

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Konovalova Olga

Kvantifikace stabilizačních účinků cyclodextrinů na těkavé biocidy pomocí spektrálních
metod

Quantification of the stabilizing effects of cyclodextrins on volatile biocides using
spectral methods

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Jindřich Jindřich, CSc.

Praha, 2023

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 22.05.2023

Podpis

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá sledováním stability a kinetiky rozkladu oxidu chloričitého v roztocích nativních a methylovaných cyklodextrinů v přítomnosti hydrogelačních činidel. Vycházelo se z předpokladu, že použití cyklodextrinů a karboxymethylcelulózy může zlepšit chemickou stabilitu oxidu chloričitého nebo zpomalit jeho uvolňování z roztoku. UV spektroskopie byla použita ke sledování případných změn absorpance v průběhu času a ke stanovení koncentrace oxidu chloričitého v roztoku.

Při sledování rychlosti úbytku oxidu chloričitého z roztoku bylo zjištěno, že přítomnost nativního a permethylovaného cyklodextrinu zpomaluje úbytek oxidu chloričitého z roztoku, přičemž nejpomalejší chemický rozklad byl pozorován v přítomnosti permethylovaného cyklodextrinu. Přídavek karboxymethylcelulózy do roztoku oxidu chloričitého zpomaluje rychlost úbytku oxidu chloričitého z otevřené lahvičky nejvíce, téměř třikrát, oproti samotnému ClO_2 . Výsledky této studie mohou pomoci optimalizovat složení přípravků s oxidem chloričitým pro různé aplikace a přispět k vývoji stabilnějších a účinnějších produktů na bázi oxidu chloričitého, které lze použít ke kontrole nebo likvidaci škodlivých mikroorganismů v různých prostředích.

Klíčová slova: oxid chloričitý, CDS, cyklodextriny, karboxymethylcelulóza, biocidy, UV-Vis spektrofotometrie, stabilita

Abstract

This bachelor's thesis deals with monitoring the stability of chlorine dioxide of native and methylated cyclodextrins in the presence of hydrogenating agents. It is believed that using cyclodextrins and carboxymethylcellulose can improve the stability of chlorine dioxide and slow its release from the solution. UV spectroscopy was used to monitor any changes in absorbance over time and to determine the concentration of chlorine dioxide in the solution.

When the rate of chlorine dioxide loss from solution was monitored, it was found that the presence of native and permethylated cyclodextrins slowed the loss of chlorine dioxide from solution, with the slowest decomposition observed in the presence of permethylated cyclodextrin. The addition of carboxymethylcellulose to the chlorine dioxide solution slows the rate of chlorine dioxide loss from the open vial the most, by almost three times, compared to ClO_2 itself. This study's results can help optimize chlorine dioxide product formulation for various applications and contribute to the development of more stable and effective chlorine dioxide-based products that can be used to control or eliminate harmful microorganisms in different environments.

Key words: chlorine dioxide, CDS, cyclodextrins, carboxymethylcellulose, biocides, UV-Vis spectrophotometry, stability

Obsah

Abstrakt.....	3
Abstract.....	4
Použité zkratky a symboly.....	7
1. Úvod.....	9
2. Cíle práce.....	10
3. Přehled problematiky	11
3.1 Biocidy.....	11
3.1.1 Oxidační biocidy	11
3.2 Oxid chloričitý	12
3.2.1 Použití oxidu chloričitého	14
3.2.2 Toxicita ClO ₂	15
3.2.3 Antimikrobiální aktivita ClO ₂	17
3.3 Cyklodextriny	18
3.3.1 Komplexační vlastnosti	20
3.4 Karboxymethylcelulóza.....	21
3.4.1 Použití hydrogelů na bázi CMC pro léčení ran.....	22
3.5 UV-Vis spektrofotometrie.....	23
4. Výsledky a diskuse	25
4.1 Vyhledání absorpčního maxima.....	25
4.2 Kalibrace.....	26
4.3 Sledování úbytku ClO ₂ z otevřené nádoby.....	27
4.3.1 Optimalizace metody.....	27
4.3.2 Měření vzorků s CD a CMC.....	29
4.4 Dlouhodobé sledování chemické stability roztoků ClO ₂	30
4.5 Ověření tvorby inkluzního komplexu α-CD s ClO ₂	32

5. Experimentální část.....	32
5.1 Obecné postupy a chemikálie.....	32
5.1.1 Chemikálie.....	32
5.1.2 Další přístroje a pomůcky	33
5.2 Příprava roztoků.....	33
5.2.1 Zásobní roztok oxidu chloričitého.....	33
5.2.2 0,01M roztok thiosíranu sodného	33
5.2.3 Roztok oxidu chloričitého s α -CD.....	34
5.2.4 Roztok oxidu chloričitého s hexakis(2,3,4-tri-O-methyl)- α -CD.....	34
5.2.5 Roztok oxidu chloričitého s CMC	34
5.3 Pracovní postupy	34
5.3.1 Jodometrické stanovení.....	34
5.3.2 Sledování koncentrace oxidu chloričitého.....	35
5.3.3 Příprava inkluzního komplexu ClO_2 a α -CD.....	38
6. Závěr.....	40
7. Poděkování.....	41
8. Literatura.....	42

Použité zkratky a symboly

CD	cyklodextrin
CDS	roztok oxidu chloričitého (chlorine dioxide solution)
COFEPRIS	Federal Commission for the Protection against Sanitary Risks
CMC	karboxymethylcelulóza (carboxymethylcellulose)
COVID-19	koronavirové onemocnění 2019 (coronavirus disease 2019)
EC	inkluzní komplex (encapsulation complex)
ECHA	Evropská agentura pro chemické látky (European Chemical Agency)
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí (Environmental Protection Agency)
EU	Evropská Unie (European Union)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FIFRA	Federální zákon o insekticidech, fungicidech a rodenticidech (Federal Insecticide Fungicide Rotanicide Act)
HAA	halogenoctové kyseliny (haloacetic acids)
LD ₅₀	střední letální dávka (median lethal dose)
MMS	roztok oxidu chloričitého (Mineral Miracle Solution)
PM- α -CD	hexakis(2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl)- α -cyklodextrin
RNA	ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
SARS-CoV-2	těžký akutní respirační syndrom způsobený koronavirem-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2)
THM	trihalomethany
UV	ultrafialové záření (ultraviolet)

ČSN ISO Česká technická norma, která zavádí do soustavy českých norem mezinárodní normu ISO

1. Úvod

Oxid chloričitý (ClO_2) je silné oxidační činidlo, baktericid, fungicid, algicid a antiseptikum¹. ClO_2 je účinný ve vodné i plynné formě a je širokospektrální biocid, který lze použít k inaktivaci bakterií, spor, virů a řas. Zabraňuje také tvorbě biofilmu a používá se k jeho odstranění. Americká agentura pro ochranu životního prostředí EPA schválila vodný roztok oxidu chloričitého pro použití jako dezinfekčního přípravku na syrové ovoce a zeleninu². Vodný roztok ClO_2 se široce používá k úpravě pitné vody pro veřejnost. Plynný ClO_2 se používá k dezinfekci potravinářských zařízení, nemocničních a stomatologických zařízení, povrchů, místností, laboratoří a ventilačních systémů. Oxid chloričitý je však vysoce reaktivní a nestabilní a jeho účinnost může být ohrožena různými faktory, jako je pH, teplota a světlo³. Oxid chloričitý se vždy vyrábí na místě, vzhledem k riziku rychlého rozkladu a výbušnosti⁴. Je to toxický plyn a při nesprávném zacházení může být nebezpečný. Měli by jej používat pouze vyškolení odborníci v dobře větraném prostoru s příslušnými bezpečnostními opatřeními.

V této práci byly pro stabilizaci a zpomalení rozkladu oxidu chloričitého v roztoku použity nativní a methylované cyklodextriny a hydrogelační činidlo karboxymethylcelulóza (CMC). Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy, které zlepšují stabilitu různých účinných látek, včetně oxidu chloričitého⁵, tvorbou inkluzních komplexů. Hydrogely na bázi CMC se běžně používají v přípravcích na rány a při podávání léčiv díky svým schopnostem zadržovat vlhkost a udržovat v ráně vlhké prostředí. Do hydrogelových přípravků může být oxid chloričitý přidáván díky svým antimikrobiálním vlastnostem. Přispívá k prevenci nebo omezení infekce v ranách a podporuje čisté a sterilní prostředí pro hojení ran.

2. Cíle práce

Cíle této bakalářské práce byly následující:

- Ověřit tvorbu inkluzního komplexu oxidu chloričitého s α -cyklodextrinem
- Stanovit vliv přítomnosti α -CD, hexakis(2,3,4-tri-*O*-methyl)- α -CD (PM- α -CD) a karboxymethylcelulózy na rychlost úbytku vodného roztoku oxidu chloričitého pomocí UV-Vis spektroskopie
- Porovnat účinnost stabilizace mezi nativním a permethylovaným cyklodextrinem
- Zjistit, zda je kombinace karboxymethylcelulózy a cyklodextrinu výhodnější pro stabilizaci oxidu chloričitého než samotný CD nebo CMC

3. Přehled problematiky

3.1 Biocidy

Biocidy jsou látky určené k hubení, tlumení nebo regulaci škodlivých organismů ve všech oblastech lidské činnosti. Obvykle jsou používány v kapalně a práškové formě, ve formě koncentrátů nebo hotových přípravků a aplikují se různými metodami⁶. Podle ECHA (Evropská agentura pro chemické látky) biocidy se obecně dělí do čtyř hlavních skupin: dezinfekční prostředky, konzervanty, přípravky pro regulaci živočišných škůdců a jiné biocidní přípravky⁷. Dezinfekční prostředky jsou látky určené k deaktivaci mikroorganismů v prostředí, například na pevném povrchu nebo ve vodě. Biocidní dezinfekční prostředky využívají k likvidaci mikroorganismů různé mechanismy účinku, od oxidace po rozpouštění lipidů⁸. Antiseptika jsou antimikrobiální látky používané na kůži nebo tkáni za účelem prevence infekce. Konzervační látky jsou chemické příměsi užívané k ochraně před předčasným zkažením produktu. Jelikož biocidy jsou velmi často toxické nejen pro mikroorganismy, ale i pro necílové druhy, před uvedením na trh podléhají všechny biocidy registraci v souladu s nařízením EU o biocidních přípravcích, s americkým federálním zákonem o insekticidech, fungicidech a rodenticidech (FIFRA) a dalšími příslušnými vnitrostátními právními předpisy⁹.

Biocidy se uplatňují v širokém spektru prostředí, např. při úpravě vody, dezinfekci klinického prostředí, v průmyslovém prostředí, např. při zpracování potravin, farmaceutických a kosmetických výrobků, a stále častěji i ve výrobcích pro domácnost. Výběr biocidu závisí na prostředí, ve kterém se bude používat¹⁰.

3.1.1 Oxidační biocidy

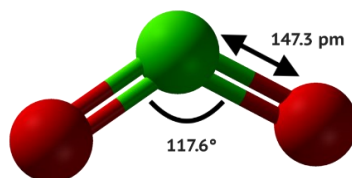
Mechanismus, kterým oxidační biocidy vykazují svou biocidní aktivitu, spočívá v odebrání elektronů z citlivých funkčních skupin, což způsobuje poškození biomolekul. Obvykle se jedná o nízkomolekulární sloučeniny, které buď snadno procházejí bakteriální buněčnou membránou a způsobují buněčnou smrt poškozením vnitřních částí, nebo mohou touto cestou narušit buněčnou stěnu a způsobit buněčnou smrt¹¹. Často se oxidační biocidy používají při úpravě vody, v potravinářství a dalších průmyslových odvětvích, kde je důležitá kontrola biofilmu. Mezi běžné oxidační biocidy

patří oxid chloričitý, peroxid vodíku, ozón a kyselina peroctová. Tyto biocidy jsou obvykle účinné proti široké škále mikroorganismů včetně bakterií, virů, plísní a prvků. Jednou z výhod oxidačních biocidů je, že mohou působit velmi rychle, přičemž některé látky jsou schopny zničit mikroorganismy během několika sekund^{11,12}.

