

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VYUŽITÍ ELEKTROCHEMICKÉ IMPEDANČNÍ SPEKTROSKOPIE PRO OBJASNĚNÍ ELEKTROCHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ SMĚSÍ LECITINU A CHOLESTEROLU V MODELOVÝCH FOSFOLIPIDOVÝCH MEMBRÁNÁCH

KATEŘINA NOVÁKOVÁ^{a,b}, TOMÁŠ NAVRÁTIL^a, IVANA ŠESTÁKOVÁ^a, VLADIMÍR MAREČEK^a a JAROMÍRA CHÝLKOVÁ^b

^a Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Praha 8, ^b Ústav environmentálního a chemického inženýrství, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice

Tomas.Navratil@jh-inst.cas.cz

Došlo 22.10.13, přijato 25.11.13.

Klíčová slova: lecitin, cholesterol, biologická membrána, elektrochemická impedanční spektroskopie

Úvod

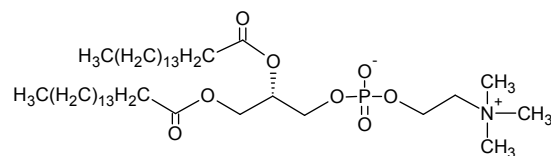
Bioelektrochemie je využívána pro objasnění elektrochemické podstaty biologických procesů. Biologické membrány jsou nejdůležitějším rozhraním s elektrochemickými vlastnostmi v živých organismech. Jedná se o velmi složitou směs látek lipidového charakteru a proteinů. Biomembrány mají velké množství funkcí a jednou z nejdůležitějších je schopnost tvořit selektivní bariéru mezi extracelulárním a intracelulárním prostředím a obdobně mezi některými subcelulárními kompartmenty. Všechny látky, které do buňky vstupují (např. živiny, pesticidy, organické kyseliny) nebo z ní vystupují, musí překonat tuto bariéru. Pro porozumění mechanismům přenosu přes ně je nezbytné mít k dispozici (či případně vyvinout) citlivé a spolehlivé pracující elektrody^{1–4} a dostatečně citlivé metody, kterými je možno přenášené látky detegovat a jejich množství kvantitativně určit (např. cit.^{5–9}). V některých případech se jedná o mechanismy dobře známé (přenos sodíku, draslíku, vápníku, kyslíku), avšak transport celé řady látek nebo iontů dosud dostatečně objasněn nebyl (např. nízkomolekulárních organických kyselin, těžkých kovů)¹⁰. Pro studium takovýchto pochodů se jeví jako velmi vhodné modelové biologické membrány. Je potřeba, aby byly svým složením a strukturou co možná

nejblíže k membránám reálným. Proto musíme disponovat spolehlivými metodami, které umožní jejich charakterizaci, což je cílem této práce.

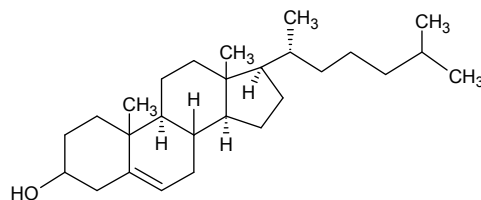
Hlavní složkou biologických membrán jsou fosfolipidy¹¹ (např. lecitin (fosfatidylcholin, obr. 1), fosfatidylinositol, fosfatidylethanolamin), proteiny a cholesterol (obr. 2). Tyto hlavní komponenty mají velmi významnou roli v molekulárních a makroskopických vlastnostech membrán¹².

Zjednodušeně by se dalo říci, že biologické membrány jsou tvořeny ze dvou fosfolipidových monovrstev. Ty se skládají z hydrofobních uhlíkových řetězců, které jsou orientovány k sobě navzájem a hydrofilních hlaviček, které jsou orientované směrem do vodného prostředí na obou stranách membrány. Cholesterol má velmi pozitivní vliv na stabilitu biologické membrány. Přítomnost cholesterolu v dvojvrstvě nemění orientaci lipidových hlaviček, protože jeho molekuly jsou umístěny paralelně k řetězcům mastných kyselin a jejich hydroxylová skupina je směřována ke karbonylové skupině lipidů^{13,14}.

