

Stanovení nečistot v polymerních látkách

Alena Sigmundová

Bakalářská práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů
akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alena Sigmundová**
Osobní číslo: **T12355**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení nečistot v polymerních látkách**

Zásady pro vypracování:

Studentka se seznámí s dosud publikovanými informacemi o nečistotách přítomných v polymerech a jejich interakcích s eukaryotickými i prokaryotickými buňkami. V teoretické části se zaměří především na typy nečistot, metody jejich stanovení a biologickou aktivitu. Prakticky se seznámí s prací v laboratoři buněčných kultur a osvojí si základní techniky práce v této laboratoři. V praktické části pak provede a vyhodnotí sérii testů zaměřených na stanovení nečistot v polymerech.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICHOVÁ, J. et al. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009.

ALBERTS B. et al. Molecular Biology of the Cell 5th ed. Garland Science.

ROSYTAL, S. Nový přehled biologie. . Praha: Scientia, 2003. ISBN 10: 80-7183-268-5.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce:

16. ledna 2015

Termín odevzdání bakalářské práce:

25. května 2015

Ve Zlíně dne 2. března 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: SIGHUNDOVA' ALENA

Obor: PHT-FM

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 19.5.2015

Sighundová Alena

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V současné době se zvyšuje využívání polymerů v medicíně, a to díky jejich vlastnostem, jako je dobrá zpracovatelnost či modifikovatelnost. Problém však mohou způsobit reziduální nečistoty, které mohou použití materiálu značně omezit či úplně znemožnit. Tato bakalářská práce se v teoretické části zaměřuje především na biomateriály – jejich využití v medicíně a volbu vhodného materiálu k výrobě zdravotnického prostředku. Zvláštní pozornost je věnována nečistotám vyskytujících se v polymerních sloučeninách a jejich detekci. Jako příklad polymerních látek s potenciálem pro využití v medicíně byl pak vybrán polyanilin. V praktické části byla provedena série analýz k zjištění zbytkových nečistot v polyanilinu pomocí metody HPLC.

Klíčová slova:

biomateriál, zdravotnický prostředek, polymer, polyanilin, reziduální nečistoty, HPLC

ABSTRACT

Use of polymers in medicine is increasing thanks to their unique properties as easy preparation or subsequent modification. However, residual impurities can cause problems and consequently greatly reduce the use of materials or to preclude it. This thesis has focused on the application of polymers in medicine. The choice of a suitable material for the manufacturing of medical devices is also outlined. In theoretical part, particular attention is paid to impurities occurring in polymers and to their detection. The polyaniline was chosen as representative of polymers with wide potential in medicine. In the practical part a series of analyses was done to determine the residual monomers by using the polyaniline HPLC method.

Keywords:

biomaterial, medical device, polymer, polyaniline, residual impurities, HPLC

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala panu doc. Ing. Petru Humpolíčkovi, PhD., za jeho cenné rady a připomínky při vedení této bakalářské práce a za čas věnovaný konzultacím. Také bych velice ráda poděkovala doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc., za vedení praktické části a obětavou pomoc při vyhodnocování výsledků. Můj dík patří i mé rodině a přátelům, kteří byli po celou dobu studia mojí obrovskou oporou.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné. Dále prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Ve Zlíně

.....
Alena Sigmundová

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 BIOMATERIÁLY	13
1.1 DEFINICE POJMŮ	14
1.1.1 Biomateriál	14
1.1.2 Zdravotnický prostředek.....	15
1.1.3 Biokompatibilita.....	16
1.1.4 Biointegrace	17
1.1.5 Biodegradace	17
1.1.6 Biologický materiál	18
1.1.7 Biomimetika.....	18
1.2 ROZDĚLENÍ BIOMATERIÁLŮ, JEJICH VLASTNOSTI A VYUŽITÍ.....	19
1.2.1 Kovové materiály	20
1.2.2 Keramické materiály	22
1.2.2.1 PIM technologie (powder injection molding).....	23
1.2.3 Kompozitní materiály.....	24
2 POLYMERY	25
2.1 ZÁKLADNÍ POJMY	25
2.1.1 Polymer	25
2.1.2 Konstituční jednotka	25
2.1.3 Oligomer.....	26
2.2 TYPY	26
2.3 SYNTÉZA	26
2.3.1 Mechanismus polymerace	26
2.3.1.1 Polykondenzace	26
2.3.1.2 Polyadice.....	27
2.3.1.3 Řetězové polymerace	28
2.3.2 Způsoby polymerace	28
2.3.2.1 Polymerace v bloku.....	28
2.3.2.2 Polymerace v roztoku	28
2.3.2.3 Polymerace v suspensi	29
2.3.2.4 Polymerace v emulzi.....	29
2.4 POUŽITÍ V MEDICÍNĚ	29
2.5 SCHVÁLENÍ POLYMERŮ PRO POUŽITÍ V MEDICÍNSKÝCH APLIKACÍCH.....	31
3 NEČISTOTY	33
3.1 DEFINICE NEČISTOT A JEJICH ZDROJ	33
3.1.1 Změkčovadla v PVC	34
3.2 DETEKCE NEČISTOT	36
3.2.1 HPLC.....	36
3.2.2 NMR spektroskopie	39
3.2.3 Infračervená spektroskopie.....	40

4	POLYANILIN (PANI)	41
4.1	STRUKTURA.....	41
4.1.1	Monomery	41
4.1.1.1	Anilin hydrochlorid (AH)	41
4.1.1.2	Amonium persulfát (APS)	42
4.2	HISTORIE	43
4.3	PŘÍPRAVA.....	43
4.4	FORMY	43
4.5	VLASTNOSTI.....	44
4.5.1	Fyzikálně chemické vlastnosti.....	44
4.5.2	Biologické vlastnosti	47
4.6	VYUŽITÍ A APLIKACE	48
II	PRAKTICKÁ ČÁST	50
5	CÍL PRÁCE	51
6	METODIKA	52
6.1	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	52
	• Vysokoúčinný kapalinový chromatograf Waters 600E (System Controller)	52
	• Analytické váhy Sartorius, BA 110 S.....	52
6.2	CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY	52
6.3	VZORKY	53
6.3.1	Příprava vzorků	53
6.4	CHEMIKÁLIE.....	54
6.5	STANDARDY	54
6.6	VOLBA MOBILNÍ FÁZE.....	54
6.6.1	Mobilní fáze MF ₁ (ACN : H ₂ O : CH ₃ COOH)	55
	• Kalibrace	55
6.6.2	Mobilní fáze MF ₂ (ACN : acetátový pufr (pH = 4)).....	56
6.6.3	Mobilní fáze MF ₂ (ACN : acetátový pufr (pH = 5)).....	57
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	58
7.1	VOLBA MOBILNÍ FÁZE.....	58
7.1.1	MF ₁ (ACN : H ₂ O : CH ₃ COOH)	58
7.1.2	MF ₂ (ACN : acetátový pufr (pH = 4)).....	65
7.1.3	MF ₃ (ACN : acetátový pufr (pH = 5)).....	70
7.2	SROVNÁNÍ STANOVENÍ SLEDOVANÝCH ANALYTŮ V JEDNOTLIVÝCH MOBILNÍCH FÁZÍCH	73
	ZÁVĚR	76
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	77
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	86

SEZNAM OBRÁZKŮ	88
SEZNAM TABULEK.....	90

ÚVOD

Aplikace polymerních materiálů v medicíně a tkáňovém inženýrství je dnes velmi aktuální otázkou a proto je nutné znát vlastnosti a potencionální rizika daného materiálu. Na biomateriály jsou kladeny vysoké požadavky z hlediska nejen mechanického, ale i chemického a biologického. Problém při aplikaci mohou způsobit například zbytkové monomery či oligomery polymerů, které mohou být pro člověka toxické. Z tohoto důvodu je nutné najít co nejvhodnější metodu detekce a stanovit tak koncentraci těchto reziduálních nečistot v materiálu. Tato bakalářská práce se v části teoretické zaměřuje na vymezení základních pojmů používaných v kontextu biomateriálů a zdravotnických prostředků. Následně jsou shrnuty materiály, které se běžně používají k výrobě zdravotnických prostředků a to – kovy, keramika, kompozity a v samostatné kapitole je řešena problematika polymerů. Zvláštní pozornost je věnována nečistotám vyskytujících se v polymerních sloučeninách a speciálně jejich detekci, kde jsou podrobně probrány některé metody (HPLC, IR a NMR spektroskopie). Na závěr jsou shrnuty vlastnosti vodivého polymeru polyanilinu, který má velký potencionál pro využití v medicíně. V praktické části pak byla metodou HPLC provedena série analýz ke zjištění zbytkových monomerů v polyanilinu a to peroxodisíranu amonného (neboli amonium persulfátu – APS) a anilin hydrochloridu (AH). Byly vyzkoušeny celkem tři mobilní fáze o různém složení a různém pH, které se lišily mírou separace jednotlivých monomerů.