3.2 Oxid chloričitý

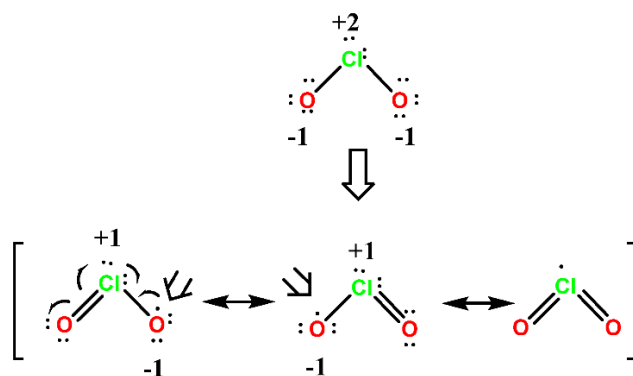
Oxid chloričitý (ClO_2) je širokospektrální oxidační biocid, který působí tak, že narušuje buněčnou membránu a syntézu bílkovin v mikrobiální buňce¹³. Je to poměrně malá, těkavá a velmi energetická molekula. Vzhledem ke své výbušnosti se čistý ClO_2 neskládá, ale obvykle se vyrábí ze stabilizované formy na místě¹⁴. Za normálních podmínek oxid chloričitý je snadno zkapalnitelný žlutozelený plyn štiplavého zápachu. Je dobře rozpustný ve vodě, což umožňuje jeho použití jako mycího antimikrobiálního roztoku v průmyslové praxi, ale s vodou nijak nereaguje. Ve vodném roztoku se vyskytuje jako rozpuštěný plyn. Oxid chloričitý působí jako vysoce selektivní oxidant díky svému mechanismu přenosu jednoho elektronu, kdy atakuje elektronově bohatá centra v organických molekulách a sám při tomto procesu se redukuje na chloritanové (ClO_2^-) ionty⁴. Roztok oxidu chloričitého ve vodě je stabilní, pokud je chráněn před světlem, udržován při pokojové nebo nižší teplotě a dobře uzavřen. Ultrafialové absorpční spektrum roztoku ClO_2 je širokopásmové s maximem při 359 nm a molárním absorpčním koeficientem $1250 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ¹⁵. V přítomnosti světla s UV složkou se oxid chloričitý rychle rozkládá za vzniku chloru, kyslíku a řady nestabilních intermediátů obsahujících chlor, které mohou být vysoce korozivní⁴.

ClO_2 je neutrální monomerní volný radikál s dipólovým momentem $1,792 \text{ D}^{16}$. Z mikrovlnných spekter oxidu chloričitého v plynné fázi bylo zjištěno, že vzdálenost mezi chlorem a kyslíkem je přibližně $0,147 \text{ nm}$. ClO_2 má molekulovou geometrii s vazebným úhlem $117,6^\circ$, jak je znázorněno na obrázku 1.



Obrázek 1: Struktura molekuly ClO_2

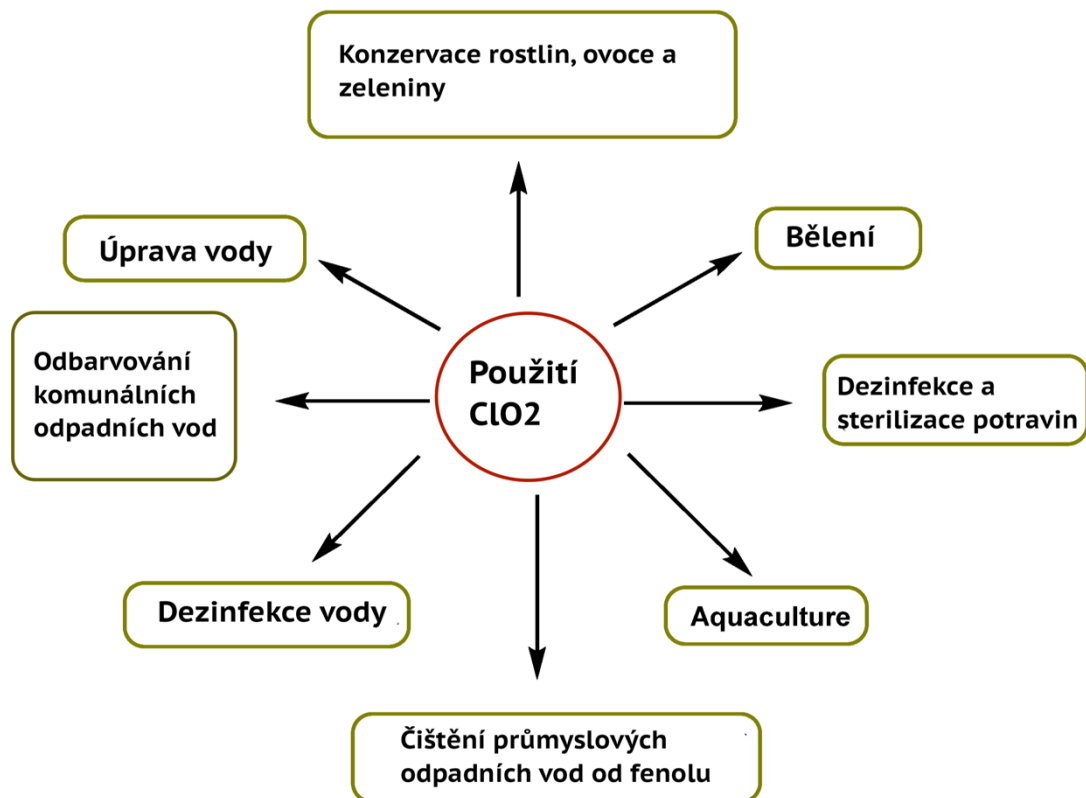
V základním stavu je nepárový elektron na atomu chloru sdílen mezi oběma atomy kyslíku a atomem chloru, ale většina elektronové hustoty se nachází převážně na jednom z atomů kyslíku. Molekula oxidu chloričitého má lichý počet valenčních elektronů, je to paramagnetický radikál. Jeho elektronová struktura byla pro chemiky dlouho nepochopitelná, jelikož žádná z možných Lewisových struktur nebyla dostačující. V roce 1933 navrhl Brockway strukturu zahrnující tříelektronovou vazbu¹⁷. Později tato myšlenka byla rozvinuta Linusem Paulingem, který navrhl dvě možné rezonanční struktury zahrnující dvojnou vazbu na jedné straně a jednoduchou vazbu se třemi elektrony na straně druhé¹⁸. Elektronegativita dvou atomů kyslíku je tak velká, že eliminuje elektronovou hustotu atomu chloru a dává chloru částečný kladný náboj (obrázek 2).



Obrázek 2: Lewisova struktura ClO_2 ¹⁹

3.2.1 Použití oxidu chloričitého

Oxid chloričitý objevil v roce 1811 sir Humphry Davy a od poloviny 20. století se začal široce používat v papírenském průmyslu jako bělidlo a k úpravě pitné vody. Nejčastěji se používá jako alternativa chlóru při čištění a dezinfekci pitné vody²⁰. Jeho hlavní výhodou oproti chloru je to, že nereaguje s organickými materiály za vzniku škodlivých organochlorových sloučenin (např. THM, HAA, dioxiny, furany)²¹. Je vysoce účinným dezinfekčním prostředkem proti široké škále mikroorganismů, včetně bakterií, virů a plísní. ClO_2 se také používá k dekontaminaci veřejných budov²² a zpracování potravin². Používá se v textilním průmyslu k bělení a odstraňování barev. Kromě tradičních aplikací, z nichž většina využívá oxid chloričitý ve vodném roztoku, nachází oxid chloričitý nové možnosti využití, zejména v plynné fázi. Plynný oxid chloričitý má široké využití při sterilizaci lékařských přístrojů⁴. Některé z jeho použití v průmyslu jsou uvedeny na obrázku 3.



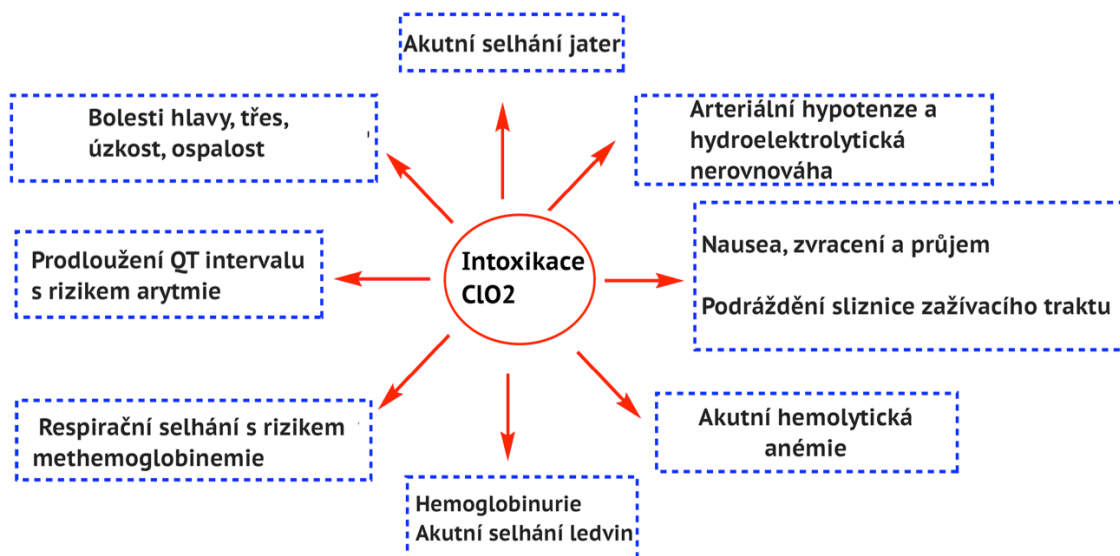
Obrázek 3: Průmyslové použití ClO₂¹⁹

3.2.2 Toxicita ClO₂

V prosinci 2019 se v čínském Wuhanu objevilo nové respirační onemocnění. Tento virus byl pojmenován "koronavirus těžkého akutního respiračního syndromu 2" (SARS-CoV-2) a onemocnění vzniklé v důsledku infekce tímto virem bylo pojmenováno COVID-19. Během pandemie COVID-19 byla propagována konzumace roztoků oxidu chloričitého, známého také jako MMS, k léčbě nebo prevenci infekce SARS-CoV-2. MMS je vodný roztok oxidu chloričitého, který se připravuje z 25% roztoku chloritanu sodného v destilované vodě, který se smíchá v určeném poměru s další složkou výrobku (kyselinou citronovou, hydrogensíranem sodným nebo elektrolyzou) za vzniku oxidu chloričitého. Různé regulační orgány (např. Evropská agentura pro léčivé přípravky a americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv) a vědecké společnosti vypracovaly a vydaly prohlášení, v nichž upozornily na nedostatek vědeckých důkazů o jejich účinnosti při onemocnění COVID-19 a na související rizika pro lidské zdraví, a dokonce došlo ke stažení těchto

přípravků z trhu. FDA ve Spojených amerických státech a COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) v Mexiku uvádějí, že konzumace ClO_2 způsobuje selhání ledvin a jater a ničí červené krvinky. K dnešnímu dni neexistují žádné vědecké důkazy, které by podporovaly používání oxidu chloričitého nebo jeho derivátů jako preventivních nebo léčebných prostředků proti COVID-19^{23,24}.