Cholesterol je amfifilní molekula, která je složena ze steroidního jádra s uhlíkovým řetězcem (nepolární část) a z hydroxylové skupiny (polární část)¹⁵ a má velký vliv na specifické vlastnosti fosfolipidových dvojvrstev. Cholesterol hraje důležitou roli ve tvorbě lipidových raftů v biologických membránách a vykazuje výrazné kondenzační vlastnosti^{16,17}. Fyzikální studie směsi cholesterolu s dipalmitoylfosfatidylcholinem ukazují, že cholesterol má vliv na tvorbu modelové membrány. Cholesterol je nerovnoměrně rozmístěn v celé buněčné membráně, a proto se vytváří na cholesterol bohaté oblasti a oblasti bez cholesterolu^{12,18,19}. Jednou z jeho nejdůležitějších funkcí je ovliv-



Obr. 1. Strukturní vzorec lecitinu



Obr. 2. Strukturní vzorec cholesterolu

ňování fyzikálně-chemických vlastností membrán. Při vyšších koncentracích cholesterolu vykazují lipidy vyšší uspořádanost hydrofobních řetězců a tím dochází ke snížení fluidity.

Nejjednodušším modelem biologické membrány je planární lipidová dvojvrstva (PLB), jejíž uspořádání umožňuje snadný přístup k oběma jejím stranám, které reprezentují vnitřní a vnější prostředí buňky. Tento typ modelové membrány má dlouhou životnost a je relativně stabilní. Její příprava zabere málo času a její velikost (tenkost) je srovnatelná s reálnými fosfolipidovými membránami (PLMs). Všechny tyto vlastnosti^{20,21} poukazují na to, že tento typ modelové membrány se jeví jako vhodný pro výzkumné účely.

Existují dvě hlavní metody pro přípravu modelových PLMs (Muellerova²² a Langmuir-Blodgetova technika²³). Fyzikální vlastnosti takovýchto modelových membrán mohou být snadno měřeny. Z elektrického hlediska je možné si představit PLMs jako neideální kondenzátor, přičemž jej lze charakterizovat pomocí dvou veličin: kapacity (C) a odporu (R)²⁴.

Pro objasnění vlastností biologických membrán již existuje celá řada metod. V našem případě jsme využívali elektrochemickou impedanční spektroskopii²⁵ (EIS), která se ukázala být důležitým a užitečným nástrojem pro studium tohoto komplikovaného systému. Impedanční metody představují neinvazivní přístup pro detailní popis strukturálních a funkčních vlastností tohoto systému²⁶. Elektrická kapacita lipidových dvojvrstev závisí na řadě faktorů, např. na membránovém potenciálu, na složení membrán, teplotě, tvorbě pórů v membráně atd. Kapacita membrány také závisí na postupu přípravy modelové dvojvrstvy¹⁴.

Biologické membrány jsou velmi složitým komplexem a porozumění vlivu cholesterolu na tyto membrány je velmi důležitou problematikou, která byla na prvním místě našeho výzkumu na modelových membránách. Směs cholesterolu a lecitinu byla již v minulosti předmětem řady studií^{18,27–30}, ale získané poznatky jsou stále nekompletní.

Experimentální část

Chemikálie a materiály

Jako základní elektrolyt byl použit 0,1M KCl (suprapur, Merck). Rozpouštědla o čistotě p.a. (ethanol, 99,88% a *n*-heptan, 99%) byla získána od firmy Penta-Švec, Praha, Česká republika. Všechny ostatní použité chemikálie byly čistoty p.a. Pro všechna měření byla použita deionizovaná voda připravená v zařízení Milli-Q-Gradient, Millipore, Praha, Česká republika (konduktivita $< 0,05 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Pro přípravu lipidových membrán byly použity tyto látky: 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-fosfocholin (lecitin, DPPC, GPCCho (16:0/16:0)) (Avanti, Polar lipids, Alabaster, USA) a cholesterol (Sigma Grade, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich).

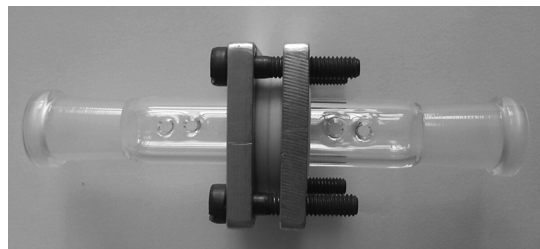
Lipidové membrány byly vytvářeny v pórech polykarbonátového nosiče od firmy Isopore™ Membrane Filters (Millipore, USA). Tento hydrofilní nosič byl použit ve dvou modifikacích velikosti pórů (8,0 μm a 2,0 μm), o porozitě 5–20 %, tloušťce 7–22 μm . Dále byly použity polykarbonátové hydrofilní nosiče od firmy Nuclepore Track-Etch Membrane (Whatman, USA) o velikosti pórů 0,2 μm a 0,05 μm .