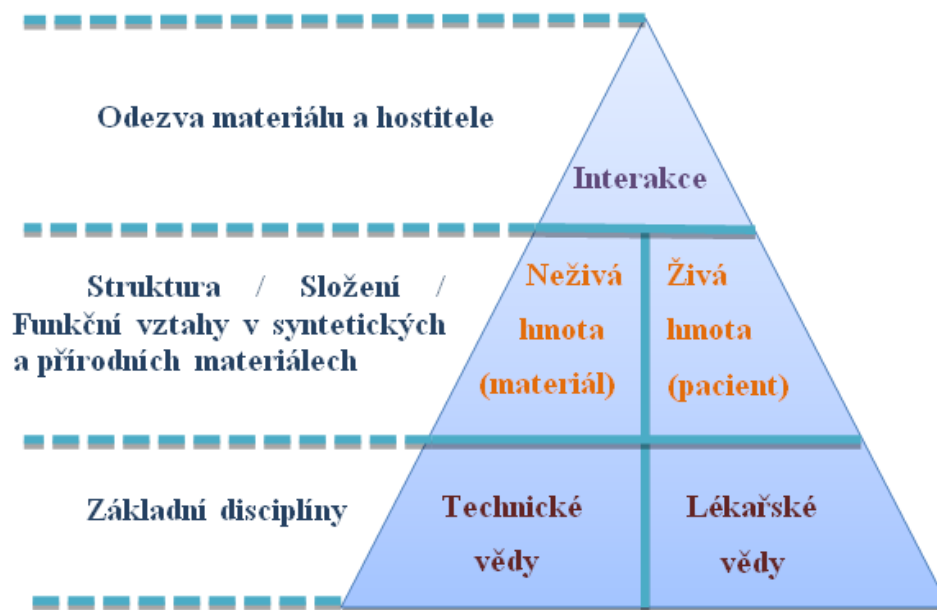
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOMATERIÁLY

Biomateriál může být jakýkoliv materiál používaný k výrobě zařízení k náhradě určité funkce lidského těla (detailnější definice v kapitole 1.1.1) (Park, Lakes, 2007). Věda o těchto materiálech je známá přibližně 60-70 let (Ratner, 2013), ovšem využití různých (přírodních i syntetických) zdravotnických prostředků a materiálů datujeme už před zhruba 2000 lety (Boutrand, 2012) a první zmínky o těchto materiálech jsou staré dokonce 32 000 let (Bimyamin, Shafi, Mery, 2006). Již staří Egypťané, Aztékové, Číňané a Římané vyráběli umělé náhrady očí, uší, zubů a nosů. K výrobě umělého chrupu používali především zlato, dřevo či slonovinu. Ze skla zase vyráběli oční protézy (Guney et al., 2013). Obrovský impuls k rozvoji této vědy přišel v letech 1950-1960 s objevem, že části lidského těla mohou být efektivně nahrazeny umělými materiály. Rozvojem tohoto významného průmyslového sektoru a uvedením těchto materiálů do praxe došlo k záchraně milionů lidských životů a další miliony pacientů mohly díky nim zlepšit svůj život (Ratner, 2013). Biomateriály nabízejí chirurgovi výkonnou sadu nástrojů pro klinickou léčbu pacientů a jsou obsaženy v prakticky každém nástroji, přístroji, implantátu nebo zařízení na operačním sále (Bimyamin, Shafi, Mery, 2006).

Biomateriály mají vliv nejen na lidské zdraví, ale i na ekonomiku a další vědní obory. Biomateriály a medicínské prostředky mají široké spektrum využití v medicíně, například jako protézy v kardiologii, ortopedii, stomatologii, oftalmologii, rekonstrukční chirurgii a v mnoha dalších lékařských intervencích (např. při řízeném uvolňování léků). Růst této vědní disciplíny zajistilo hned několik faktorů: stárnutí populace, růst životní úrovně v rozvojových zemích a v neposlední řadě řešení dříve neřešitelných zdravotních obtíží.

Věda o biomateriálech v její moderní podobě je příkladem nového výzkumného modelu, nazývaného konvergence, vznikajícího paradigma, pro které je nutná multidisciplinární spolupráce mezi řadou odborníků. Na této mezioborové spolupráci závisí pokrok nejen na poli biomateriálů, ale i pokrok bioinformatiky, syntetické biologie, systémové biologie, nanobiologie a dalších vědních oborů (Ratner, 2013). Multidisciplinární přístup k této vědě a také interakci technických a biologických vědních oborů, podílejících se na navrhování biomateriálů, znázorňuje trojúhelníkové schéma na *Obrázku 1* (Basu, Nath, 2009).



Obrázek 1 – Trojúhelníkové schéma znázorňující multidisciplinární přístup k biomateriálům a interakci jednotlivých vědních oborů (Upraveno podle: Black, 2006)

1.1 Definice pojmů

V této kapitole budou vydefinovány základní pojmy týkající se biomateriálů (biomateriál, zdravotnický prostředek, biokompatibilita, biointegrace, biodegradace, biomimetika, biologický materiál).

1.1.1 Biomateriál

Definice biomateriálu má mnoho podob. Jedna z nich uvádí, že biomateriál je materiál přírodního nebo umělého původu, který je používán k řízení, doplnění, popřípadě nahrazení funkce živé tkáně (Black, 2006). Pokud bychom vzali pojem biomateriál obšírněji, mohli bychom jej nadefinovat jako materiál, který byl navržen pro úpravu biologické aktivity. Podstatné pro tento typ materiálu je výběr surovinového základu pro výrobu. Každý materiál reaguje odlišně na fyziologické podmínky lidského těla, čímž se tato úvaha o biologických a materiálových vlastnostech stává primární. Důležitou vlastností biomateriálu je také co možná nejmenší narušení normálních tělesných funkcí. Proto je podstatným aspek-

tem biokompatibilita materiálu, například jak biomateriál reaguje při implantaci do živé tkáně (Basu, Nath, 2009).