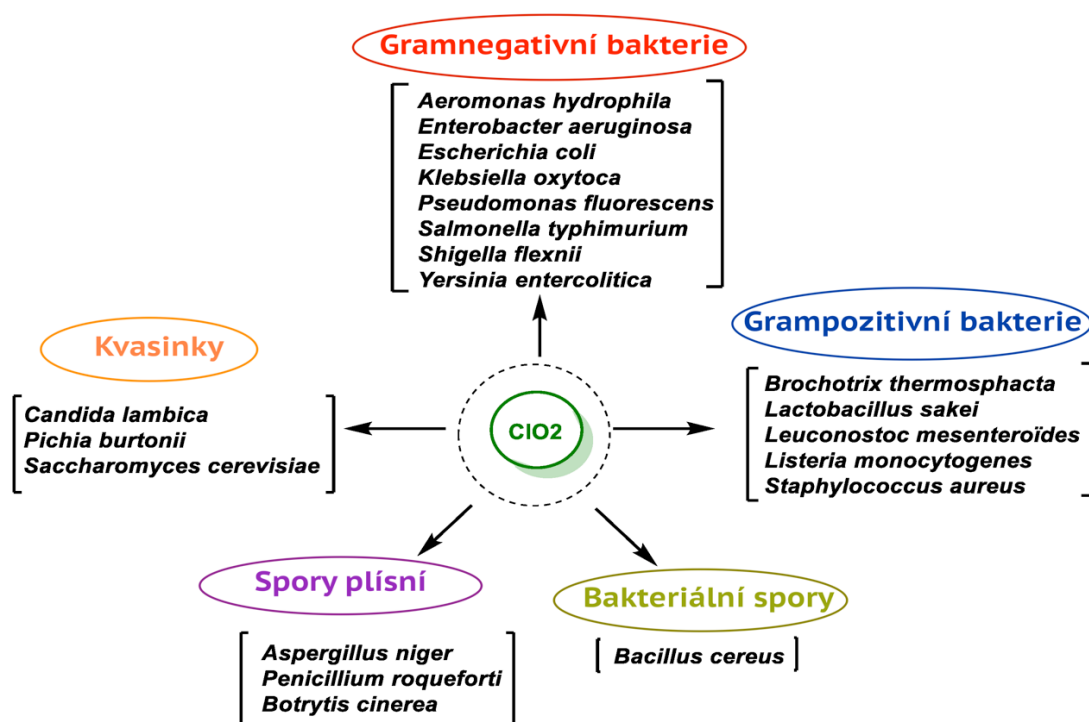
Hlavní cesty intoxikace oxidu chloričitého lze rozdělit na inhalační, perorální a parenterální. Oxid chloričitý se rychle vstřebává v zažívacím traktu. Maximální koncentrace v krvi je dosažena do 1 hodiny po perorálním podání jedné dávky. Může se také pomalu vstřebávat oholenou kůží s průměrnou dobou absorpce 22 h. Vzhledem ke své vysoce reaktivní povaze neporušený oxid chloričitý se nevstřebává vdechováním; pravděpodobnější je absorpce jeho derivátů. Oxid chloričitý se metabolizuje na chloritany, chlorečnany a hlavně chloridy. Většina podaného oxidu chloričitého a jeho metabolitů zůstává v plazmě, také v ledvinách, plicích, žaludku, střevech, játrech a slezině. Během 72 hodin se přibližně 43 % perorálně podaného oxidu chloričitého vylučuje močí a stolicí²⁵. Střední orální smrtná dávka (LD_{50}) byla stanovena na 94 mg/kg tělesné hmotnosti. Na obrázku 4 jsou uvedena některá rizika spojená s konzumací ClO_2 a jeho derivátů²⁶.



Obrázek 4: Závažné nežádoucí reakce po přímé konzumaci oxidu chloričitého¹⁹

3.2.3 Antimikrobiální aktivita ClO₂

Oxid chloričitý působí jako oxidační biocid a reguluje růst gram pozitivních a gram negativních bakterií tím, že brání přenosu živin přes buněčnou stěnu jejím zničením²⁷. Jeho účinnost je v některých případech podobná nebo dokonce i vyšší než účinnost jiných známých oxidantů, jako je ozon nebo chlor. Chová se jako oxidační činidlo prostřednictvím elektronové výměny, což mu umožňuje oxidovat jakýkoli typ organické sloučeniny, od virů a bakterií až po bílkoviny, a proto se často používá k čištění vody nebo některých povrchů. V případě obalených virů oxid chloričitý reaguje přímo s aminokyselinovými zbytky proteinů umístěných na povrchu obaleného viru; v případě neobalených virů působí ClO₂ na virový genom a ovlivňuje ribonukleovou kyselinu RNA v buňce. Tímto mechanismem oxid chloričitý zabraňuje tvorbě bílkovin, a tím přispívá k likvidaci viru. Oxid chloričitý je silné oxidační činidlo, které lze použít jak v roztoku, tak i v plynném stavu. Má baktericidní, fungicidní a virucidní vlastnosti. ClO₂ pravděpodobně představuje kompletní řešení pro dezinfekci, jelikož ničí nejširší škálu mikroorganismů v krátkém čase kontaktu a má menší korozivní účinky na povrchy. Použití ClO₂ navíc zabraňuje nebezpečí vzniku rezistence mikroorganismů²⁸.

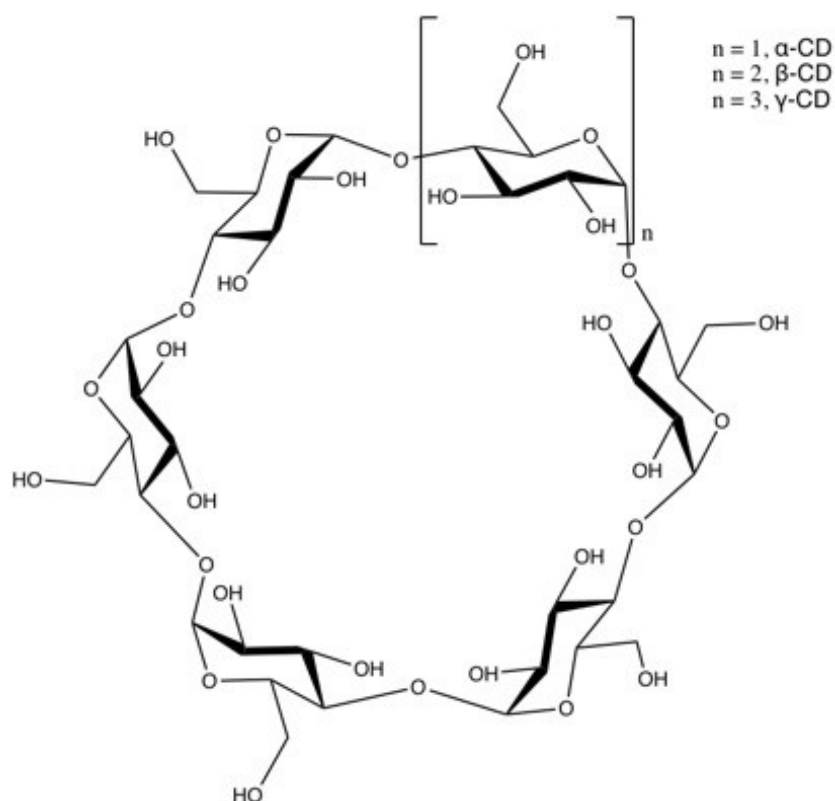


Obrázek 5: Antimikrobiální spektrum účinnosti ClO₂¹⁹

3.3 Cyklodextriny

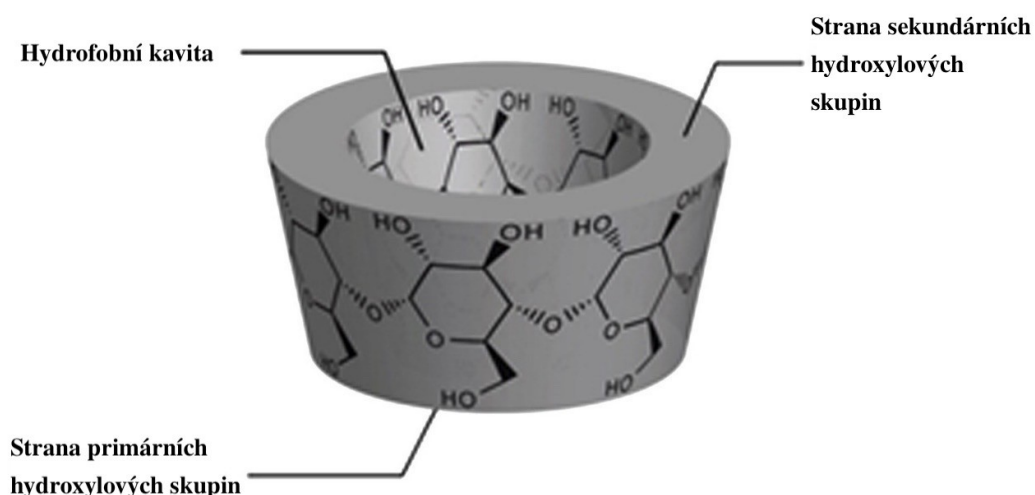
Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy složené z D-glukopyranosových jednotek. Vyrábí se specifickou enzymatickou hydrolýzou škrobu enzymem cyklodextringlykosyltransferáza²⁹. První objev cyklodextrinu publikoval francouzský vědec Villiers v roce 1891, kdy popsal izolaci krystalické látky ze škrobu natráveného bakteriemi *Bacillus amylobacter*.

Nejběžnější CD obsahují šest (α -CD), sedm (β -CD) a osm (γ -CD) glukopyranosových jednotek spojených α -(1 \rightarrow 4)-glykosidickými vazbami (obrázek 6). Kvůli velkému sterickému nnutí v kruhu není možné enzymaticky připravit CD s nižším počtem jednotek, ale synteticky byly připraveny cyklodextriny obsahující 3, 4 a 5 jednotek^{30,31}. Známé jsou také CD s více než 8 jednotkami, ale ve srovnání s menšími CD se však zjistilo, že fyzikálně-chemické vlastnosti těchto větších CD jsou méně vhodné pro tvorbu komplexů³².



Obrázek 6: Chemická struktura molekuly cyklodextrinu

Vzhledem ke své molekulární struktuře a chybějící volné rotaci kolem vazeb spojujících glukopyranosové jednotky molekuly cyklodextrinu mají tvar dutého komolého kužele, na jehož okrajích jsou umístěny volné hydroxylové skupiny. Primární hydroxylové skupiny jsou umístěny na úzké a sekundární hydroxyly na široké straně kavity (obrázek 7)³³.



Obrázek 7: Kuželovitá struktura CD³⁴

Kavita CD je lemovaná glykosidickými kyslíkovými můstky a vodíkovými atomy C-H vazeb. Díky tomuto uspořádání je vnější povrch CD hydrofilní, což zapříčiňuje rozpustnost CD v polárních rozpouštědlech. Kavita cyklodextrinu je naopak hydrofóbní a její velikost klesá s jejím rozměrem, v pořadí od γ - po α -cyclodextrin³⁵. V tabulce 1 jsou shrnuty některé základní vlastnosti přirozených (nativních) cyklodextrinů.

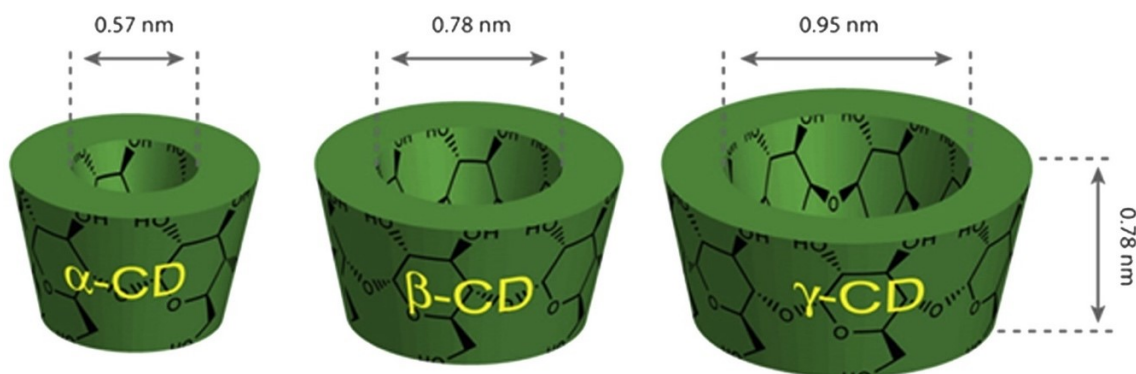
Tabulka 1: Nejobecnější vlastnosti běžných molekul CD³⁶

	α -CD	β -CD	γ -CD
Počet glukopyranosových jednotek	6	7	8
Molekulová hmotnost, g mol ⁻¹	973	1135	1297
Rozpustnost ve vodě při 25 °C, g / 100 ml	14,5	1,85	23,2
Šířka kavity, nm	0,57	0,78	0,95
Výška molekuly, nm	0,78	0,78	0,78

Díky tomu, že jsou přírodní a relativně netoxické, mají relativně nízkou cenu, jsou komerčně dostupné a mají schopnost vytvářet inkluzní komplexy s širokou škálou hostitelských molekul se cyclodextriny uplatňují v mnoha oblastech lidské činnosti, včetně farmaceutického^{37,38}, potravinářského^{39–42}, kosmetického^{43–45} a textilního průmyslu⁴⁶. Nejčastěji se v praxi používá β -CD. Z hlediska vlivu na člověka je nejvíce prozkoumán³³.