Elektrochemická cela pro měření elektrochemické impedanční spektroskopie

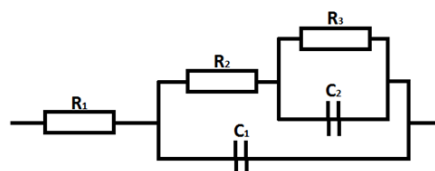
Pro naše experimenty byla použita tzv. „skleněná“ cela (obr. 3), která byla vyvinuta pro transport iontů přes PLMs v naší laboratoři³¹. Cela je složena ze dvou skleněných částí (tyto prostory, které jsou vzájemně oddělené pomocí dvou teflonových částí s otvorem o velikosti 0,07 cm^2 a mezi něž je umístěn porézní polykarbonátový nosič, reprezentují vnitřní a vnější prostředí buňky). Objem každé skleněné části činí 3 ml. Elektrody jsou umístěny do otvorů na vrchní straně skleněných součástí (dvě elektrody argentochloridové a jedna elektroda platinová; jak je uvedeno níže v kapitole Elektrochemická impedanční analýza). Jako základní elektrolyt byl použit 0,1M KCl, který byl pipetován do obou částí cely.

Elektrické ekvivalentní obvody

Různé typy elektrických ekvivalentních obvodů (angl. electrical equivalent circuits, EEC) byly testovány a používány pro charakterizaci vytvářených modelových dvouvrstev^{31–39}. EEC, který je zobrazen na obr. 4, byl použit pro



Obr. 3. Elektrochemická „skleněná“ cela



Obr. 4. Elektrický ekvivalentní obvod použitý pro charakterizaci modelové membrány tvořené v pórech polykarbonátového nosiče

objasnění tvorby a chování modelových fosfolipidových membrán v pórech polykarbonátového nosiče^{39,40}. Tento obvod vznikl z jednoduššího modelu používaného často pro charakterizaci nepokrytých elektrod či membrán (model R(RC) se skládá pouze z odporu (R_1) a k němu v sérii zapojené paralelní kombinace odporu (R_2) a kapacity (C_1)). K tomuto obvodu byla následně připojena ještě paralelní kombinace jedné kapacity (C_2) a jednoho odporu (R_3) v sérii k odporu s označením R_2 (cit.^{31,39}). Těsnost proložení byla charakterizována pomocí χ^2 kritéria. Jelikož toto kritérium pracuje s absolutními hodnotami, lišily se jeho výsledky v závislosti na absolutních hodnotách reálné, resp. imaginární složky impedance. Jako nejvhodnější byly brány aproximace dosahující nejnižší hodnoty χ^2 . Každá část tohoto obvodu (odpory R_i a kapacity C_i) byla použita pro charakterizaci používaného systému.

Příprava stabilizovaných fosfolipidových dvojvrstev

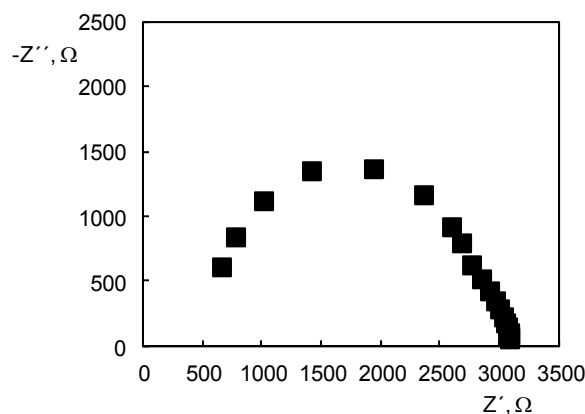
Membrány byly tvořeny postupem, který je popsán v pracích^{32–34,39–45}. Směs lecitinu a cholesterolu byla připravena rozpuštěním lecitinu a cholesterolu v ethanolu (10 μ l) a *n*-heptanu (100 μ l). Různé poměry mezi lecitinem a cholesterolem byly testovány a následně bylo 20 μ l této směsi nanášeno na jednu stranu polykarbonátového nosiče, rozpouštědlo bylo odpařeno a poté byl stejný objem směsi nanášen na druhou stranu nosiče. Obě strany pokryté směsí lipidů byly po konkrétní čas stabilizace ponechány zasychat na vzduchu a poté byly zavodněny nosným elektrolytem⁴⁶.