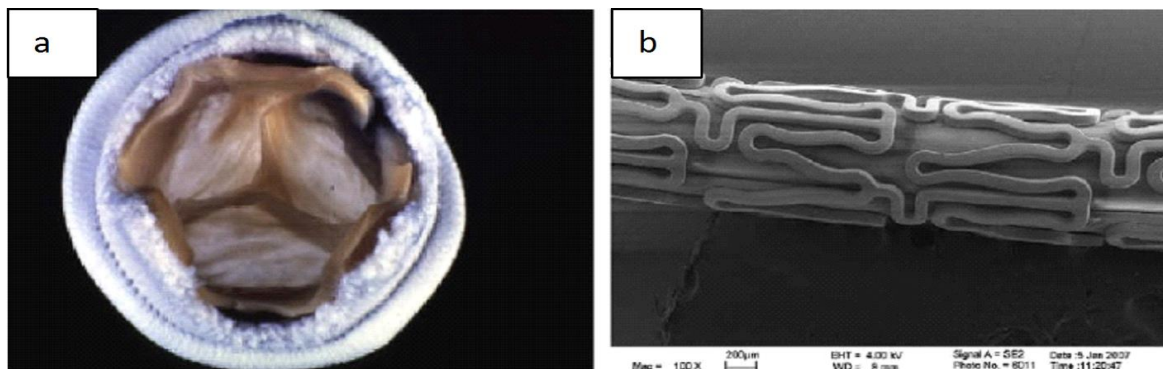
1.1.2 Zdravotnický prostředek

Zdravotnické prostředky se pohybují od dobře známé špachtle do krku až po komplexní technologie, jakými jsou robotické chirurgické systémy. Dále sem patří například i diagnostické přístroje emitující záření a mnoho dalších. Zdravotnický prostředek je definován jako nástroj, přístroj, implantát, prostředek nebo jiné podobné zařízení či výrobek (včetně veškerého jeho příslušenství), určený pro použití v diagnostice onemocnění, k ošetřování nebo prevenci onemocnění nebo má vliv na strukturu či funkci těla (Jarow, Baxley, 2014). Součástí zdravotnického prostředku může být i léčivo, ale své hlavní zamýšlené funkce nedosahuje zdravotnický prostředek farmakologickým, imunologickým nebo metabolickým účinkem (Zákon č. 123/2000 Sb.).

Příklady konkrétních zdravotnických prostředků používaných v kardiovaskulárním systému jsou uvedeny v *Tabulce 1*. Na *Obrázku 2* je vyobrazena za a) bioprostetická srdeční chlopně, vyrobená z přírodní prasečí aortální chlopně nebo osrdečníku, s polymerem (např. acetylovým kopolymerem) nebo kovem (např. Elgiloy). A za b) intravaskulární stent, vyrobený buď rozšiřováním slitiny s tvarovou pamětí, jako je niklo-titanová nebo plasticky deformovatelné slitiny, jako je chirurgická ocel (Williams et al., 2009).

Tabulka 1 – Konkrétní aplikace biomateriálů (upraveno podle: Ratner, 2013)

Zdravotnický prostředek	Užité biomateriály
Cévní protézy	Dacron, Teflon
Srdeční chlopně	Dacron, karbon, kov, upravené přírodní tkáně
Kardiostimulátory (pacemaker)	Titan, polyurethan
Implantabilní defibrilátory	Titan, polyurethan
Stenty	Chirurgická ocel, další kovy
Katétry	Teflon, silikon, polyurethan



Obrázek 2 – a) Bioprostetická chlopeč b) Intravaskulární stent (převzato z: Williams et al., 2009)

Cesta biomateriálu ke konečné aplikaci je zdlouhavá. Nejprve je nutný výzkum biomateriálu pro výrobu, vyvinutí medicínského zařízení, preklinické a klinické testování, schválení prostředku, a až teprve následně zhodnocení komerčního využití a klinická aplikace (Ratner, 2013).

1.1.3 Biokompatibilita

Podle mezinárodní normy ISO 10993 (Biologické hodnocení prostředků zdravotnické techniky), jsou všechny použité materiály u lidí podrobeny *in vitro* a *in vivo* zkouškám biokompatibility, aby se ověřila reakce a chování buněk v interakci s nimi (Goonoo et al., 2013). Stručně řečeno bychom biokompatibilitu mohli definovat jako schopnost biomateriálu vyvolávat v určité konkrétní situaci vhodnou hostitelskou reakci (Black, 2006). Příklady vhodné hostitelské reakce zahrnují odolnost proti srážení krve, odolnost vůči bakteriální kolonizaci a normální nekomplikované hojení (Ratner, 2013). Tímto způsobem biomateriál vykonává svoji zdravotní funkci, aniž by vyvolal nežádoucí lokální nebo systémový účinek na příjemce této léčby. To znamená, že materiál a tkáň těla existují bez nežádoucího nebo nevhodného vlivu na sebe navzájem (Basu, Nath, 2009). Naopak by měl biomateriál generovat co nejvýhodnější buněčnou, tkáňovou či systémovou reakci, aby se optimalizovaly relevantní výsledky léčby (Boutrand, 2012). Příkladem praktického využití biomateriálů je tvorba scaffoldů (určité „lešení“ či „matrice“ pro tkáňové inženýrství). Scaffold je vhodným podkladem pro generování buněčné aktivity mající za cíl optimalizovat regeneraci tkání bez nežádoucí lokální či systémové odezvy hostitele (Williams et al., 2008).

Důležitým aspektem ovlivňujícím biokompatibilitu je prostředí, pro které byl biomateriál navržen (Basu, Nath, 2009). Je nezbytné, aby bylo zvaženo, k čemu a kde chceme daný materiál použít – zda v měkkých tkáních, tvrdých tkáních popř. v kardiovaskulárním systému (Ratner, 2013). Biokompatibilita závisí na místě aplikace (materiál vhodný ve styku s kostí, nemusí být vhodný při přímém styku s krví atd.) Materiál musí také splnit řadu kritérií. V první řadě musí být materiál kompatibilní po stránce biochemické. Nesmí být jedovatý, dráždivý, alergenní ani karcinogenní a musí být kompatibilní s okolní tkání (Basu, Nath, 2009). Jelikož nejsou přesné definice a kritéria pro kompatibilitu pevně dané, hodnotí se z hlediska úspěšnosti či prospěšnosti při konkrétní aplikaci (Ratner, 2013).

1.1.4 Biointegrace

V posledním desetiletí se začalo využívat bioaktivních materiálů, které se vhodně integrují do okolní tkáně. Biointegrace značí děje, které se odehrávají na rozhraní mezi implantátem a hostitelskou tkání bez vyvolání škodlivých účinků jako jsou zánětlivé reakce či abnormální růst tkáně (Guney at al., 2013).

1.1.5 Biodegradace

Biodegradací se rozumí rozpad materiálu zprostředkovaný biologickým systémem (Black, 2006). U této speciální degradace dochází k rozkladu materiálu působením organismů a jejich enzymů (Palmisano, Pettigrew, 1992; Honzík, 2004) – například enzym peptidáza může štěpit polyamidovou i esterovou vazbu. Organismy můžeme rozumět mikroorganismy, hlodavce, hmyz, plísňe atd. Konkrétně u polymerů můžou degradaci způsobit i metabolity produkované plísněmi a bakteriemi (Honzík, 2004). Pokud se jedná o biodegradaci způsobenou bakteriemi, účinnost závisí na složení bakteriální populace. Tyto bakteriální populace jsou vysoce přizpůsobivé okolním podmínkám a právě díky tomu jsou potenciálními kandidáty pro specifickou degradaci (Vondráček, 2011). Co se týče biodegradovatelných polymerů, můžeme zde zařadit například polyethylentereftalát (PET), kopolymery ethylenu a vinylacetátu, N-butyl akrylát, polyurethany a mnoho dalších. Konkrétní využití biodegradovatelných polymerů je například u tzv. „chytrých“ stehů. Tato vlákna se vyrábí z kopolymerů oligo(ϵ -kaprolaktam)diolu a oligo(*p*-dioxanon)diolu, které umožňují biodegradaci za fyziologických podmínek. Vlákna u tohoto termoplastického polymeru s tvarovou pamětí jsou naprogramována tak, aby bylo umožněno protažení asi

200 %, za vzniku dočasně volného uzlu. Při zahřátí nad jeho přechodovou teplotu (do 40°C) se vlákna smrští a dotáhnou do 20 s – viz *Obrázek 3*. Celý tento mechanismus umožňuje minimalizovat invazivitu operací (Zhang, 2015).



Obrázek 3 – Degradovatelný steh pro uzavření rány – vlákna se smršťují se zvyšující se teplotou zleva doprava při: 20 °C, 37 °C, 41 °C (Převzato ze: Zhang, 2015)

1.1.6 Biologický materiál

Biologickým materiálem můžeme označit například kostní matici nebo zubní glazuru. Je to materiál produkovaný biologickým systémem (Koutský, 1997).