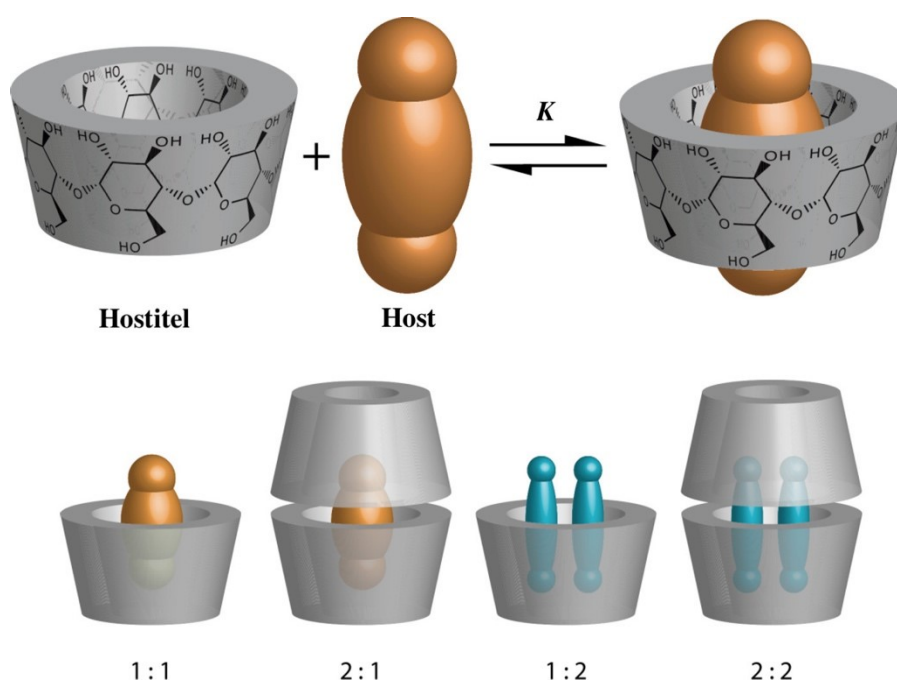
3.3.1 Komplexační vlastnosti

Díky hydrofóbní povaze kavity je hlavní studovanou vlastností cyclodextrinů vytváření inkluzních komplexů typu hostitel-host (H-G) s řadou sloučenin. Hostitelem je cyclodextrin, do jehož kavity se zcela nebo alespoň částečně inkluduje látka organické nebo anorganické povahy (neutrální nebo ve formě kationtu, aniontu nebo dokonce i radikálu) reprezentující hosta³³. Z tohoto důvodu se CD často označují jako molekulové kontejnery⁴⁷. Schopnost molekuly komplexovat se v cyclodextrinové kavitě závisí také na rozměru dané molekuly a samotné kavity. Kavita α -CD má vhodnou velikost pro alifatické řetězce či nesubstituované nebo *p*-substituované deriváty benzenu, do kavity β -CD se vejde molekula naftalenu. γ -CD může inkludovat do své kavity větší hostující molekuly, jako je fullerén nebo dva aromatické hosty⁴⁸. Obrázek 8 znázorňuje grafické porovnávání rozměrů α , β , γ -CD.



Obrázek 8: Grafické znázornění kavity běžných CD včetně rozměru kavity a výšky molekuly⁴⁹

Při vytváření inkluzních komplexů typu hostitel-host se mění chemické, fyzikální nebo biologické vlastnosti hostitelské i hostující molekuly. Při interakci CD s hostem vznikají vazby nekovalentní povahy, jako jsou van der Waalsovy interakce, dipól-dipól interakce, interakce přenosu náboje, elektrostatické interakce a vodíkové vazby, takže je vznik komplexu reverzibilní⁵⁰. Vznikající komplexy nejsou trvalé, podléhají dynamické rovnováze. Poměr hostitelů a hostů je nejčastěji 1:1. Jedná se o nejjednodušší a nejčastější případ. Existují však i inkluzní komplexy se stechiometrií 2:1, 1:2, 2:2 nebo ještě složitější asociace a rovnováhy vyššího řádu⁵¹.



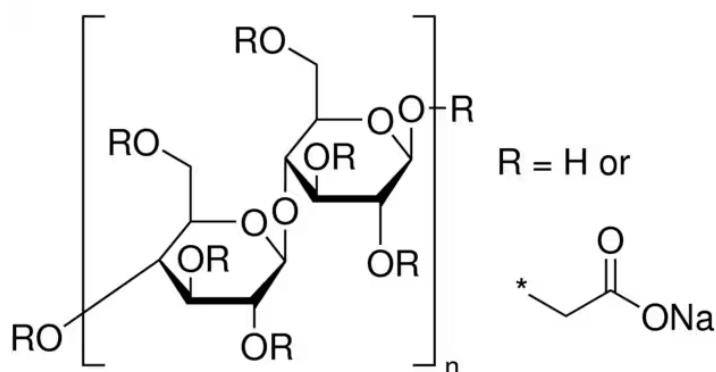
Obrázek 9: Schematické znázornění spojení volného cyklodextrinu (hostitele) a substrátu (hosta) za vzniku inkluzního komplexu³⁴

3.4 Karboxymethylcelulóza

Karboxymethylcelulóza (CMC) je aniontový, rozpustný ve vodě derivát celulózy s karboxymethylovou skupinou vázanou na některé z hydroxylových skupin glukopyranosových monomerů tvořících páteř celulózy. Monomerní jednotky jsou spojeny β -1,4-glykosidickými vazbami. Díky polárním karboxylovým skupinám je karboxymethylcelulóza rozpustná ve vodě a chemicky reaktivní. Podle Williamsonovy etherové syntézy se příprava CMC skládá ze dvou kroků. Nejprve se celulóza upraví

hydroxidem sodným, čímž vznikne aktivovaná alkalická celulóza, která pak reaguje s chloracetátem sodným za vzniku etherické vazby. V tomto kroku jsou karboxymethylové skupiny zavedeny na některé ze tří hydroxylových skupin glukosové jednotky. Přípravou lze dosáhnout různých stupňů substituce. Avšak nejčastěji se pohybují mezi 0,4 a 1,5 funkčních skupin na jednu monomerní jednotku⁵². CMC je k dispozici s různými molekulovými hmotnostmi v rozmezí 90 000-2 000 000 g mol⁻¹⁵³. Na obrázku 10 je uvedena molekulární struktura CMC.

CMC byla poprvé syntetizována v roce 1918. Komerční výroba těchto důležitých polymerních materiálů však byla poprvé zahájena v Německu na počátku 20. století⁵⁴. Karboxymethylcelulóza se zpravidla používá ve formě své sodné soli (celulózová guma), která je zatím jejím nejdůležitějším průmyslovým derivátem. Tato sůl je snadno rozpustná ve vodě nebo v alkalických roztocích a tvoří vysoce viskózní roztok⁵⁵.



Obrázek 10: Struktura molekuly karboxymethylcelulózy⁵⁶

CMC se široce používá v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu jako zahušťovadlo, stabilizátor a pojivo. Používá se také při výrobě papíru a v průmyslu těžby ropy jako složka vrtné směsi, kde působí jako modifikátor viskozity k zadržení vody^{55,57}.

3.4.1 Použití hydrogelů na bázi CMC pro léčení ran

Hydrogely představují struktury složené z biopolymerů nebo polyelektrolytů, které jsou díky své hydrofilní struktuře schopny udržet velké množství vody ve svých trojrozměrných sítích⁵⁸. Díky vysoké schopnosti absorbovat vodu a struktuře podobné tkáni jsou ideálním materiálem pro obvazy na rány a pro použití při podávání léčiv⁵⁹.

Vývoj dokonalých obvazových materiálů s vynikajícími vlastnostmi je v současné době hlavním předmětem výzkumu v oblasti léčby ran. V posledních letech jsou obvazové materiály na bázi CMC nesmírně přitažlivé díky svým jedinečným vlastnostem, jako je biokompatibilita, biologická odbouratelnost, nízká cena a nízká toxicita. Hydrofilní povaha CMC umožňuje její mísení a síťování s jinými materiály, jako jsou syntetické polymery, přírodní polymery a anorganické materiály, a umožňuje přípravu inovativních biomateriálů pro obvazy na rány. Široké spektrum použití CMC se vztahuje na hojení chronických ran (běrcové vředy, diabetické vředy) a akutních ran, jako jsou odřeniny, popáleniny prvního a druhého stupně⁵². CMC lze použít k léčbě ran a regeneraci kůže díky její kompatibilitě se sliznicí, kostí a kůží⁶⁰. Kromě toho dokáže udržovat vlhké prostředí v okolí rány, což napomáhá růstu extracelulární matrice a reepitelizaci.

3.5 UV-Vis spektrofotometrie

V této bakalářské práci byla použita UV-Vis spektrofotometrie. Jedná se o analytickou techniku, která pracuje na principu měření energie absorbované vzorkem (látkou) při průchodu záření s vlnovou délkou v UV nebo viditelné oblasti. Tato metoda se běžně používá v chemii, biochemii a materiálových vědách ke kvantifikaci koncentrace vzorku nebo k identifikaci a charakterizaci chemických látek⁶¹. Absorpce elektromagnetického záření molekulou mění elektronový stav látky (molekuly) – tím dochází k elektronovým přechodům. Výsledné spektrum, známé jako absorpční spektrum, je grafem závislosti absorbance na vlnové délce⁶². Závislost absorbance na koncentraci a tloušťce kyvety popisuje matematicko-fyzikální rovnice vyplývající z Bouguerova-Lambertova-Beerova zákona (zkráceně Lambertův-Beerův zákon):

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

kde A je absorbance, ε je molární absorpční (extinkční) koeficient, c je látková koncentrace a d je délka kyvety

Pro uplatnění Lambertův-Beerův zákona je nutné používat koncentrace, které spadají do intervalu lineární závislosti A na c . Tento interval se běžně označuje jako

lineární rozsah nebo lineární oblast kalibrační křivky. Absorbance je definována jako dekadický logaritmus převrácené hodnoty transmittance T pro monochromatické záření a je vyjádřena vztahem:

$$A = -\log(T) = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I}$$

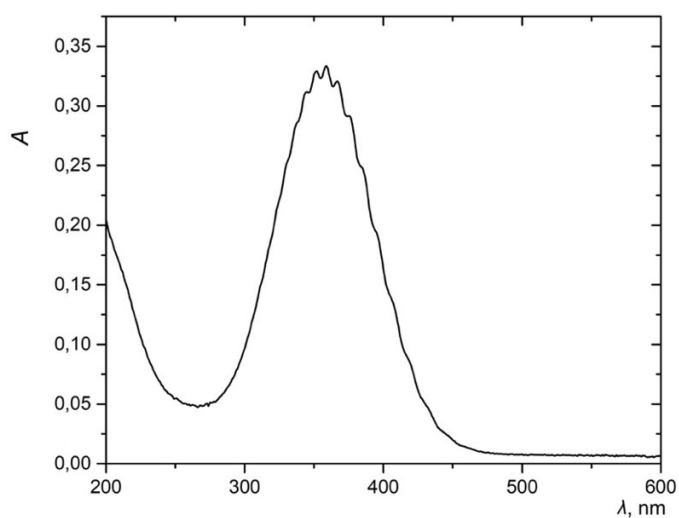
kde T je transmittance, I_0 je intenzita dopadajícího monochromatického záření a I je intenzita prošlého monochromatického záření.

4. Výsledky a diskuse

V rámci této bakalářské práce byla studována rychlost úbytku oxidu chloričitého z čistého vodného roztoku, z roztoků α -CD, β -CD, PM- α -CD a karboxymethylcelulózy (CMC). Úbytek oxidu chloričitého z roztoku může být způsoben těkáním z roztoku (jeho bod varu je 11 °C) nebo odreagováním. Oxid chloričitý může reagovat s různými látkami v roztoku. Tyto reakce mohou vést ke spotřebě nebo přeměně oxidu chloričitého na různé sloučeniny, což způsobí jeho úbytek. Oxid chloričitý je relativně nestabilní a může se časem rozkládat, zejména za určitých podmínek, jako jsou vysoké teploty nebo vystavení slunečnímu záření. Tento proces rozkladu může rovněž vést k úbytku oxidu chloričitého z roztoku. Dalším cílem této práce bylo také zjistit, zda PM- α -CD, který má hydroxylové skupiny chráněné ve formě methyletheru, reaguje s oxidem chloričitým pomaleji než nativní α -CD, který obsahuje volné hydroxylové skupiny. Úbytek koncentrace ClO_2 byl sledován pomocí UV-Vis spektroskopie.