Elektrochemická impedanční analýza

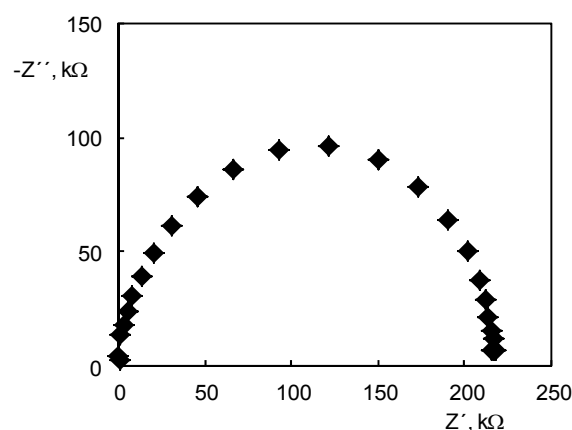
Pro EIS byl použit potenciostat PGSTAT302N + FRA2 modul, řízený softwarem Nova 1.9 (vše Metrohm, Česká republika). Měření byla prováděna pomocí dvou Ag/AgCl elektrod (stříbrný drátek o průměru 1 mm, elektrolyticky potažený vrstvou AgCl). Tyto dvě elektrody, ponořené v základním elektrolytu 0,1M KCl, sloužily jako pracovní a referenční. Platinový drátek o průměru 1 mm byl použit jako pomocná elektroda. Systém pracoval v tříelektrodovém zapojení. V našich EIS měřeních poskytoval systém spolehlivé výsledky v rozmezí frekvencí od 0,1 Hz do 1 MHz při amplitudě 0,005 V. Napětí o velikosti –0,1 V bylo vkládáno při všech EIS měřeních (tato hodnota je blízká membránovému potenciálu rostlin v reálných biologických systémech). Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty (25,0 $\pm$ 0,5 $^{\circ}$ C).

Výsledky a diskuse

Vliv cholesterolu na fosfolipidovou membránu byl studován pomocí EIS spektroskopie. Na obr. 5, 6 a 7, jsou prezentovány frekvenční charakteristiky, tzv. Nyquistovy grafy (tj. závislosti imaginárních složek impedancí ($-Z''$) na reálných složkách impedance (Z') při měnění se frekvencí) pro lecitin, cholesterol a směs lecitinu a cholesterolu v hmotnostním poměru 2:1. Tato spektra ukazují, že

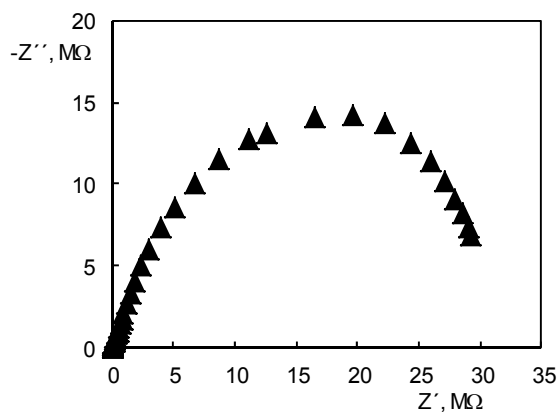


Obr. 5. Frekvenční charakteristika (Nyquistův graf) membrány tvořené pouze z lecitinu; frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V

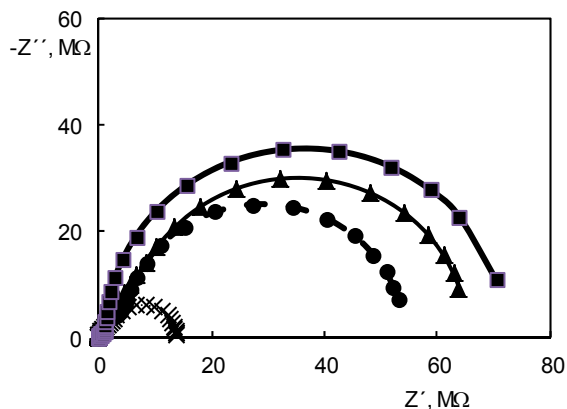


Obr. 6. Frekvenční charakteristika (Nyquistův graf) membrány tvořené pouze z cholesterolem; frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V

lu v hmotnostním poměru 2:1. Tato spektra ukazují, že cholesterol byl úspěšně inkorporován do modelové fosfolipidové membrány. Na spektrech je vidět významný vliv cholesterolu na tvorbu, stabilitu a elektrické vlastnosti modelové membrány. Membrána, která byla tvořena pouze z lecitinu, měla hodnoty imaginárních složek impedancí ($-Z''$) i reálných složek impedancí (Z') v řádu jednotek k Ω , s postupem času po zavodnění docházelo ke snižování těchto hodnot a reprodukovatelnost byla nižší. Po přidání cholesterolu k fosfolipidu došlo k výraznému nárůstu hodnot imaginárních složek impedancí ($-Z''$) i reálných složek impedancí (Z'). Na obr. 7 můžeme vidět, že se pohybovaly v řádu desítek M Ω . Membrána byla s časem po zavodnění velmi stabilní a reprodukovatelnost byla vysoká.