1.1.7 Biomimetika

Biologie, jejíž hybnou silou je evoluce, vždy ovlivňovala vývoj techniky (Rizzi et al., 2015; Naik, Stone, 2005). Vědní obor, využívající vzdáleně evoluční principy např. pro návrhy staveb, pohonů, senzorů (Rizzi et al., 2015), v lékařství, strojírenství, materiálovém inženýrství a dalších oborech se nazývá biomimetika (Mueller, 2008; Rizzi et al., 2015). Příkladem může být například využití poznatků o barevném zbarvení a antireflexi hmyzu, které daly vzniknout jasnějším obrazovkám pro mobilní telefony. Dále výroba kosmetiky napodobující přirozený lesk rozsivek či prvky solárních panelů, které jsou inspirovány 45 milionů let starou mouchou uvězněnou v jantaru, u níž si vědci všimli mikroskopického zvlnění, které snižovalo odraz světla (Mueller, 2008). Zajímavou aplikací je CardioARM (*Obrázek 4*), kde si vědci vzali jako předlohu hada. CardioARM je operační přístroj, který využívá při intraperikardiálních operacích. Jeho výhodou je obrovská pružnost, dokáže se přizpůsobit tvarům lidského těla a zapamatuje si cestu, kterou do daného místa dospěl – tím vším limituje možné poškození okolní tkáně. Celá tato procedura je minimálně invazivní a šetrná pro pacienta (Ota et al., 2008).



Obrázek 4 – Cardio-ARM – hadí robot (převzato z: Ota et al., 2008)

1.2 Rozdělení biomateriálů, jejich vlastnosti a využití

Materiály se dělí do tříd dle jejich převládající chemické vazby (a výsledných fyzikálních vlastností) spíše, než dle jejich primárního určení a aplikace v biologickém prostředí. To je právě z toho důvodu, že biologická odpověď materiálu závisí především na stavbě konkrétního materiálu (včetně nečistot) a metod, kterými se vyrábí (Black, 2012). Protože jsou biomateriály běžně užívány jako nosiče léčiv či růstových faktorů a genů, nebo v tkáňovém inženýrství jako lešení (scaffold), nacházejí prakticky všechny druhy biomateriálů – tedy polymerů, kovů, keramiky a kompozitů, své uplatnění právě v tomto odvětví. Právě například scaffold by totiž měl poskytnout tolik důležitou mechanickou oporu a zároveň by měl mít vhodnou strukturu k udržení transplantovaných buněk (Shi, 2004). Důležitý je tedy strukturní charakter daného biomateriálu a jeho schopnost poskytnout matici pro regeneraci tkání. Takovým příkladem může být tvorba srdečního štěpu. Pro tento typ materiálu bývá velmi podstatné najít konstrukci nejen mechanicky robustní, ale i ohebnou. Zároveň zůstává nutné, aby materiál byl fyziologicky relevantním prostředím pro kardiomyocyty. Biopolymerní matrice musí v tomto případě poskytnout již zmíněnou mechanickou oporu, podporovat buněčnou proliferaci, migraci a angiogenezi (Ramalingam, 2012).

I v dnešní době se myokard z hlediska tkáňového inženýrství považuje za jednu z nejnáročnějších tkání. Souvisí to s tím, že srdeční svalovina má velkou spotřebu kyslíku a její strukturu tvoří tenké a složité vrstvy. Z toho důvodu je omezené používání konvenčního tkáňového inženýrství k regeneraci například po infarktu myokardu. Nicméně, 3D

scaffolds na bázi náplasti byly implantovány v epikardu, což vedlo k úspěšné angiogenezi (Shi, 2004).

Vlastnosti daného polymeru lze pozměnit i například úpravou jeho povrchu. Například signální molekula může posílit interakci mezi buňkou a adherentním substrátem. Specifickými ligandy pro buněčnou adhezi jsou například sekvence arginin-glycin-asparagové kyseliny (RGD). Tyto sekvence mohou být imobilizovány na povrchu daného biomateriálu, kde nejenže koexistují s tkání, ale také mohou mít vliv na srdeční mikroprostředí na molekulární úrovni, jež má rozhodující vliv na obnovu tkání (Ramalingam, 2012).

Tkáňové inženýrství dává často přednost použití biologicky odbouratelného materiálu. Jeho výhoda spočívá v tom, že vyvíjející se nová tkáň postupně nahrazuje lešení. Ne vždy však takový materiál splňuje všechny klinické podmínky, a proto musí být použity nebiodegradabilní materiály (Shi, 2004). Právě rozdělení dle typu tkáně, která má být nahrazena, bývá další možností dělení biomateriálů do skupin. Obecně se mohou rozdělit do skupiny tvrdých materiálů, které se používají k náhradě kostí (například zubní a ortopedické aplikace) a do skupiny měkkých materiálů pro kardiovaskulární systém a plastickou chirurgii. Na první pohled lze říci, že první skupina tzv. tvrdých materiálů (keramika, kov) je primárně určena pro tvrdé tkáňové náhrady a polymery pro měkké tkáňové náhrady. Ovšem pravdou je, že všechny typy těchto pevných materiálů se používají jako kostní náhrady ve formě kompozitů a jejich používání se stalo velmi aktuálním trendem (Boutrand, 2012). V této kapitole nebudou řešeny polymerní materiály, které jsou dále popsány v samostatné kapitole.

1.2.1 Kovové materiály

Kovy a slitiny se již dlouhou dobu používají pro chirurgické a dentální aplikace, kde jsou požadovány materiály s vysokou pevností (Lee, Henthorn, 2012). Jako první se k implantaci použila „Shermanova“ vanadová ocel. Díky rychlé korozi však nebyla příliš úspěšná (Koutský, 1997). Právě koroze, která nastává v biologickém prostředí, bývá nejčastějším problémem těchto materiálů a jejich aplikací. Koroze nejenže ovlivňuje negativně životnost materiálu, ale také způsobuje uvolňování toxických kovových iontů, které jsou často karcinogenní či mutagenní (Lee, Henthorn, 2012). Proto pokud chceme korozi minimalizovat, je důležité dodržovat několik pravidel jako:

- používat vhodné kovy

- zabránit implantaci různých typů kovů do stejné oblasti
- při výrobě používat na části stejnou tavbu téže varianty dané slitiny
- při konstrukci minimalizovat dutiny a štěrby, při operaci zabránit přenosu kovu z nástroje na implantát či tkáň
- připustit možnou korozi v odlišných typech prostředí lidského těla (Koutský, 1997)

V současnosti je v biomedicínských aplikacích nejrozšířenější typ nerezové oceli 316L, což je železo-chrom-niklová slitina, která obsahuje nízký obsah uhlíku. Navíc chrom zde poskytuje tolik kýženu odolnost vůči korozi.

Kovové biomateriály bychom mohli rozdělit do 4 kategorií: 1) materiály z nerezové oceli, 2) materiály z titanu a titanových slitin na bázi kobaltu, 3) chromové slitiny a 4) amalgámy. Kromě již zmíněných se nyní provádí výzkum na nové řadě kovových biomateriálů ze vzácných kovů s tvarovou pamětí (nacházejí využití například v rovnátkách). Obecně platí, že nerezová ocel má lepší vlastnosti a je lépe tvarovatelná, ale na druhou stranu má horší korozní odolnost než například slitiny na bázi titanu. Titan vykazuje vynikající biokompatibilitu a protikorozní odolnost. Problém nastává s nedostatečnou pevností - například při použití pro ortopedické aplikace je naprosto nedostačující, a proto se používá ve formě slitin. Za nejoblíbenější materiál pro nosné ortopedické aplikace se aktuálně považuje Ti6Al4V. Ostatní slitiny, které se používají pro lékařské aplikace, jsou: Ti2,5Al2,5Fe, Ti6Al17Nb a Ti50Ta. Všechny tyto slitiny vykazují vyšší pevnost v tahu než titan, ale jejich odolnost vůči korozi není moc vysoká. Také mají špatnou pevnost v smyku, a proto by se neměly užívat pro aplikace, jako jsou například ortopedické šrouby (Lee, Henthorn, 2012). Další možné zpracování je ve formě nanostrukturovaného titanu. Vyrábí se technikou SPD (Severe Plastic Deformation) (Zemko, 2009). Jde o přípravu ultrajemnozrných kovů a slitin metodou intenzivní plastické deformace. Dosáhne se tak zjemněné struktury bez výraznější změny rozměrů tělesa (Navrátilová, 2012) a zároveň zlepšení konečných mechanických vlastností (Zemko, 2009).