4.1 Vyhledání absorpčního maxima

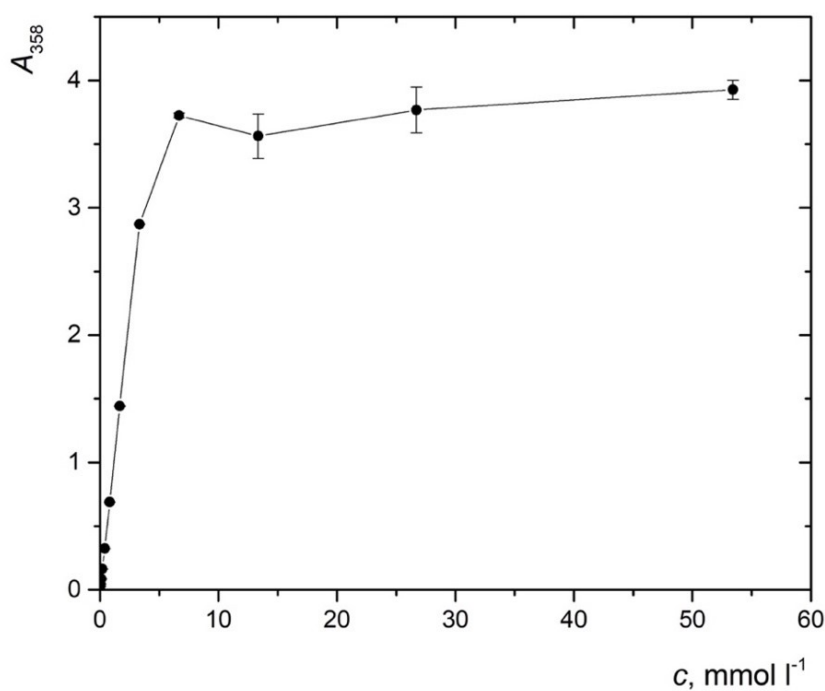
Nejdříve bylo proměřeno absorpční spektrum roztoku oxidu chloričitého s koncentrací 0,53 mM. Absorbance byla měřena s rozsahem vlnových délek od 190 do 1100 nm. Absorpční maximum bylo nalezeno při 358 nm (obrázek 11).



Obrázek 11: Absorpční spektrum oxidu chloričitého ve 0,53 mM vodném roztoku

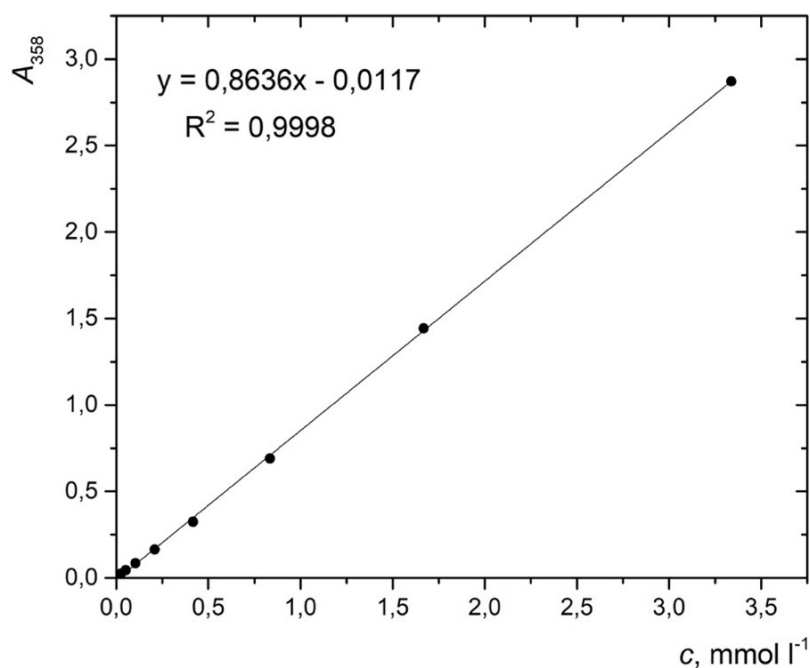
4.2 Kalibrace

Ze zásobního roztoku oxidu chloričitého o koncentraci 53,4 mM byly připraveny roztoky o koncentraci 0,00; 0,026; 0,052; 0,104; 0,209; 0,417; 0,834; 1,669; 3,337; 6,675; 13,35; 26,7 a 53,4 mmol l⁻¹. Byly připraveny tři sady kalibračních roztoků. Měření probíhalo v křemenných kyvetách a to při 358 nm. Jako referenční vzorek (blank) byla použita destilovaná voda. Z mediánu absorbance mezi sadami byl sestrojen graf závislosti absorbance na koncentraci oxidu chloričitého (obrázek 12).



Obrázek 12: Graf znázorňující závislost absorbance na koncentraci oxidu chloričitého

Grafu na obrázku 12 ukazuje, že závislost je lineární až do koncentrace 3,337 mmol l⁻¹. Lineární oblast kalibrační křivky je znázorněna na obrázku 13. Pro další výpočty je používána kalibrační křivka s rovnicí regrese $y = 0,8636x - 0,0117$.



Obrázek 13: Lineární kalibrační závislost absorbance na koncentraci oxidu chloričitého

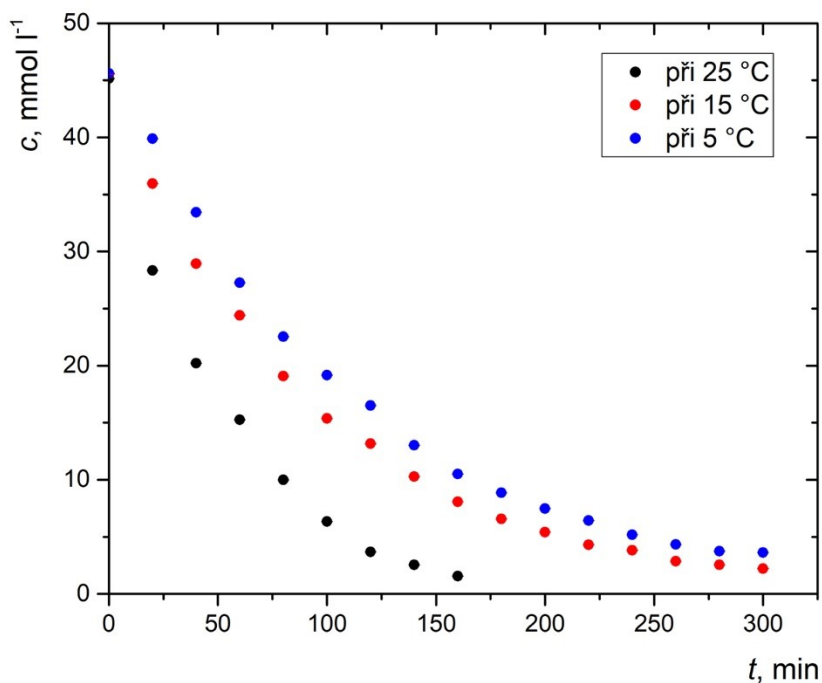
4.3 Sledování úbytku ClO₂ z otevřené nádoby

Monitorování úbytku oxidu chloričitého z roztoku bylo prováděno ve dvoumilitrových otevřených lahvičkách. Cílem bylo udržet oxid chloričitý v roztoku co nejdéle, aby případné prostředky na ošetřování ran, které by ho obsahovaly, nemusely být aplikovány příliš často.

4.3.1 Optimalizace metody

Nejprve byla optimalizována teplota, při které byly pokusy prováděny. Pro měření byl použit roztok oxidu chloričitého o koncentraci 45,7 mM. Nejdříve byla sledována rychlost úbytku oxidu chloričitého při laboratorní teplotě, pak při teplotách 15 °C a 5 °C. Absorbance vzorku byla měřena každých 20 min. Jako metoda ke stanovení koncentrace byla použita UV-Vis spektroskopie, kde naměřená absorbance oxidu chloričitého byla podle kalibrace přepočítána na koncentraci oxidu chloričitého ve vzorku. Na základě

získaných hodnot byl sestaven graf závislosti koncentrace oxidu chloričitého v roztoku na čase (obrázek 14).



Obrázek 14: Závislost koncentrace oxidu chloričitého na čase při různých teplotách

V programu Origin byl vypočten poločas úbytku oxidu chloričitého z roztoku pro výše uvedená měření. Výsledky jsou znázorněny v tabulce 2.

Tabulka 2: Získané poločasy úbytku oxidu chloričitého ve vodném roztoku při 25, 15 a 5 °C

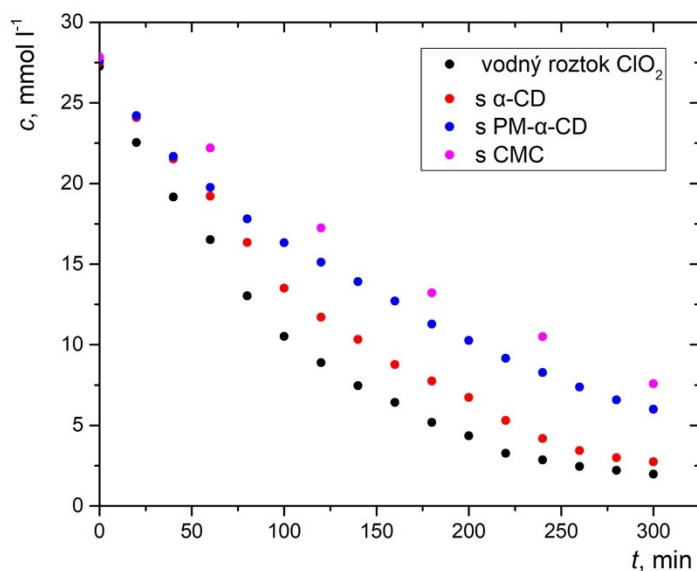
Teplota °C	$t_{1/2}$ min
25	34,3
15	66,1
5	82,4

Poločas úbytku oxidu chloričitého z roztoku při 5 °C byl 82,4 min. Tento poločas byl zvolen jako nejvhodnější pro získání přesnějších výsledků, a z praktických důvodů kolem odebírání vzorku a měření. Pokud by byl poločas úbytku výrazně delší, celý proces

měření by se příliš zpomalil. Proto byly následující experimenty prováděny při teplotě 5 °C.

4.3.2 Měření vzorků s CD a CMC

V následující fázi experimentu byla zkoumána rychlost úbytku oxidu chloričitého z roztoku v přítomnosti cyklodextrinů a CMC. Byly připraveny roztoky pro sledování koncentrace oxidu chloričitého (viz kapitola 5.2). Během pokusů byla sledována koncentrace oxidu chloričitého ve vzorcích odebíraných v pravidelných časových intervalech. Pokusy byly prováděny v kryostatu při teplotě 5 °C v otevřených dvoumililitrových lahvičkách. Každý pokus byl proveden třikrát. Výsledky měření jsou uvedeny na obrázku 15.



Obrázek 15: Závislost koncentrace oxidu chloričitého na čase v roztoku v přítomnosti 58,0 mM α-CD, 57,9 mM PM-α-CD a 0,2% CMC při teplotě 5 °C

Vypočtené poločasy pro jednotlivá měření jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Získané poločasy úbytku oxidu chloričitého ve vodném roztoku, v roztoku s 58,0 mM α -CD, 57,9 mM PM- α -CD a 0,2% CMC

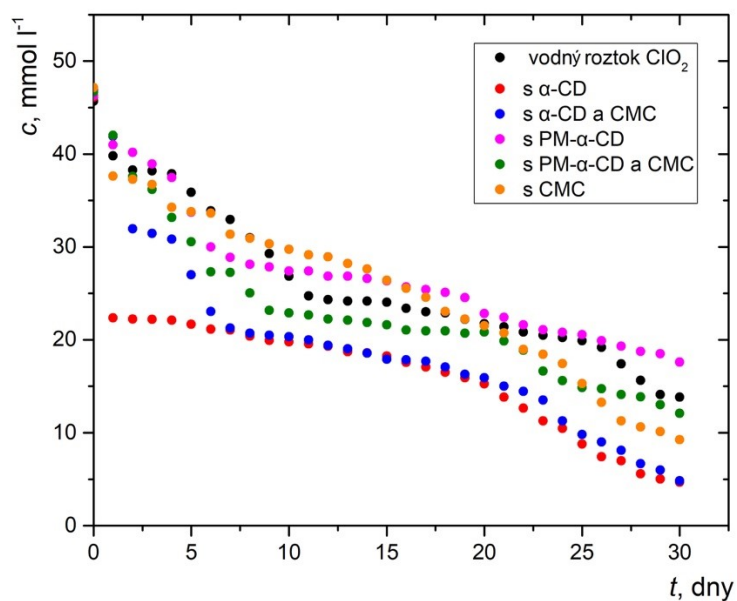
Roztok	$t_{1/2}$ min
Vodný roztok ClO ₂	75,5
ClO ₂ s α -CD	114,6
ClO ₂ s PM- α -CD	141,5
ClO ₂ s CMC	205,2

Při porovnání výsledků je patrné, že jakýkoli CD zpomalil úbytek oxidu chloričitého z roztoku, ale v přítomnosti PM- α -CD bylo ubývání nejpomalejší. Největší poločas úbytku oxidu chloričitého byl v roztoku v přítomnosti CMC. Jak je vidět z obrázku 15, přidávek CMC do roztoku obsahujícího oxid chloričitý téměř třikrát zpomaluje rychlost úbytku oxidu chloričitého z otevřené lahvičky. Viskozita roztoku se zvyšuje s rostoucí koncentrací CMC. Vyšší viskozita zpomaluje difúzi oxidu chloričitého, a tedy jeho úbytek z roztoku v otevřené lahvičce je pomalejší.