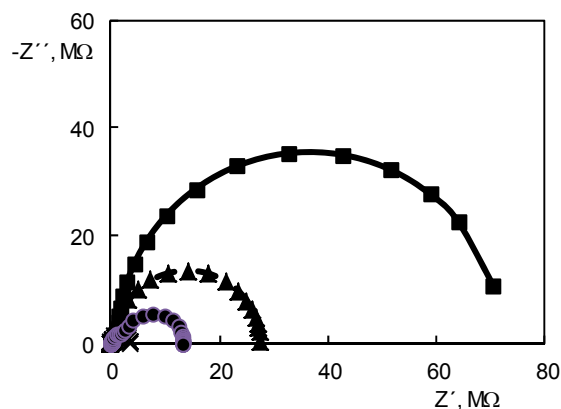
Obr. 7. Frekvenční charakteristika (Nyquistův graf) membrány tvořené ze směsi lecitinu a cholesterolu (hmotnostní poměr 2:1); frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V



Obr. 8. Frekvenční charakteristiky (Nyquistův grafy) membrány tvořené ze směsi lecitinu a cholesterolu (hmotnostní poměr 2:1) na různých polykarbonátových nosičích; frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V (průměry pórů: × 8 μm, • 2 μm, ▲ 0,2 μm, ■ 0,05 μm)

Vliv velikostí pórů v polykarbonátovém nosiči byl studován pro získání bližších informací o chování směsi lecitinu a cholesterolu. Na obr. 8 můžeme vidět závislosti imaginárních částí ($-Z''$) na reálných částech (Z') impedance měřených na polykarbonátovém nosiči o různé porozitě (8 μm a 2 μm – Isopore™ Membrane Filters; 0,2 μm a 0,05 μm – Nuclepore Track-Etch Membrane).

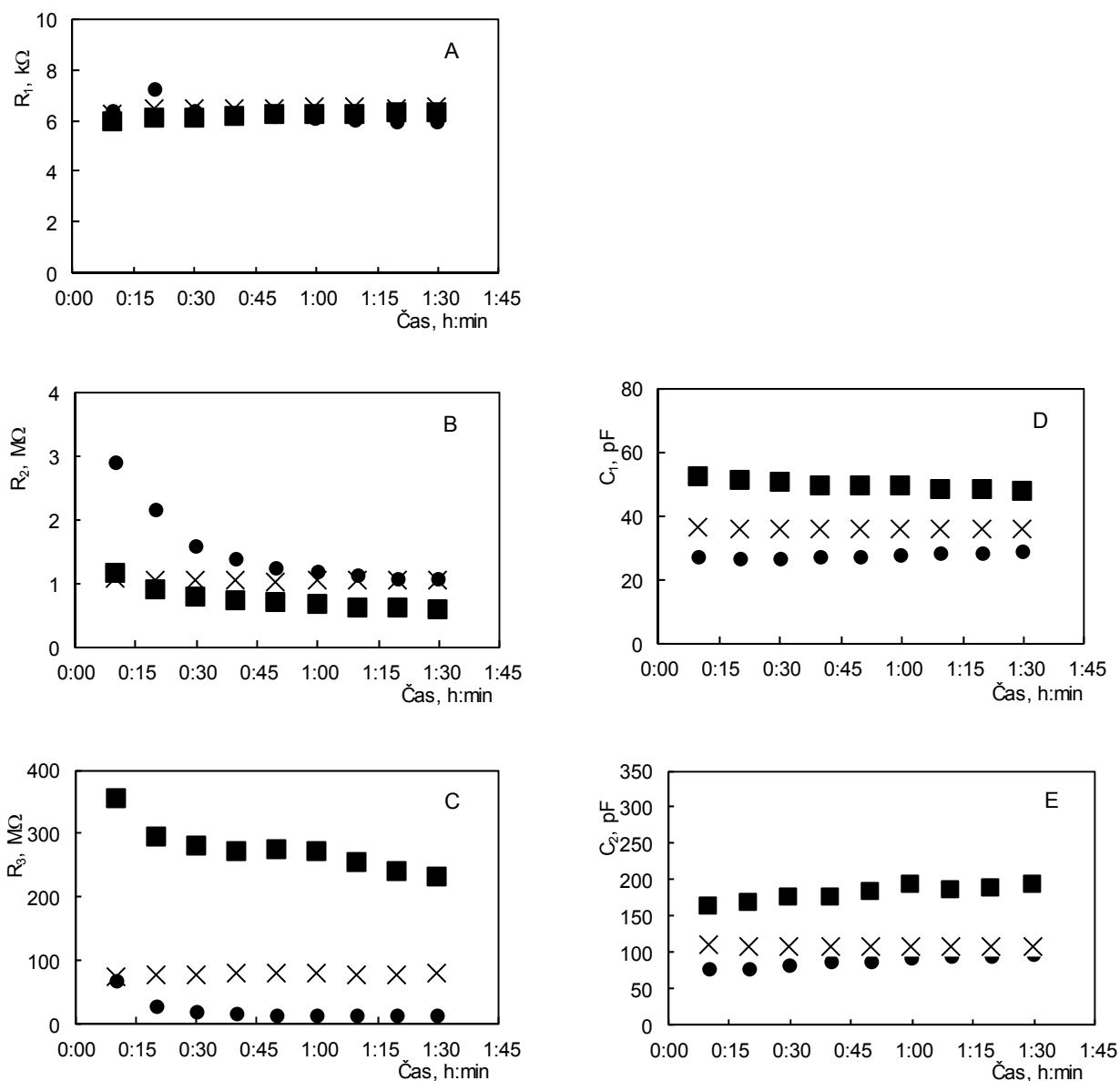
Nejlépších výsledků bylo dosaženo na nosiči Nuclepore Track-Etch Membrane s velikostí pórů 0,05 μm. Se zvyšujícím se průměrem děr v nosiči se stává membrána méně stabilní, pravděpodobně méně kompaktní a hodnoty obou složek impedance jsou nižší a méně reprodukovatelné.