V zubním lékařství se používají slitiny kobaltu a chrómu jako CoCrMo, CoCrNiMo (má vysokou pevnost v tahu, využívá se na náhrady silně namáhaných kloubů). Amalgámy jsou obvykle vícefázové slitiny a používají se v zubních aplikacích (Lee, Henthorn, 2012). V dnešní době se však už od použití klasických amalgámových výplní ustupuje, protože

obsahují velké procento rtuti (až 50 %), která je pro lidské tělo ve velkých koncentracích toxická (Maňoušek, 2013).

1.2.2 Keramické materiály

Keramické implantáty jsou žáruvzdorné, polykrystalinické sloučeniny, obvykle anorganické, zahrnující silikáty, kovové oxidy, karbidy a různé žáruvzdorné hydridy, sulfidy a selenidy (Koutský, 1997). V porovnání s kovy mnoho keramických materiálů zlepšuje biologickou biokompatibilitu a navíc odpadá problém s korozí (Lee, Henthorn, 2012). Proto byly považovány za vhodnou alternativu nahrazení některých kovových protéz a hlavně kovových zubních implantátů (Boutrand, 2012). Keramika má vysokou pevnost (Lee, Henthorn, 2012), vysokou teplotu tavení (Koutský, 1997), ale na druhou stranu je křehká, snadno v ní vznikají trhliny, s čímž souvisí velmi malá odolnost vůči tepelnému šoku (Li et al., 2015). Dále je citlivá k vrubům, má nízkou pevnost v tahu (Koutský, 1997) a nízkou tažnost (Lee, Henthorn, 2012). Pevnost keramiky však silně závisí na hustotě a velikosti zrna, což je nutné brát v potaz při komerční přípravě (Black, 2012). Pokud bychom tedy chtěli vyrobit například nosný prvek pro náhradu v kosterním systému, použili bychom implantát, který obsahuje kupříkladu vysoce čistý hliník, u kterého by velikost zrn neměla překročit 5 μm (Boutrand, 2012).

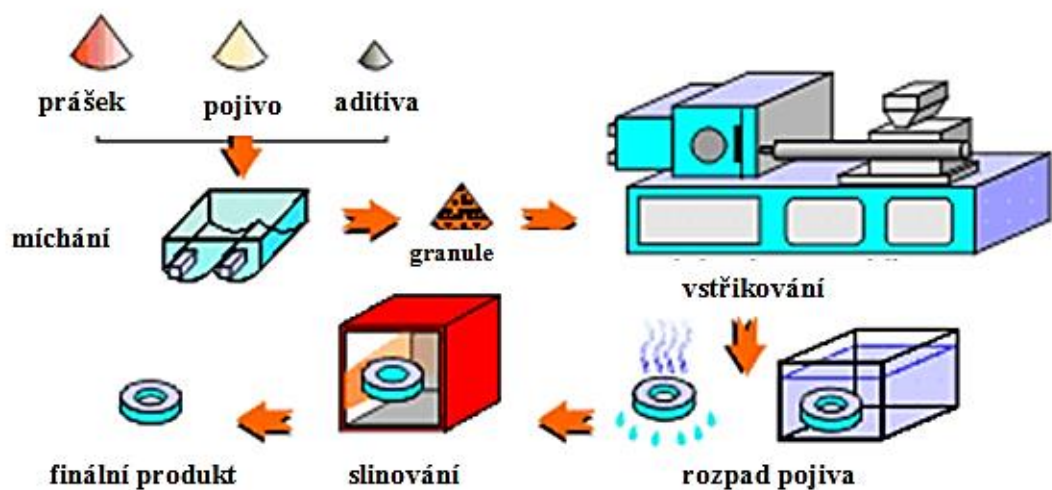
Nejdůležitější keramický biomateriál je hydroxyapatit (HAP), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, což je syntetický analog kostního materiálu. HAP se často používá v kombinaci s kovovými implantáty kvůli indukci adheze s okolní tkání a podpoře biologické aktivity (Lee, Henthorn, 2012). Kromě HAP se používají materiály na bázi oxidu hlinitého (Al_2O_3). Tyto biomateriály jsou široce používány v náhradách kyčelních kloubů a dalších endoprotézách. U takových materiálů se klade důraz na vysokou čistotu. Nečistot (oxidu křemičitého a ostatních oxidů alkalických zemin) je dovolena jen nízká koncentrace. Dalším typem je keramika založená na ZrO_2 , stabilizovaná Y_2O_3 nebo CeO_2 . Tyto sloučeniny vykazují vyšší pevnost v ohybu a odolnost proti prasknutí, i když na druhou stranu nižší pevnost v tlaku.

Obecně se tedy materiály na bázi keramiky využívají pro téměř všechny myslitelné druhy kostních rekonstrukcí včetně obnovy lebky po operaci, čelistních rekonstrukcí, zubních implantátů a výplní, osazování ložisek kosterními elementy, roubování a stabilizacích lebky, alveolárních štěpů, rekonstrukční chirurgie středního ucha (Lee, Henthorn, 2012).

1.2.2.1 PIM technologie (powder injection molding)

Práškové vstřikování označované souborně jako PIM technologie kombinuje proces vstřikování a práškové metalurgie. Tato technologie má širokou škálu použití od automobilového průmyslu (airbagové senzory), elektroniky (součástky pevného disku), leteckého průmyslu (šroubové těsnění leteckého motoru), zdravotnického průmyslu (lékařské kleště) až po bižuterii (náramkové hodinky) (Checot-Moinard, Rigollet, Lourdin, 2011). Její výhoda tkví ve vysoké tvarové přesnosti a současně nízkonákladové výrobě ve srovnání s konvekčním obráběním. Tato technika umožňuje vytvoření kompozitního materiálu bez pájení (Antusch et al., 2013). Princip PIM technologie lze rozdělit na čtyři stupně:

1. Surovinová příprava – kovové či keramické prášky jsou smíchány s pojivem ve formě polymeru, a vytvoří surovinovou základnu pro další zpracování. V tomto kroku je podstatná charakteristika prášku, poměr prášku a pojiva a způsob a intenzita míchání, což má podstatný vliv pro následné zpracování. Důležité je začlenit co nejvíce prášku do polymerního pojiva, aby byla vzniklá hmota co nejvíce soudržná. Pojivo se nejčastěji skládá z více složek – různých polymerů a přísad jako jsou změkčovadla atd. (Checot-Moinard, Rigollet, Lourdin, 2011). Obvykle obsahuje směs 30-52 hmotnostních % pojiva (Alcock, Stephenson, 1996).
2. Vstřikování – probíhá ve vstřikovacích strojích podobným těm, ve kterých se vstřikují plasty.
3. Odstraňování pojiva – dochází k odstraňování většiny pojiva, aniž by došlo k defektu na výrobku. Odstraňování pojiva může být prováděno chemickou cestou (katalýzou – rozpouštěním polymeru v organickém rozpouštědle; pyrolýzou nebo kombinací těchto metod). Tato fáze je velice náročná, co se týče času a energie a navíc zde může dojít k poškození výrobku.
4. Slinování – metalurgické tepelné spékání. Tepelným zpracováním se lepí částice do koherentní, pevné hmoty a vede k zahušťování. Tento krok se provádí při teplotě blízké teplotě tání materiálu. V důsledku odstranění pojiva (viz předchozí krok) dochází k 15-20% smrštění (Checot-Moinard, Rigollet, Lourdin, 2011). Celý princip je znázorněn na *Obrázku 5* (Alcock, Stephenson, 1996).