Statistické hodnoty měření jsou uvedeny v podkapitole 5.3.2. Ve všech měřeních byla relativní směrodatná odchylka menší než 5 %.

4.4 Dlouhodobé sledování chemické stability roztoků ClO₂

Monitorování chemické stability oxidu chloričitého v přítomnosti CD nebo CMC probíhalo v uzavřených dvoumilitrových lahvičkách, které byly umístěny ve stojanu na zkumavky. Stojan byl shora poklopen kartonovou krabicí. Měření bylo prováděno při laboratorní teplotě. Tento přístup poskytuje kontrolované prostředí, které minimalizuje vliv vnějších faktorů, jako je kolísání teploty, působení světla a výměna vzduchu, které by mohly potenciálně ovlivnit stabilitu oxidu chloričitého. Roztoky oxidu chloričitého s CD a CMC byly připraveny podle podkapitoly 5.3.2. Absorbance byla měřena ve vzorcích odebíraných každých 24 hodin. Výsledek měření je uveden na obrázku 16.



Obrázek 16: Graf závislosti koncentrace oxidu chloričitého na čase v roztoku obsahujícím CD a CMC při laboratorní teplotě v uzavřené nádobě

Stabilita oxidu chloričitého v přítomnosti CD a CMC byla sledována po dobu jednoho měsíce. Jak je patrné z obrázku 16, přidání PM- α -CD způsobuje pomalejší úbytek oxidu chloričitého z roztoku. PM- α -CD zřejmě stabilizuje oxid chloričitý, zatímco α -CD zřejmě způsobuje rychlejší rozklad a úbytek oxidu chloričitého z roztoku, protože s ním reaguje.

Z výsledků dosažených v této práci lze říci, že vliv α -CD a PM- α -CD na stabilitu oxidu chloričitého je odlišný. Zatímco α -CD má potenciál reagovat s oxidem chloričitým a urychlovat jeho rozklad, PM- α -CD zjevně stabilizuje oxid chloričitý. CMC přispívá ke snížení rychlosti úbytku oxidu chloričitého tím, že zvyšuje viskozitu roztoku, čímž zpomaluje difúzi. Kombinace PM- α -CD a CMC ve srovnání se samotnou CMC z nejasných důvodů nepřinesla lepší výsledky. Avšak oxid chloričitý se z CMC uvolňuje dostatečně pomalu, reakcí s CMC se příliš nerozkládá. Proto by relativně drahý PM- α -CD pravděpodobně nepřinesl tolik výhod.

4.5 Ověření tvorby inkluzního komplexu α -CD s ClO_2

Příprava pevného inkluzního komplexu oxidu chloričitého s α -CD byla předmětem nedávno publikované práce⁶³. V rámci této bakalářské práce byla ověřena reprodukovatelnost přípravy krystalického komplexu oxidu chloričitého s α -CD. Inkluzní komplex byl připraven podle postupu popsáno v článku a je uveden v podkapitole 5.3.2. Reprodukovatelnost publikovaného postupu byla potvrzena. Výtěžek reakce činil 70 %. Pro pomalé uvolňování oxidu chloričitého se plánovalo použití suspenze tohoto komplexu, ale od toho se upustilo vzhledem k dostatečné stabilitě oxidu chloričitého v roztoku CMC.

5. Experimentální část

5.1 Obecné postupy a chemikálie

5.1.1 Chemikálie

- kyselina citronová – p.a., P-Lab
- škrob – 0,5%, p.a., P-Lab
- chloritan sodný – 24,5%, p.a., Fichema
- kyselina sírová – 96%, p.a., Penta
- jodid draselný – p.a., Penta
- thiosíran sodný – p.a., Penta
- α -cyklodextrin – p.a., Wacker Chemie
- hexakis(2,3,4-tri-*O*-methyl)- α -cyklodextrin – p.a., CycloLab
- sodná sůl karboxymethylcelulózy – p.a., Merck

5.1.2 Další přístroje a pomůcky

K provedení pokusů byly potřeba skleněné kádinky o různých objemech, automatické pipety o objemech 1–10 μl a 100–1000 μl , dále byly potřeba 100ml odměrné baňky, zásobní lahve o objemech 250 ml, lahvičky o objemu 2 ml a stojan na zkumavky. UV absorpční spektra byla měřena na přístroji Thermo Scientific Evolution 60 s rozsahem vlnových délek od 190 do 1100 nm. Hamiltonova injekční stříkačka byla zakoupena od firmy P-Lab. Analytické váhy pocházely od společnosti Kern, magnetická míchačka od společnosti VWR. Kryostat byl použit od firmy Julabo.

5.2 Příprava roztoků

5.2.1 Zásobní roztok oxidu chloričitého

Byl připravován zásobní roztok oxidu chloričitého o přibližné koncentraci 45 mM. Rozsah koncentrací byl vždy 45-55 mM. Koncentrace hotového roztoku oxidu chloričitého byla stanovena jodometricky (viz podkapitola 5.3.1). Do 500 ml zavařovací sklenice bylo nalito 250 ml deionizované vody. 10 ml 24,5% vychlazeného roztoku chloritanu sodného bylo nalito do skleněné kádinky objemem 25 ml a k tomu bylo přidáno 6 g prášku kyseliny citronové. Kádinka byla ponořena do zavařovací sklenice a její horní okraj musel být nad hladinou vody. Zavařovací sklenice byla vzduchotěsně uzavřena, aby v ní docházelo k difuzi vznikajícího ClO_2 do deionizované vody. Reakce probíhala přibližně 24 hodin při laboratorní teplotě a na tmavém místě v uzavřené skříni. Hotový roztok oxidu chloričitého byl přelit do tmavé skleněné láhve a uchováván v lednici. Před prováděním experimentu byl vždy roztok oxidu chloričitého zředěn na 45 mM.

5.2.2 0,01M roztok thiosíranu sodného

Bylo připraveno⁶⁴ 100 ml 0,1M odměrného roztoku thiosíranu sodného navážením 2,500 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a 0,02 g Na_2CO_3 a smícháním s destilovanou vodou. K 10 ml tohoto roztoku bylo přidáno 0,02 g Na_2CO_3 a doplněno destilovanou vodou na objem 100 ml.

5.2.3 Roztok oxidu chloričitého s α -CD

Byl připraven nasycený roztok α -CD. Do 5 ml odměrné banky bylo odváženo 0,726 g α -CD a přidáno 1 ml deionizované vody. Následně byl objem doplněn vodou po rysku. Baňka byla zahřívána horkovzdušnou pistolí, dokud se α -CD nerozpustil. Molární koncentrace roztoku byla 149,2 mM. Z tohoto roztoku bylo odebráno 0,7 ml a k tomu přidáno 1,1 ml 45,2 mM roztoku oxidu chloričitého. Výsledná koncentrace oxidu chloričitého v roztoku byla 27,6 mM. Molární koncentrace α -CD ve výsledném roztoku byla 58,0 mM.

5.2.4 Roztok oxidu chloričitého s hexakis(2,3,4-tri-*O*-methyl)- α -CD

Do 5 ml odměrné banky bylo naváženo 0,913 g hexakis(2,3,4-tri-*O*-methyl)- α -CD a rozpuštěno v 1 ml deionizované vody. Následně byl objem doplněn vodou po rysku. Molární koncentrace roztoku byla 149,0 mM. Do 2 ml lahvičky bylo odpipetováno 1,1 ml 45,2 mM roztoku oxidu chloričitého a k tomu přidáno 0,7 ml nasyceného roztoku PM- α -CD. Výsledná koncentrace oxidu chloričitého v roztoku byla 27,6 mM. Výsledná molární koncentrace PM- α -CD v roztoku činila 57,9 mM.

5.2.5 Roztok oxidu chloričitého s CMC

Byl připraven 0,5% roztok CMC. V 10 ml deionizované vody bylo rozpuštěno 50 mg sodné soli karboxymethylcelulózy. Pomocí automatické pipety bylo 0,7 ml tohoto roztoku odpipetováno do 2 ml lahvičky a přidáno 1,1 ml 45,7 mM roztoku oxidu chloričitého. Konečná koncentrace oxidu chloričitého v roztoku byla 27,9 mM.

5.3 Pracovní postupy

5.3.1 Jodometrické stanovení

Stanovení koncentrace oxidu chloričitého v roztoku bylo prováděno pomocí jodometrické titrace. Jodometrická titrace byla prováděna v souladu s ČSN ISO 7393-3: Jakost vod. Stanovení volného a celkového chloru. Část 3: Jodometrická titrační metoda

stanovení celkového chloru⁶⁵. Roztok byl titrován thiosíranem sodným před každým experimentem. Do titrační banky pomocí automatické pipety bylo odpipetováno 1,00 ml roztoku oxidu chloričitého, k tomu přidáno 0,1 g jodidu draselného a 1,00 ml 9,6% kyseliny sírové. Baňka byla uzavřena a ponechána 5 minut stát na tmavém místě. Pak byl obsah baňky titrován z byřety o objemu 25 ml 0,01M odměrným roztokem thiosíranu sodného do slabě žlutého zbarvení roztoku. Poté bylo přidáno 1 ml 0,5 % roztoku škrobu a obsah titrační baňky byl dále titrován, až jedinou kapkou titračního činidla hnědé zbarvení zmizelo. Ze spotřeby titračního činidla a ze známé stechiometrie byla vypočítána koncentrace oxidu chloričitého v roztoku.

5.3.2 Sledování koncentrace oxidu chloričitého

Pro optimalizaci metody a monitorování rychlosti úbytku oxidu chloričitého z roztoku v přítomnosti cyklodextrinů a CMC byly připraveny tři sady roztoků. Pomocí automatické pipety bylo nalito 1,8 ml roztoku oxidu chloričitého do dvoumilitrových lahvíček. Ke každému vzorku byla přidána malá magnetická míchadélka (průměr 3 mm, délka 8 mm). Vzorky byly umístěny na magnetickou míchačku (v případě měření při laboratorní teplotě) a do kryostatu (v případě měření při 15 °C a 5 °C). Absorbance vzorku se měřila každých 20 minut. Vzorky byly podle očekávané koncentrace vhodně ředěny vodou 100krát, do celkového objemu vzorku 1,8 ml. Vzorky byly odebírány pomocí Hamiltonovy stříkačky o objemu 25 μ l. 20 μ l vzorku bylo rozpuštěno v 1,98 ml vody. Každý vzorek byl změřen třikrát. Při monitorování stability oxidu chloričitého v roztoku v přítomnosti cyklodextrinů a karboxymethylcelulózy byly připraveny tři sady roztoků oxidu chloričitého podle tabulky 2.

Tabulka 4: Příprava roztoků pro sledování stability oxidu chloričitého

Roztok	V_{ClO_2} ml	m_{CD} mg	m_{CMC} mg
ClO ₂ + α-CD	1	100	-
ClO ₂ + α-CD + CMC	1	50	12,5
ClO ₂ + PM-α-CD	1	145	-
ClO ₂ + PM-α-CD + CMC	1	70	12,5
ClO ₂ + CMC	1	-	25,3
Standard ClO ₂	1	-	-

Ke každému vzorku byla přidána malá magnetická míchadélka (průměr 3 mm, délka 8 mm). Reakce probíhaly v uzavřených dvoumililitrových lahvičkách při laboratorní teplotě (25 °C) na magnetické míchačce (220 otač/min.) a ve tmě. Absorbance byla měřena ve vzorcích odebraných každých 24 hodin. Vzorky byly ředěny vodou na celkový objem vzorku 1,8 ml. Ze změřených hodnot absorbancí jednotlivých sad v různých časech byly vypočítány koncentrace oxidu chloričitého podle rovnice kalibrační křivky. Z nich byl spočítán medián, ze kterého byla získána směrodatná odchylka a následně mohla být spočítána relativní směrodatná odchylka. Dále v tabulkách jsou uvedeny statistické hodnoty pro každé měření.