Obr. 9. Závislosti elektrochemických parametrů modelové membrány na čase stabilizace před ponořením do nosného elektrolytu; frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V; membrána o velikosti pórů 0,05 μm (časy stabilizace modelových membrán: × 0 min, • 15 min, ▲ 30 min, ■ 45 min)

Dalším důležitým parametrem pro objasnění chování modelové membrány byl čas jejího utváření (stabilizace) před ponořením do nosného elektrolytu. Výsledky jsou prezentovány v obr. 9. Bylo zjištěno, že optimální stabilizační čas před ponořením nosiče s naneseným fosfolipidovým filmem je 15 min. Se vzrůstajícím časem klesají impedance složky, modelová membrána je nestabilní, nekompatní a reprodukovatelnost její tvorby velmi nízká. Je pravděpodobné, že během odpařování rozpouštědla jsou hydrofilní části fosfolipidové membrány orientovány k sobě a hydrofobní části směrem do organického rozpouštědla. Po jeho odpaření zůstávají hydrofobní části fosfolipidu orientovány směrem ven. Pokud je čas formování membrány příliš dlouhý, dojde k vytvoření stabilních struktur a hydrofilní/hydrofobní části fosfolipidu po ponoření do vodného prostředí již nejsou schopny se reorientovat.

Pro výstavbu membrán je důležité především jejich složení, tj. poměr jejich základních stavebních složek, lecitinu a cholesterolu. Jejich složení bylo měněno v hmotnostním poměru od 1:1 do 3:1. Za předpokladu, že tvořené membrány je možno popsat pomocí EEC dle obr. 4, byly z frekvenčních charakteristik vypočteny jednotlivé odporové a kapacitní složky, a to v závislosti na čase od jejich ponoření do základního elektrolytu. Na rozdíl (obráz. 10) od čisté lecitinové membrány, jejíž vytváření (posuzováno dle ustálení kapacitních složek) trvá přibližně jednu hodinu⁴⁰, v případě přidavku cholesterolu k lecitinu bylo zjištěno, že k ustálení takovýchto membrán dochází již za cca 15 min, a to u membrán složených z 2 hmotnostních dílů lecitinu a 1 hmotnostního dílu cholesterolu. U ostatních poměrů mezi cholesterolem a lecitinem dojde k ustálení mnohem později (30–90 min).



Obr. 10. Závislosti parametrů EEC dle Obr. 4 (A, B, C: odporové složky; D, E: kapacitní složky) modelových membrán na čase po ponoření membrány do základního elektrolytu a na molárních poměrech lecitinu a cholesterolu: 1:1; 2:1 a 3:1; frekvenční rozsah 0,1 Hz – 1 MHz; amplituda 0,005 V; vkládané napětí –0,1 V; membrána o velikosti pórů 0,05 μm ; stabilizační čas 15 min (■ 1:1, × 2:1, • 3:1)

Závěr

Stabilizované fosfolipidové membrány byly vybrány jako vhodný model reálných biomembrán. Pro charakterizaci elektrochemického chování směsi fosfolipidu (lecitinu, dipalmitoylfosfatidylcholinu) a cholesterolu byla využita elektrochemická imedanční spektroskopie. Modelová membrána byla tvořena ze dvou vzájemně opačně orientovaných lipidových monovrtev v pórech polykarbonátového nosiče. Průměr pórů tohoto nosiče měl velký vliv