Obrázek 5 – Princip PIM technologie (převzato a upraveno podle: Alcock, Stephenson, 1996)

1.2.3 Kompozitní materiály

Kompozity jsou materiály složené ze dvou či více odlišných složek (Koutský, 1997). Je to tedy materiál, kde se specificky pojí 2 či více komponentů s odlišnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Rozlišujeme 5 druhů kompozitů 1) kov-kov, 2) keramika-kov, 3) keramika-polymer, 4) keramika-keramika a 5) polymer-polymer (Jančář, 2003). Mechanické vlastnosti kompozitních materiálů závisí na vlastnostech jednotlivých fází a jednotlivých fázových rozhraní (Black, 2012). Výhodou polymerních kompozitů je řada specifických vlastností. Těmi jsou například nízká hustota ($1600\text{--}2000\text{ g/m}^3$), široký interval pevností ($200\text{--}4000\text{ MPa}$) a tuhostí ($10\text{--}400\text{ GPa}$). Další předností těchto materiálů je vysoká odolnost vůči různým typům chemikálií, nízká tepelná vodivost, elektroizolační vlastnosti, prakticky nulový útlum elektromagnetických vln a vysoký útlum zvukových vln (Jančář, 2003).

2 POLYMERY

2.1 Základní pojmy

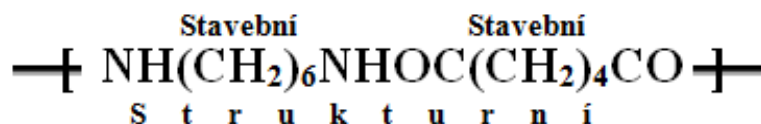
V této kapitole budou vysvětleny základní pojmy týkající se polymerů (polymer, konstituční jednotka, oligomer).

2.1.1 Polymer

Polymery jsou vysokomolekulární látky, založené na velkých molekulách – makromolekulách, ve kterých se mnohokrát opakuje určitý úsek řetězce, který nazýváme monomerní jednotka (Lapčík, Raab, 2004). Odtud jejich název – poly = mnoho, meros = část (Rybníkář, 2000). Mer je stavební jednotkou polymeru. Molekuly této jednotky mohou tvořit jednu či více konstitučních jednotek (Šňupárek, 2014). Jejich relativní molekulová hmotnost je mnohonásobně vyšší než u tzv. nízkomolekulárních látek a pohybuje se od desítek tisíc až do milionů (Ducháček, 1995). Polymerní materiály mají často nižší pevnost a modul pružnosti než kovy či keramika. Jejich struktura a vlastnosti jsou ovlivněny různými faktory, jako je například: molekulová hmotnost, molekulová hustota, okolní podmínky (teplota, pH, iontová síla, atd.) (Lee, Henthorn, 2012).

2.1.2 Konstituční jednotka

Konstituční jednotka je strukturální jednotka polymeru. Jde o nejmenší periodicky se opakující atom (Šňupárek, 2014) či skupinu atomů přítomných v molekule polymeru popř. oligomeru (Prokopová, 2004). Rozdíl mezi strukturální a stavební jednotkou je znázorněn na *Obrázku 6*.



Obrázek 6 – rozdíl mezi strukturální a stavební jednotkou (upraveno podle:

Šňupárek, 2014)

2.1.3 Oligomer

Je tvořen molekulami, jež mají ve své struktuře několik atomů či skupin atomů (konstitučních jednotek) opakovaně spojených mezi sebou (Prokopová, 2004). Odtud oligo = několik, málo. Na rozdíl od polymerů jde zde vlastně o nízkomolekulární produkty (Rybníkář, 2000). U oligomerů jde měnit fyzikální vlastnosti a to buď přidáním či odebráním jedné popř. několika konstitučních jednotek (Prokopová, 2004).

2.2 Typy

Polymery dělíme na elastomery, termoplasty a reaktoplasty. Elastomer je vysoce elastický, dobře deformovatelný již za malých sil bez porušení. Deformace je většinou vratná. Příklad je pryž vyrobená z kaučuku. Termoplasty se stávají za vyšších teplot plastickými a tvarovatelnými. Proběhlé změny jsou vratné a opakovatelné. Příkladem je PE, PP, PS. Reaktoplast je polymer, který je za běžných teplot tuhý, tvrdý, křehký, za zvýšených teplot není schopen tvarování. Příkladem je epoxidová pryskyřice (Kroisová, 2009).

2.3 Syntéza

Polymery vznikají zřetěžením malých molekul pomocí kovalentních vazeb. Základní kostru tvoří prvky C, H, O, Si atd. K soudržnosti dlouhých řetězců přispívají jak Van der Waalsovy síly a vodíkové vazby (sekundární vazebné síly), tak i primární síly ve formě příčných spojů mezi jednotlivými řetězci. Dlouhé řetězce se snadno zaplétají – jsou velice ohebné (Koutský, 1997).

2.3.1 Mechanismus polymerace

Je možno rozlišit několik rozdílných mechanismů polymerace. Jedná se konkrétně o polykondenzaci, polyadici a řetězovou polymeraci (viz dále).

2.3.1.1 Polykondenzace

Pro vznik dostatečně velkých makromolekul polykondenzací je nutné, aby výchozí sloučeniny byly dostatečně stálé vůči agresivním vlivům okolí a jejich kondenzace schopné funkční skupiny byly reaktivní. Jedná se o mnohonásobně se opakující kondenzace funkčních skupin monomerů. (Kučera, 2003). Při této reakci vzniká vždy nízkomolekulární pro-

dukt, kterým může být voda, alkohol, sůl atd. Reakce je v některých případech rovnovážná (Šňupárek, 2014). Polykondenzací dvojfunkčních monomerů vznikají lineární polymery, polykondenzací troj- a vícefunkčních monomerů se připravují vždy vícerozměrné polymery (Prokopová, 2004). Příklady polymerů vzniklých průmyslovou polykondenzací jsou uvedeny v *Tabulce 2*.

Tabulka 2 – Příklady polymerů vyráběných polykondenzací (Upraveno podle Kučera, 2003)

Polykondenzující monomery		Produkt	Technický název
dikarboxylové kyseliny estery dikarboxylových kyselin anhydridy dikarboxylových kyselin	dioly	polyestery	Terylen, Dacron, Diolen, PES licí pryskyřice
dikarboxylové kyseliny aminokarboxylové kyseliny	diaminy -	polyamidy	Nylon 6,6 Rilsan
diisokyanáty	diaminy	polyuretany	Lycra

2.3.1.2 Polyadice

Polyadice je reakce monomeru s násobnou vazbou funkčními skupinami monomeru nasyceného. Jedná se tedy o jakýsi průnik polymerace s polykondenzací (Kučera, 2003). U polyadice na rozdíl od polykondenzace nedochází k odštěpování vedlejšího nízkomolekulárního produktu (Prokopová, 2004; Rybníkář, 2000). Tento typ reakce je nerovnovážný (Šňupárek, 2014). Při reakci funkčních skupin monomerů dochází k přesunu atomu vodíku z funkční skupiny jednoho druhu na heteroatom funkční skupiny dalšího druhu. Tím vzniká nový typ chemické vazby. Základní složení produktu samozřejmě odpovídá složení výchozí směsi. Rovnováha je u polyadičních reakcí obvykle posunuta ve prospěch vznikajících produktů. Polyadicí se označuje i mnohonásobné opakování růstového procesu, který se uplatňuje při vzniku makromolekul. V tomto případě se monomer (zde nenasycená popř. cyklická sloučenina), v propagační fázi naaduje na růstové centrum. Polykondenzačních reakcí je porovnání s polyadičními větší množství (Prokopová, 2004). K nejdůležitějším polyadičním reakcím patří například syntéza polyuretanu, vznikající reakcí diisokyanátů s dioly.