Tabulka 5: Získané mediány koncentrací oxidu chloričitého v roztoku α -CD, směrodatné odchylky a relativní směrodatné odchylky pro příslušná měření v různých časech

t min	c_{ClO_2} (medián) mmol l ⁻¹	S —	RSD %
0	27,51	0,0007	1,32%
20	24,08	0,0010	0,51%
40	21,51	0,0013	0,74%
60	19,22	0,0024	1,55%
80	16,35	0,0013	1,00%
100	13,50	0,0013	1,24%
120	11,70	0,0035	3,94%
140	10,33	0,0003	0,36%
160	8,76	0,0011	1,66%
180	7,75	0,0007	1,27%
200	6,73	0,0004	0,93%
220	5,31	0,0010	2,82%
240	4,18	0,0005	2,06%
260	3,43	0,0002	1,20%
280	2,98	0,0002	2,71%
300	2,74	0,0002	2,87%

Tabulka 6: Získané mediány koncentrací oxidu chloričitého v roztoku PM- α -CD, směrodatné odchylky a relativní směrodatné odchylky pro příslušná měření v různých časech

t min	c_{ClO_2} (medián) mmol l ⁻¹	s —	RSD %
0	27,62	0,0007	1,32%
20	24,21	0,0006	1,28%
40	21,68	0,0010	0,55%
60	19,75	0,0004	2,27%
80	17,80	0,0003	1,20%
100	16,32	0,0005	3,41%
120	15,12	0,0006	1,51%
140	13,92	0,0007	2,62%
160	12,71	0,0005	1,53%
180	11,28	0,0003	1,30%
200	10,26	0,0022	2,53%
220	9,15	0,0009	1,21%
240	8,27	0,0007	1,02%
260	7,37	0,0005	0,81%
280	6,57	0,0002	0,37%
300	5,99	0,0005	1,36%

Tabulka 7: Získané mediány koncentrací oxidu chloričitého ve vodném roztoku, směrodatné odchyly a relativní směrodatné odchyly pro příslušná měření v různých časech

<i>t</i> min	c_{ClO_2} (medián) mmol l ⁻¹	<i>s</i> —	<i>RSD</i> %
0	27,27	0,0002	0,90%
20	22,54	0,0009	0,47%
40	19,16	0,0007	0,46%
60	16,51	0,0010	0,80%
80	13,03	0,0008	0,77%
100	10,52	0,0004	0,52%
120	8,88	0,0005	0,83%
140	7,47	0,0001	0,16%
160	6,43	0,0002	0,42%
180	5,19	0,0009	2,81%
200	4,35	0,0004	1,45%
220	3,27	0,0001	0,47%
240	2,87	0,0004	2,70%
260	2,45	0,0002	2,44%
280	2,22	0,0002	2,81%
300	1,98	0,0001	2,54%

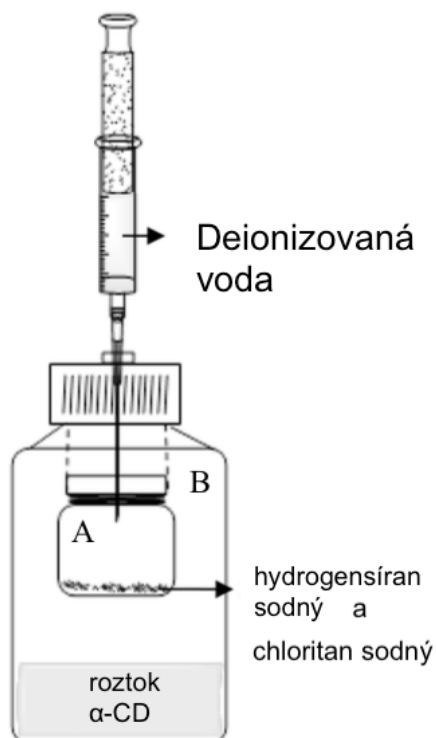
Tabulka 8: Získané mediány koncentrací oxidu chloričitého v roztoku v přítomnosti 0,2% CMC, směrodatné odchyly a relativní směrodatné odchyly pro příslušná měření v různých časech

<i>t</i> min	c_{ClO_2} (medián) mmol l ⁻¹	<i>s</i> —	<i>RSD</i> %
0	27,84	0,0122	5,32%
60	22,20	0,0028	1,57%
120	17,25	0,0023	1,64%
180	13,21	0,0025	2,44%
240	10,50	0,0019	2,44%
300	7,57	0,0017	3,24%

5.3.3 Příprava inkluzního komplexu ClO₂ a α-CD

Inkluzní komplex byl připraven postupem podle literatury⁶³. V baňce o objemu 500 ml byl rozpuštěn α-CD (2 g, 2,06 mmol) ve 14 ml deionizované vody. Po úplném rozpuštění α-CD pomocí drátu byla do baňky umístěna dvoumilitrová lahvička jako generační nádoba obsahující hydrogensíran sodný (0,3 g, 2,5 mmol) a 24,5% roztok chloritanu sodného (0,8 ml, 2,6 mmol). Baňka byla uzavřena silikonovým septem. Pomocí injekční stříkačky do lahvičky byla přes septum vstříknuta deionizovaná voda, čímž byla zahájena

generace ClO_2 . Oxid chloričitý se vytvářel na základě okyselení chloritanu sodného. Poté byl celý systém umístěn na mechanickou třepačku při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin, během níž se v baňce s roztokem α -CD vytvářela zelenožlutá sraženina. Celý systém byl přes noc uložen do chladničky (při $4\text{ }^\circ\text{C}$). Po uložení v chladničce byl vysrážený prášek (inkluzní komplex) promyt ethanolem a oddělen vakuovou filtrací. Výtěžek činil 70 % (1,4 g).



Obrázek 17: Experimentální sestava (A: generační nádoba, B: enkapsulační nádoba)

6. Závěr

Cílem této práce bylo kvantifikovat stabilizační účinky cyklodextrinů na oxid chloričitý právě tak jako hydrogelačního činidla. Byly použity nativní CD (α -CD), methylovaný CD (PM- α -CD) a CMC. Byla optimalizovaná teplota, při které byly prováděny další studie. Byla ověřena tvorba inkluzního krystalového komplexu α -CD s oxidem chloričitým.

Rychlost úbytku oxidu chloričitého z roztoku byla sledována v přítomnosti CD a CMC v otevřené nádobě, simulující přípravek aplikovaný na ránu. Při monitorování rychlosti úbytku oxidu chloričitého z roztoku bylo zjištěno, že přítomnost nativního a methylovaného CD zpomaluje úbytek oxidu chloričitého z roztoku, v přítomnosti PM- α -CD byl rozklad nejpomalejší. Bylo zjištěno, že v přítomnosti CMC ubýval oxid chloričitý výrazně nejpomaleji, téměř třikrát, oproti samotnému ClO_2 .

V uzavřené nádobě byly provedeny studie chemické stability, aby se zjistil vliv CD a CMC na rozklad oxidu chloričitého. Nativní α -CD snižoval stabilitu roztoku oxidu chloričitého ve srovnání se samotným ClO_2 , protože s ním reagoval. Přítomnost permethylovaného α -cyklodextrinu v roztoku oxidu chloričitého vedla ke zvýšení chemické stability ve srovnání s nativním cyklodextrinem a samotným ClO_2 . Bylo však zjištěno, že z nejasných důvodů kombinace PM- α -CD a CMC v roztoku oxidu chloričitého nevedla ke zlepšení chemické stability. Avšak roztok oxidu chloričitého stabilizovaný samotnou CMC vykazuje dostatečnou stabilitu pro praktické použití bez nutnosti stabilizace permethylovaným cyklodextrinem. Všechna měření byla provedena za využití UV-Vis spektroskopie.

7. Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za poskytnuté téma, vedení mé bakalářské práce, cenné rady a trpělivost. Dále děkuji všem členům laboratoře za vytvoření příjemné atmosféry v laboratoři.

8. Literatura

- (1) Gómez-López, V. M. Chlorine Dioxide. In *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*; Wexler, P., Ed.; Academic Press: Oxford, **2014**; pp 864–866. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00278-5>.
- (2) Sun, X.; Baldwin, E.; Ference, C.; Narciso, J.; Plotto, A.; Ritenour, M.; Harrison, K.; Gangemi, D.; Bai, J. The Effect of Controlled-Release Chlorine Dioxide on the Preservation of Grapefruit. *HortScience* **2017**, *52* (1), 122–126. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11363-16>.
- (3) Lee, Y.; Burgess, G.; Rubino, M.; Auras, R. Reaction and Diffusion of Chlorine Dioxide Gas under Dark and Light Conditions at Different Temperatures. *J. Food Eng.* **2015**, *144*, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.008>
- (4) Gordon, G.; Rosenblatt, A. A. Chlorine Dioxide: The Current State of the Art. *Ozone: Sci. Eng.* **2005**, *27* (3), 203–207. <https://doi.org/10.1080/01919510590945741>
- (5) Wang, Y.; Zhao, H.; Huang, L.; Chen, G.; Wei, Z.; Mo, Q.; Li, Y.; Wang, X.; Huang, C.; Chen, Q. Development of Chlorine Dioxide Sustained-Release Device Using Carboxymethyl Cellulose-Polyvinyl Alcohol- β -Cyclodextrin Ternary Hydrogel and a New Sustained-Release Kinetic Model. *Cellulose (Lond)* **2023**, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05070-6>
- (6) Michalak, I.; Chojnacka, K. Biocides. In *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*; Wexler, P., Ed.; Academic Press: Oxford, **2014**; pp 461–463. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00472-3>.
- (7) Typy přípravků - ECHA. <https://echa.europa.eu/cs/regulations/biocidal-products-regulation/product-types> (accessed 2023-02-25).
- (8) Jones, I. A.; Joshi, L. T. Biocide Use in the Antimicrobial Era: A Review. *Molecules* **2021**, *26* (8), 2276. <https://doi.org/10.3390/molecules26082276>.
- (9) Arzani, F. A.; dos Santos, J. H. Z. Biocides and Techniques for Their Encapsulation: A Review. *Soft Matter* **2022**, *18* (29), 5340–5358. <https://doi.org/10.1039/D1SM01114F>.
- (10) Linley, E.; Denyer, S. P.; McDonnell, G.; Simons, C.; Maillard, J.-Y. Use of Hydrogen Peroxide as a Biocide: New Consideration of Its Mechanisms of Biocidal Action. *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67* (7), 1589–1596. <https://doi.org/10.1093/jac/dks129>.
- (11) Finnegan, M.; Linley, E.; Denyer, S. P.; McDonnell, G.; Simons, C.; Maillard, J.-Y. Mode of Action of Hydrogen Peroxide and Other Oxidizing Agents: Differences between Liquid and Gas Forms. *J Antimicrob. Chemother.* **2010**, *65* (10), 2108–2115. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq308>.
- (12) Kitis, M. Disinfection of Wastewater with Peracetic Acid: A Review. *Environ Int* **2004**, *30* (1), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8).
- (13) Chauret, C. P. Sanitization. In *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*; Batt, C. A., Tortorello, M. L., Eds.; Academic Press: Oxford, 2014; pp 360–364. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00407-9>.
- (14) Jin, R.; Hu, S.; Zhang, Y.; Bo, T. Concentration-Dependence of the Explosion Characteristics of Chlorine Dioxide Gas. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *166* (2), 842–847.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.11.124>.

(15) Chuang, Y.-H.; Wu, K.-L.; Lin, W.-C.; Shi, H.-J. Photolysis of Chlorine Dioxide under UVA Irradiation: Radical Formation, Application in Treating Micropollutants, Formation of Disinfection Byproducts, and Toxicity under Scenarios Relevant to Potable Reuse and Drinking Water. *Environ. Sci. Technol.* **2022**, *56* (4), 2593–2604. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c05707>.

(16) Tanaka, K.; Tanaka, T. CO₂ and N₂O Laser Stark Spectroscopy of the N1 Band of the ClO₂ Radical. *J. Mol. Spectrosc.* **1983**, *98* (2), 425–452. [https://doi.org/10.1016/0022-2852\(83\)90253-9](https://doi.org/10.1016/0022-2852(83)90253-9).

(17) Brockway, L. O. The Three-Electron Bond in Chlorine Dioxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1933**, *19* (3), 303–307. <https://doi.org/10.1073/pnas.19.3.303>.