na tvorbu modelové membrány. Čím nižší byla velikost pórů, tím byla membrána stabilnější a kompaktní, hodnoty impedancí byly vyšší. Jako optimální se jevil nosič s póry o průměru 0,05 μm . Následně byl testován vliv času při odpařování organického rozpouštědla (stabilizační čas). Ukázalo se, že nejvhodnější čas tvorby membrány činí 15 min. S rostoucím časem stabilizace se membrána po zavodnění stávala méně stabilní a hodnoty reálné a imaginární složky impedancí byly méně reprodukovatelné. Tyto poznatky závislosti na velikosti pórů a na čase stabilizace

byly následně aplikovány při hledání optimálního hmotnostního poměru mezi lecitinem a cholesterolem. Pomocí naměřených výsledků byl vybrán jejich nejvhodnější hmotnostní poměr (2:1), a to z důvodu nejkratšího času ustálení elektrochemických parametrů membrány po jejím ponoření do základního elektrolytu. Pomocí ESI se podařilo potvrdit, že cholesterol byl úspěšně inkorporován do modelové fosfolipidové membrány. Byl prokázán pozitivní vliv přítomného cholesterolu na stabilitu modelové membrány.

Autoři děkují za finanční podporu Grantové agentury České republiky (K. Nováková, I. Šestáková, V. Mareček – projektu č. P208/12/1645 a T. Navrátil – projektu č. 13-21704S) a Univerzity Pardubice (J. Chýlková – projektu č. SGSFCHT/2014006).

LITERATURA

1. Navrátil T.: *Curr. Org. Chem.* 15, 2996 (2011).
2. Navrátil T., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 131 (2009).
3. Navrátil T., Kopanica M.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 32, 153 (2002).
4. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Peckova K., Yosypchuk B., Zima J.: *Electroanalysis* 19, 2003 (2007).
5. Cizkova P., Navrátil T., Sestakova I., Yosypchuk B.: *Electroanalysis* 19, 161 (2007).
6. Vyskocil V., Navrátil T., Danhel A., Dedik J., Krejcová Z., Skvorova L., Tvrdikova J., Barek J.: *Electroanalysis* 23, 129 (2011).
7. Cabalkova D., Barek J., Fischer J., Navrátil T., Peckova K., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* 103, 236 (2009).
8. Bandzuchova L., Selesovska R., Navrátil T., Chýlková J.: *Electrochim. Acta* 56, 2411 (2011).
9. Selesovska-Fadrna R., Navrátil T., Vlcek M.: *Chem. Anal.-Warsaw* 52, 911 (2007).
10. Jaklova Dytrtova J., Sestakova I., Jakl M., Navrátil T.: *Electroanalysis* 21, 573 (2009).
11. Svecova H., Souckova J., Skopalova J., Novotny R., Bartak P.: *Chem. Listy* 106, 200 (2012).
12. Snyder B., Freire E.: *Proc. Natl. Acad. Sci.-Biol. Sci.* 77, 4055 (1980).
13. Karolis C., Coster H. G. L., Chilcott T. C., Barrow K. D.: *BBA-Biomembranes* 1368, 247 (1998).
14. Naumowicz M., Petelska A. D., Figaszewski Z. A.: *Cell. Mol. Biol. Lett.* 8, 5 (2003).
15. McMullen T. P. W., McElhaney R. N.: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 1, 83 (1996).
16. Berkowitz M. L.: *BBA-Biomembranes* 1788, 86 (2009).
17. Alwarawrah M., Dai J., Huang J. Y.: *J. Chem. Theory Comput.* 8, 749 (2012).
18. Phillips M. C., Finer E. G.: *Biochim. Biophys. Acta* 356, 199 (1974).
19. Shimshic.Ej, Mcconnel.Hm: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 53, 446 (1973).
20. Kalinowski S., Lotowski Z., Morzycki J. W.: *Cell. Mol. Biol. Lett.* 5, 107 (2000).
21. Naumowicz M., Petelska A. D., Figaszewski Z. A.: *Electrochim. Acta* 50, 2155 (2005).
22. Mueller P., Rudin D. O., Tien H. T., Wescott W. C.: *J. Phys. Chem.* 67, 534 (1963).
23. Langmuir I., Blodgett K. B.: *Kolloid-Zeitschrift* 73, 257 (1935).
24. Kramar P., Miklavčič D., Kotulska M., Lebar A. M., v knize: *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*; str. 29. Elsevier Inc., London 2010.
25. Tatarkovic M., Broncova G., Krondak M.: *Chem. Listy* 106, 1067 (2012).
26. Naumowicz M., Petelska A. D., Figaszewski Z. A.: *Acta Biochim. Pol.* 55, 721 (2008).
27. Bunce A. S., Hider R. C.: *Biochim. Biophys. Acta* 363, 423 (1974).
28. Radhakrishnan A., McConnell H. M.: *Biophys. J.* 77, 1507 (1999).
29. Henriksen J., Rowat A. C., Brief E., Hsueh Y. W., Thewalt J. L., Zuckermann M. J., Ipsen J. H.: *Biophys. J.* 90, 1639 (2006).
30. Mannock D. A., Lewis R. N. A. H., McElhaney R. N.: *BBA-Biomembranes* 1798, 376 (2010).
31. Parisova M., Navrátil T., Sestakova I., Jaklova Dytrtova J., Marecek V.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 8, 27 (2013).
32. Navrátil T., Sestakova I., Marecek V.: *Modern Electrochemical Methods XXXI, Jetrichovice*, (Navrátil T., Barek J., ed.), str. 91. http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody11.pdf, BEST Servis, Jetrichovice 2011.
33. Navrátil T., Sestakova I., Marecek V., Stulik K.: *Modern Electrochemical Methods XXX, Jetrichovice*, (Barek J., Navrátil T., ed.), str. 119. http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody10.pdf, BEST Servis, Jetrichovice 2010.
34. Navrátil T., Sestakova I., Marecek V.: *Development, Energy, Environment, Economics (DEEE '10)*, (Mladenov V., Psarris K., Mastorakis N., Caballero A., Vachtsevanos G., ed.), str. 192. Puerto de la Cruz 2010.
35. Gal M., Sokolova R., Kolivoska V., Turonova A. M., Ambrova M., Hives J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 76, 1607 (2011).
36. Gal M., Hives J., Sokolova R., Hromadova M., Kolivoska V., Pospisil L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 74, 1571 (2009).
37. Gal M., Orinakova R., Wiemhofer H. D., Chovan P., Krajnikova A., Hives J.: *J. Electrochem. Soc.* 156, D462 (2009).
38. Pospisil L., Hromadova M., Gal M., Bulickova J., Sokolova R., Fanelli N.: *Electrochim. Acta* 53, 7445 (2008).
39. Navrátil T., Sestakova I., Jaklova Dytrtova J., Jakl M.,