2.3.1.3 *Řetězové polymerace*

Tímto způsobem polymerace reagují sloučeniny s dvojnými vazbami nebo heterocyklickou strukturou. Když dojde k otevření cyklu či násobné vazby umožní se propojení monomerů do řetězce a tím vznik makromolekuly. Charakteristickým rysem těchto reakcí je zmenšení objemu cca 13-35%. To je důsledkem těsnějšího uspořádání molekul v polymeru.

2.3.2 *Způsoby polymerace*

Stejně jako u mechanismů, rozlišujeme i různé způsoby polymerace – polymerace v bloku, roztoku, suspensi a emulzi (viz dále).

2.3.2.1 *Polymerace v bloku*

Polymerace v bloku je nejčistším způsobem polymerace (Kučera, 2003). Nevyžaduje pomocné látky, jako jsou rozpouštědla, emulgátory atd. a tím pádem se proces nekomplikuje izolací polymeru, což je při ostatních způsobech polymerace nezbytná operace (Mleziva, Kálal, 1986). Problémem je horší odvod tepla, který lze provést pouze povrchem polymerující násady. Konkrétním příkladem může být výroba polymethylmethakrylátu (Kučera, 2003).

2.3.2.2 *Polymerace v roztoku*

Zředěním monomeru inertním rozpouštědlem dojde k vyřešení problému s odvodem tepla, protože lze danou směs již míchat i při kompletní polymeraci monomeru (Mleziva, Kálal, 1986). Snížením koncentrace monomeru tedy dojde k ovlivnění kinetiky (zmenší se rychlost reakce) i technologie polymerace. Přidáním rozpouštědla do násady však dojde k problémům novým. Rozpouštědlo je třeba vyčistit a ani samotné není inertní za přítomnosti radikálů. Téměř vždy vznikají menší makromolekuly, než při jiných režimech (Kučera, 2003). Z těchto důvodů je tento typ polymerace nevhodný pro přípravu tuhých polymerů o vyšších polymeračních stupních. Naopak se uplatňuje při výrobě polymerů ve formě roztoku, kde nižší polymerační stupeň není nežádoucí. Jde o výrobu například laků, lepidel, impregnačních prostředků atd.

2.3.2.3 *Polymerace v suspensi*

Při tomto typu polymerace polymeruje monomer radikálově ve vodné disperzi – v perličkách ve vodě nerozpustného monomeru dispergovaných ve vodě. V podstatě zde jde o vodou chlazenou blokovou polymeraci (Mleziva, Kálal, 1986), přičemž se každá kapka chová jako samostatný reaktor, v němž tato bloková polymerace izolovaně probíhá. Co se týče odvodu tepla, z malých částic se odvádí velmi jednoduše. Co činí problém, je zbytek emulgátoru v polymeru, popř. vysoké náklady na jeho odstranění (Kučera, 2003).

2.3.2.4 *Polymerace v emulzi*

Tento typ polymerace patří k nejdůležitějším výrobním technikám (Rybníkář, 2000). Polymerace v emulzi je podobně jako ta v suspensi také disperzní polymerací, ale mechanismus reakce a charakter produktu je značně odlišný (Mleziva, Kálal, 1986). Produktem této polymerace jsou latexy, jejichž charakter je dán prostorovým oddělením iniciace od růstu. Disperzním prostředím je většinou voda. Přidáním emulgátoru vzniknou micely – agregáty molekul s hydrofilními částmi orientovanými do okolní vody a s hydrofobním koncem, který se nachází uvnitř micel. Emulgátorem může být například mýdlo. Přidáním hydrofobního monomeru k emulzi vzniknou další částice a přidáním i iniciátoru rozpustného ve vodě dojde k rychlé polymeraci a vzniku vyšších makromolekul (Kučera, 2003).

2.4 **Použití v medicíně**

Polymerní biomateriály mohou mít podobné fyzikální vlastnosti jako měkké tkáně, což souvisí s tím, proč se využívají jako součást implantátů a scaffoldů. Dalším důvodem je jejich relativně snadná výroba do různých tvarů a struktur. Jsou také snadno chemicky či biochemicky modifikovatelné. Také mohou být biodegradabilní. V medicíně se vzhledem k jejich vlastnostem používají nejčastěji pro náhradu měkkých tkání a jako nosiče léků (Lee, Henthorn, 2012). Využívají se v náhradách srdečních chlopní, prsních implantátů (Boutrand, 2012), jako scaffold nebo mohou sloužit i jako bariéra, která zamezí nežádoucímu zjizvení tkáně. Biomedicínské aplikace polymerů mohou být ve formě hydrogelů, běžných termoplastů, blokových kopolymerů, polysacharidů, syntetických proteinů atd. (Lee, Henthorn, 2012).

Mezi nejběžnější používané přírodní polymery v tkáňovém inženýrství patří kolagen a glykosaminoglykany (kyselina hyaluronová, keratin, chondroitin atd.) (Shi, 2004). Mezi hojně používané syntetické polymery patří například PVC, PE, PMMA (Wong, Bronzino, 2007) a k přírodním chitosan, kolagen, fibrin, alginát atd. (Furth et al., 2007). Souhrn syntetických polymerů a jejich konkrétní aplikace uvádí *Tabulka 3* (Wong, Bronzino, 2007). Kritickým problémem syntetických materiálů však stále zůstává nežádoucí tkáňová reakce spojená například s obsaženými nečistotami. Nevhodně zvolený materiál může způsobit krvácení, prasknutí implantátu, infekci, autoimunitní reakci a dokonce i různé formy rakoviny. Proto je nutné při návrhu budoucích implantátů a aplikací brát tuto otázku v potaz (Boutrand, 2012).

Tabulka 3 – Souhrn konkrétních aplikací polymerů (upraveno podle: Wong, Bronzino, 2007)

Syntetický polymer	Aplikace
PVC (polyvinylchlorid)	Vaky na krev, kanyly, katetrizační láhve, chirurgické obaly
PE (polyethylen)	Lahvičky na léky, netkané tkaniny, katétry, ortopedické implantáty
PP (polypropylen)	Jednorázové injekční stříkačky, membrány, netkané tkaniny, umělé cévní štěpy, chirurgické nitě
PMMA (polymethylmetakrylát)	Krevní pumpy a rezervoáry, membrány pro krevní dialýzu, implantabilní oční čočky, kostní cement
PS (polystyren)	Lahve pro tkáňové kultury
PET (polyethylentereftalát)	Implantabilní šicí nitě, síťoviny, umělé cévní náhrady, srdeční chlopně
PTFE (polytetrafluorethylen)	Katétry, umělé cévní štěpy
PU (polyurethan)	Fólie, hadice, komponenty
Nylon (polyamid)	Fólie, katétry, šití,

2.5 Schválení polymerů pro použití v medicínských aplikacích

Vlastnosti medicínských prostředků definuje zákon 123/2000 Sb. (a s ním související vyhlášky a nařízení vlády). Účelem tohoto zákona je po právní stránce ošetřit, aby používáním medicínských prostředků nedošlo k poškození zdraví lidí. Nežádoucí příhodou u těchto prostředků je jakékoliv selhání nebo zhoršení charakteristik, účinnosti zdravotnického prostředku, popřípadě nepřesnost v označení či návodu použití, které mohou nebo by mohly vést k úmrtí uživatele nebo jiné fyzické osoby anebo k zhoršení jejich zdravotního stavu. Vhodnost zdravotnického prostředku pro daný účel se ověřuje klinickým testováním. Toto testování se provádí dle předem vypracovaného plánu klinických zkoušek. Cílem tohoto testování je prokázat vhodnost využití z hlediska bezpečnosti a účinnosti, zjištění vlivu prostředku na testovaný subjekt, specifikace vedlejších účinků a zhodnocení rizik. Klinické testování může probíhat až po souhlasu etické komise a provádí se pod dohledem kvalifikovaného zkoušejícího (Zákon č. 123/2000 Sb.).

