROLEV. Effect of dioxane on the hydration of human serum albumin as studied by isothermal calorimetry and IR spectroscopy. *Russian Journal of Physical Chemistry*. 2006, roč. 80, č. 5.
- [14] ULRICH, Anne S., Malkit SAMI, Anthony WATTS, Ruthven N. A. H. LEWIS, Ronald N. MCELHANEY. Hydration of DOPC bilayers by differential scanning calorimetry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*.1994, roč. 1191, č. 1.
- [15] HYOK, Y., DAVID R. Baker, Christopher M., Pirie, Basil, Hovakeemianand a Gerald H., Pollack. Charekteristics of water ajdacent to hydrophilic interfaces. Denis Le Bihan a Hidenao Fukuyama. *Water The forgotten Biological Molecule*. 2010.

- [16] ZHENG, Jian-ming, Wein-Chun CHIN, Eugene KHIJINIYAK, Eugene KHIJINIYAK a Gerald H. POLLACK. Surfaces and interfacial water. Evidence that hydrophilic surfaces have long-range impact. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006, 127, č. 1.
- [17] OSTROVSKIY, D. Raman study of water in Nafion-117 membranes. *Solid State Ionics*. 1996, roč. 85, č. 1-4.
- [18] ZHENG, Jian-ming, Adam WEXLER a Gerald H. POLLACK. Effect of buffers on aqueous solute- exclusion zones around ion-exchange resins. *Journal of Colloid and interface Science*. roč. 332, 2009, č. 2, s. 511-514.
- [19] CHAIN, Binghua, Hyok YOO a Gerald H. POLLACK. Effect of Radiant Energy on Near-Surface Water. *The Journal of Physical Chemistry B.*, 2009, roč. 113, č. 42.
- [20] ZHENG, Jian-ming a Gerald H., POLLACK Solute Exclusion and Potential Distribution Near Hydrophilic Surface: revue littéraire mensuelle. *Water and the Cell*. 2006, č. 165.
- [21] YOO, Hyok, Rajan, PARANJI a Gerald H. POLLACK. Impact of Hydrophilic Surface on Interfacial Water Dynamics Probed with NMR Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. 2011, roč.2, č. 6.
- [22] CHAI, Bing-huan, Jian-ming, ZHENG, Qing ZHAO a Gerald H. POLLACK. Spectroscopic Studies of Solutes in Aqueous Solution. *The Journal of Physocal Chemistry A*. 2008, roč. 112, č. 11.
- [23] TIWARI, Shraeddha, Masahiro ANDO, Hiro-o HAMAGUCHI, Tore-Geir IVERSEN, Nadine FRERKER, Kirsten SANDVIG, Bin KANG, Yaodong DAI, Diane J. BURGESS, et al. Investigation of organelle-specific intracellular water structures wit Raman microspectroscopy: Anchoring to Specific Cellular Epitopes, Carrier Geometry, and Use of Auxiliary Pharmacological Agent. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2012, roč. 44, č. 2.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

9.1 Použité zkratky

ITC	izotermická titrační kalorimetrie
DSC	diferenční kompenzační kalorimetrie
TGA	termogravimetrická analýza
EZ	exkluzní zóna
PHB	polyhydroxybutyrát
ÚCHPBT	Ústav chemie potravin a biotechnologií
NMR	nukleární magnetická rezonance

9.2 Použité symboly

°C	Celsiův stupeň
mg	miligram
hm. %	hmotnostní procenta
mW	miliwatt