(18) Jost, W. Linus Pauling: “General Chemistry”, 2nd ed.; W.H. Freeman and Company: San Francisco, CA, USA, **1954**

(19) Andrés, C. M. C.; Lastra, J. M. P. de la; Andrés Juan, C.; Plou, F. J.; Pérez-Lebeña, E. Chlorine Dioxide: Friend or Foe for Cell Biomolecules? A Chemical Approach. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23* (24), 15660. <https://doi.org/10.3390/ijms232415660>.

(20) Alhamzah, A.; Rahman, M.; Kurup, P.; Barnawi, A.; Ghannam, B.; Musharraf, I.; Najjar, F.; Obeidallah, A.; Palmer, N. Use of Chlorine Dioxide as Alternative to Chlorination in Reverse Osmosis Product Water. *Desalin. Water Treat.* **2019**, *163*, 57–66. <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.24441>.

(21) Janda, V.; Pech, P.; Pechová, M. Disinfection of water and its undesirable by-products. *Kvasný Průmysl* **2004**, *50* (11–12), 335–340. <https://doi.org/10.18832/kp2004022>.

(22) Gómez-López, V. M.; Rajkovic, A.; Ragaert, P.; Smigic, N.; Devlieghere, F. Chlorine Dioxide for Minimally Processed Produce Preservation: A Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2009**, *20* (1), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.09.005>.

(23) Chejfec-Ciociano, J. M.; Martínez-Herrera, J. P.; Parra-Guerra, A. D.; Chejfec, R.; Barbosa-Camacho, F. J.; Ibarrola-Peña, J. C.; Cervantes-Guevara, G.; Cervantes-Cardona, G. A.; Fuentes-Orozco, C.; Cervantes-Pérez, E.; García-Reyna, B.; González-Ojeda, A. Misinformation About and Interest in Chlorine Dioxide During the COVID-19 Pandemic in Mexico Identified Using Google Trends Data: Infodemiology Study. *JMIR Infodemiology* **2022**, *2* (1), e29894. <https://doi.org/10.2196/29894>.

(24) Mostajo Radji, M. Pseudoscience in the Times of Crisis: How and Why Chlorine Dioxide Consumption Became Popular in Latin America During the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Political Science* **2021**, *3*, 621370. <https://doi.org/10.3389/fpos.2021.621370>.

(25) Patel, Y. M.; Wong, D. Toxicological Review of Chlorine Dioxide and Chlorite (CAS No. 10049-04-4 and 7758-19-2): In *Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS)*; U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC, 2000.

(26) Soriano-Moreno, D. R.; Fernandez-Guzman, D.; Ccami-Bernal, F.; Rojas-Miliano, C.; Nieto-Gutierrez, W. Factors Associated with the Consumption of Chlorine Dioxide to Prevent and Treat COVID-19 in the Peruvian Population: A Cross-Sectional Study. *BMC Public Health* **2021**, *21* (1), 2109. <https://doi.org/10.1186/s12889-021->

12191-9.

- (27) Vincenti, S.; de Waure, C.; Raponi, M.; Teleman, A. A.; Boninti, F.; Bruno, S.; Boccia, S.; Damiani, G.; Laurenti, P. Environmental Surveillance of *Legionella* Spp. Colonization in the Water System of a Large Academic Hospital: Analysis of the Four-Year Results on the Effectiveness of the Chlorine Dioxide Disinfection Method. *Sci. Total Environ.* **2019**, *657*, 248–253. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.036>.
- (28) Vandekinderen, I.; Devlieghere, F.; Van Camp, J.; Kerkaert, B.; Cucu, T.; Ragaert, P.; De Bruyne, J.; De Meulenaer, B. Effects of Food Composition on the Inactivation of Foodborne Microorganisms by Chlorine Dioxide. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *131* (2), 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.004>.
- (29) Biwer, A.; Antranikian, G.; Heinzle, E. Enzymatic Production of Cyclodextrins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *59* (6), 609–617. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1057-x>.
- (30) Ikuta, D.; Hirata, Y.; Wakamori, S.; Shimada, H.; Tomabechi, Y.; Kawasaki, Y.; Ikeuchi, K.; Hagimori, T.; Matsumoto, S.; Yamada, H. Conformationally Supple Glucose Monomers Enable Synthesis of the Smallest Cyclodextrins. *Science* **2019**, *364* (6441), 674–677. <https://doi.org/10.1126/science.aaw3053>.
- (31) Nakagawa, T.; Ueno, K.; Kashiwa, M.; Watanabe, J. The Stereoselective Synthesis of Cyclomaltopentaose. A Novel Cyclodextrin Homologue with D.P. Five. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35* (12), 1921–1924. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)73196-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)73196-0).
- (32) Wüpper, S.; Lüersen, K.; Rimbach, G. Cyclodextrins, Natural Compounds, and Plant Bioactives—A Nutritional Perspective. *Biomolecules* **2021**, *11* (3), 401. <https://doi.org/10.3390/biom11030401>.
- (33) Del Valle, E. M. M. Cyclodextrins and Their Uses: A Review. *Process Biochem.* **2004**, *39* (9), 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9).
- (34) Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p>.
- (35) Abou-Zied, O. K. Steady-State and Time-Resolved Spectroscopy of 2,2'-Bipyridine-3,3'-Diol in Solvents and Cyclodextrins: Polarity and Nanoconfinement Effects on Tautomerization. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114* (2), 1069–1076. <https://doi.org/10.1021/jp909528e>.
- (36) Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1743–1754. <https://doi.org/10.1021/cr970022c>.
- (37) Aiassa, V.; Garnero, C.; Longhi, M. R.; Zoppi, A. Cyclodextrin Multicomponent Complexes: Pharmaceutical Applications. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (7), 1099. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071099>.
- (38) Qiu, N.; Li, X.; Liu, J. Application of Cyclodextrins in Cancer Treatment. *J. Incl. Phenom. Macr. Chem.* **2017**, *89* (3–4), 229–246. <https://doi.org/10.1007/s10847-017-0752-2>.
- (39) Gonzalez Pereira, A.; Carpena, M.; García Oliveira, P.; Mejuto, J. C.; Prieto, M. A.; Simal Gandara, J. Main Applications of Cyclodextrins in the Food Industry as the Compounds of Choice to Form Host–Guest Complexes. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22* (3), 1339. <https://doi.org/10.3390/ijms22031339>.
- (40) Gibbs, B. F.; Kermasha, S.; Alli, I.; Mulligan, C. N. Encapsulation in the Food

- Industry: A Review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **1999**, *50* (3), 213–224. <https://doi.org/10.1080/096374899101256>.
- (41) Szente, L.; Szejtli, J. Cyclodextrins as Food Ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* **2004**, *15* (3), 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.019>.
- (42) Alonso, L.; Cuesta, P.; Fontecha, J.; Juarez, M.; Gilliland, S. E. Use of β -Cyclodextrin to Decrease the Level of Cholesterol in Milk Fat1. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92* (3), 863–869. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1452>.
- (43) Ferreira, L.; Mascarenhas-Melo, F.; Rabaça, S.; Mathur, A.; Sharma, A.; Giram, P. S.; Pawar, K. D.; Rahdar, A.; Raza, F.; Veiga, F.; Mazzola, P. G.; Paiva-Santos, A. C. Cyclodextrin-Based Dermatological Formulations: Dermopharmaceutical and Cosmetic Applications. *Colloids Surf., B* **2023**, *221*, 113012. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.113012>.
- (44) Centini, M.; Maggiore, M.; Casolaro, M.; Andreassi, M.; Facino, R.; Anselmi, C. Cyclodextrins as Cosmetic Delivery Systems. *J. Inclusion Phenom.* **2007**, *57*, 109–112. <https://doi.org/10.1007/s10847-006-9212-0>.
- (45) Numanoğlu, U.; Şen, T.; Tarimci, N.; Kartal, M.; Koo, O. M. Y.; Önyüksel, H. Use of Cyclodextrins as a Cosmetic Delivery System for Fragrance Materials: Linalool and Benzyl Acetate. *AAPS PharmSciTech* **2007**, *8* (4), 34–42. <https://doi.org/10.1208/pt0804085>.
- (46) Bezerra, F. M.; Lis, M. J.; Firmino, H. B.; Dias da Silva, J. G.; Curto Valle, R. de C. S.; Borges Valle, J. A.; Scacchetti, F. A. P.; Tessaro, A. L. The Role of β -Cyclodextrin in the Textile Industry—Review. *Molecules* **2020**, *25* (16), 3624. <https://doi.org/10.3390/molecules25163624>.
- (47) Tiwari, G.; Tiwari, R.; Rai, A. K. Cyclodextrins in Delivery Systems: Applications. *J. Pharm. BioAllied Sci.* **2010**, *2* (2), 72–79. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.67003>.
- (48) Ogoshi, T.; Harada, A. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors (Basel)* **2008**, *8* (8), 4961–4982. <https://doi.org/10.3390/s8084961>.
- (49) Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p>.
- (50) Liu, L.; Guo, Q.-X. The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. *J. Inclusion Phenomena* **2002**, *42* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1023/A:1014520830813>.
- (51) Kfoury, M.; Landy, D.; Fourmentin, S. Characterization of Cyclodextrin/Volatile Inclusion Complexes: A Review. *Molecules* **2018**, *23* (5), 1204. <https://doi.org/10.3390/molecules23051204>.
- (52) Kanikireddy, V.; Varaprasad, K.; Jayaramudu, T.; Karthikeyan, C.; Sadiku, R. Carboxymethyl Cellulose-Based Materials for Infection Control and Wound Healing: A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *164*, 963–975. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.160>.
- (53) Wong, T. W.; Ramli, N. A. Carboxymethylcellulose Film for Bacterial Wound Infection Control and Healing. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *112*, 367–375. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.002>.
- (54) Heinze, T.; Pfeiffer, K. Studies on the Synthesis and Characterization of

- Carboxymethylcellulose. *Makromol. Mater. Eng.* **1999**, *266* (1), 37–45. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-9505\(19990501\)266:1<37::AID-APMC37>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-9505(19990501)266:1<37::AID-APMC37>3.0.CO;2-Z).
- (55) Hollabaugh, C. B.; Burt, L. H.; Walsh, A. P. Carboxymethylcellulose. Uses and Applications. *Ind. Eng. Chem.* **1945**, *37* (10), 943–947. <https://doi.org/10.1021/ie50430a015>.
- (56) Kukrety, A.; Singh, R.; Singh, P.; Ray, S. Comprehension on the Synthesis of Carboxymethylcellulose (CMC) Utilizing Various Cellulose Rich Waste Biomass Resources. *Waste Biomass Valorization* **2018**, *9*, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9903-3>.
- (57) Rahman, M. S.; Hasan, M. S.; Nitai, A. S.; Nam, S.; Karmakar, A. K.; Ahsan, M. S.; Shiddiky, M. J. A.; Ahmed, M. B. Recent Developments of Carboxymethyl Cellulose. *Polymers* **2021**, *13* (8), 1345. <https://doi.org/10.3390/polym13081345>.
- (58) Ahmed, E. M. Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review. *J. Adv. Res.* **2015**, *6* (2), 105–121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>.
- (59) Agarwal, T.; Narayana, S. N. G. H.; Pal, K.; Pramanik, K.; Giri, S.; Banerjee, I. Calcium Alginate-Carboxymethyl Cellulose Beads for Colon-Targeted Drug Delivery. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, *75*, 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.052>.
- (60) Rakhshaei, R.; Namazi, H. A Potential Bioactive Wound Dressing Based on Carboxymethyl Cellulose/ZnO Impregnated MCM-41 Nanocomposite Hydrogel. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *73*, 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.097>.
- (61) Dadi, M.; Yasir, M.; Dadi, M.; Yasir, M. Spectroscopy and Spectrophotometry: Principles and Applications for Colorimetric and Related Other Analysis; **2022**. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101106>.
- (62) Skoog, D. A. Analytická Chemie, Vydání: první.; Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, **2019**.
- (63) GOST 18190-72 Pitná voda. Metody pro stanovení chloru zbytkového obsahu. - docs.cntd.ru. <https://docs.cntd.ru/document/1200008217> (accessed 2023-03-10).
- (64) eStudio.cz. ČSN ISO 7393-3 (757419). <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-iso-7393-3-757419-226356.html#> (accessed 2023-03-10).
- (65) Chen, M.; Chen, X.; Yam, K. Encapsulation Complex of Chlorine Dioxide in α -Cyclodextrin: Structure Characterization and Release Property. *Food Control* **2020**, *107*, 106783. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106783>.