- Marecek V.: WSEAS Trans. Environ. Dev. 6, 208 (2010).
40. Navratil T., Sestakova I., Stulik K., Marecek V.: *Electroanalysis* 22, 2043 (2010).
41. Navratil T., Sestakova I., Jaklova Dyrtrtova J., Jakl M., Marecek V.: *7th WSEAS International Conference on Environment, Ecosystems and Development*, (Otesteanu M., Celikey S., Mastorakis N., Lache S., Benra F. K., ed.), str. 212. World Scientific and Engineering Acad. and Soc., Puerto de la Cruz 2009.
42. Navratil T., Sestakova I., Marecek V.: *Int. J. Energy Env.* 5, 337 (2011).
43. Navratil T., Sestakova I., Marecek V.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 6, 6032 (2011).
44. Parisova M., Navratil T., Sestakova I., Marecek V.: *Modern Electrochemical Methods XXXII, Jetrichovice*, (Navratil T., Fojta M., ed.), str. 102. www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody12.pdf, BEST servis, Jetrichovice 2012.
45. Jaklova Dyrtrtova J., Jakl M., Navratil T., Schroder D.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 76, 1917 (2011).
46. Novakova K., Navratil T., Chylkova J.: *Modern Electrochemical Methods XXXIII, Jetrichovice*, (Navratil T., Fojta M., Peckova K., ed.), str. 128. www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody13.pdf, Best servis, Jetrichovice 2013.

K. Nováková^{a,b}, T. Navrátil^a, I. Šestáková^a, V. Mareček^a, and J. Chýlková^b (^a J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, ^b Institute of Environmental and Chemical Engineering, University of Pardubice): **Utilization of Electrochemical Impedance Spectroscopy for Elucidation of Electrochemical Properties of Lecithin – Cholesterol Mixtures in Model Phospholipid Membranes**

Different models of phospholipid membranes (PLMs) have been utilized for better understanding of properties and functionality of real biological membranes. Mechanisms of transport processes and membrane properties can be investigated on planar phospholipid bilayers. Electrochemical behavior of phosphatidylcholine-cholesterol mixtures in the PLM form was studied by electrochemical impedance spectroscopy. Phosphatidylcholine (lecithin) and cholesterol are essential for living cells and, therefore, they were chosen for experiments. Different lecithin/cholesterol ratios were tested on different polycarbonate (PC). This material is formed by a condensation polymerization resulting in a carbon that is bonded to three oxygens. The time dependence of PLM formation in the presence of cholesterol was investigated.



Česká společnost průmyslové chemie pořádá

**2nd International Conference on Chemical Technology
7th – 9th of April 2014, Mikulov, Czech Republic**

Sledujte aktuální informace na
<http://www.icct.cz>