Konstrukce medicínských prostředků (konkrétně implantátů, dále (aktivních) prostředků) musí být dostatečně bezpečná a musí odpovídat stavu vědy a techniky v době uvedení na trh. Tyto prostředky musí být vyrobeny a zabaleny v obalu pro jedno použití tak, aby zůstaly sterilní až do samotné implantace. Dále musí být omezena rizika: fyzického poranění (např. kvůli jeho rozměrům), spojená se zdrojem energie, prostředím (např. magnetické vlivy, elektrostatické výboje, tlak), léčbou (např. při použití defibrilátorů), ionizujícím zářením radioaktivních látek použitých v těchto prostředcích atd. Dále se musí brát zřetel na toxicitu, kompatibilitu, jakost spojů, spolehlivost zdroje energie, hořlavost, těsnost, činnost programovacích a kontrolních systémů a programového vybavení a také se musí minimalizovat rizika způsobená unikajícími látkami (s karcinogenním, mutagenním, toxickým efektem) (Nařízení vlády č. 154/2004 Sb.; Nařízení vlády č. 336/2004 Sb.). Velmi nebezpečné jsou i zdravotnické prostředky, které se používají bez dozoru lékaře či jeho rady, popřípadě jsou často používány v rozporu s určeným účelem. Za tyto prostředky se považuje nitroděložní tělísko, epiderm kůže prasat k použití jako biologický obvaz, koncentráty hemodialýzy, respirační zdravotnické prostředky a také prostředky obsahující léčivé látky vázané na lékařský předpis atd. (Nařízení vlády č. 342/2000 Sb.). Konkrétním příkladem může být výroba prsních implantátů, kterých bylo po celém světě implantováno několik desítek milionů. Prsní implantáty se vyrábějí z polymethylsiloxanu

a normy pro jejich výrobu jsou velice přísné. Jsou pevně dány minimální rozměry částic tvořící gel, dále pak pevnost, propustnost, množství nečistot atd. V Evropě je kontrolním orgánem EQUAM (European Committee on Quality Assurance & Medical Devices in Plastic Surgery). Tyto protézy patří do medicínských prostředků III. třídy, což znamená nejpřísnější kontrolu při výrobě a vývoji. K schválení prostředku je třeba preklinická studie, dále certifikáty kvality výrobního procesu (normy EN ISO 14971 : 2009 pro rizikové medicínské prostředky, EN ISO 14630 : 2008 pro neaktivní chirurgické implantáty – všeobecná doporučení a EN ISO 14607 : 2007 pro neaktivní chirurgické implantáty – prsní implantáty – zvláštní opatření). Samozřejmostí je také biologické testování implantátu dle normy EN ISO 10993-1 a klinické dle normy EN ISO 14155 (Molitor, Kalinová, Měšťák, 2013).

3 NEČISTOTY

Přítomnost nečistot v polymerech je z hlediska jejich využití v biomedicíně klíčová, a proto je nutné jejich přítomnost v materiálu spolehlivě detekovat a v případě nutnosti je co nejvhodnějším způsobem odstranit.

3.1 Definice nečistot a jejich zdroj

Na první pohled nám mohou polymerní materiály připadat jako ne příliš složité látky, ale opak je pravdou. Jsou to složité chemické sloučeniny, které obsahují nesčetné množství přísad od různých typů činidel (nukleárních, antistatických, antiblokačních), retardérů hoření, barevných pigmentů, stabilizátorů až po výplně (minerální výplně, skleněná vlákna). Z tohoto důvodu je důležitá analýza těchto přísad nejen pro zjištění nečistot v daném materiálu, které mohou být potenciálně škodlivé pro organismus, ale také z důvodu kvantitativního stanovení známých přísad a tím pro kontrolu výroby polymeru (Buchberger, Stifinifer, 2011).

Polymerní nečistota je definována jako neúmyslná složka ve vyrobeném polymeru, která může pocházet jak z monomerů či jiných reakčních složek, tak může být i produktem vedlejší reakce či neúplné reakce probíhající v procesu výroby. Příkladem nečistoty mohou být nezreagované monomery, katalyzátory polymerace, atd. (CENIA). Příklady možných nečistot v polymeru jsou uvedeny v *Tabulce 4* (Wilkinson, Hearn, Steward, 1999). Přítomnosti nečistot a strukturních nepravidelností vede ke snižování stability polymeru a usnadňuje jeho oxidaci. Častý je také výskyt nečistot, které jsou schopné absorbovat elektromagnetické záření nižších energií a indukovat degradační reakce. V polymerech se mohou vyskytovat i např. kovové nečistoty (znečištění při zpracování, skladování, zbytky katalyzátorů) (Sedlařík, 2011; Schnabel, 1981). Přísady a nečistoty z výrobníku procesu mohou působit také jako tzv. fotosenzibilátory. Fotosenzibilátor je molekula nebo její část, které absorbuje UV záření a absorbovanou energii předává molekulám či makromolekulám jiné látky, které v důsledku toho podléhají fotolýze. I stopové množství fotosenzibilátorů způsobuje fotolýzu polymeru a jejich rychlost roste s jejich rostoucím obsahem. Proto čistota a způsob zpracování polymeru i přítomnost přísad významně ovlivňuje stabilitu polymeru vůči fotolýze a fotooxidaci (Schnabel, 1981).

Tabulka 4 – Příklady nečistot v polymerních koloidech (Upraveno podle Wilkinson, Hearn, Steward, 1999)

Typ nečistoty	Místo výskytu		
	Vodní fáze	Polymerní fáze	Rozhraní
Nezreagované monomery	✓	✓	✓
Oligomery/ polyelektrolyty	✓	✓	✓
Vedlejší produkty iniciace (např. K ⁺ , H ₂ SO ₄ z peroxisíranu draselného)	✓	X	✓
Vedlejší produkty z monomeru (např. benzaldehyd, formaldehyd atd.)	✓	✓	✓
Emulgátory	✓	X	✓
Pufry	✓	X	✓
Inhibitory	✓	X	✓
Bakterie a houby	✓	X	✓
Rozpuštěné atmosférické plyny (např. CO ₂)	✓	X	✓
Materiál vyluhovaný z nádob (např. změkčovadla, polyelektrolyty)	✓	✓	✓

3.1.1 Změkčovadla v PVC

Problém s nečistotami je například u PVC, který je nejpoužívanějším syntetickým polymerem na zdravotnickém trhu. Téměř 30% jednorázových zdravotnických prostředků je vyrobeno právě z PVC. Konkrétně například měkčený PVC má mnoho výhod: chemickou stabilitu, biokompatibilitu, jasnost, průhlednost, flexibilitu, odolnost, chemickou a mechanickou odolnost, nízkou cenu. K dosažení požadované pružnosti materiálu je ale nutné přidat změkčovadla – u materiálů ve zdravotnictví to může být maximálně 40 % celkové hmotnosti prostředku (Bernard et al., 2014). Problémem je, že změkčovadla nejsou chemicky vázané na PVC a proto se mohou uvolnit během kontaktu s krví či při parenterální výživě a pacient může být vystaven jejich účinku (Bernard et al., 2015). Nejpoužívanější změkčovadla jsou ftaláty, zejména di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP). Nicméně je DEHP klasifikován jako karcinogenní, mutagenní a toxický pro reprodukci a proto bylo jeho použití v medicínských prostředcích pozmeněno evropskými orgány, což je velká výzva pro výrobce, kteří musí hledat alternativní změkčovadla. O těch ale není ještě mnoho informací, co se zdravotního rizika týče, proto je otázka efektivní detekce změkčovadel

a obecně nečistot velmi aktuální a urgentní (Bernard et al, 2014; Radaniel et al., 2014). Metody použité k identifikaci a kvantifikaci těchto nečistot v rámci zdravotnických prostředků musí být schopné stanovit částice ve hmotě již ve výši 0,1 %. Pokud vezmeme za příklad obsah změkčovadel, musí být dále z výsledků jasné, jaké množství změkčovadel a jejich metabolitů se mohou uvolnit a dostat se tak třeba do krevního oběhu. Obecnou zásadou je, že se neposuzují dle jejich individuálních kvalit, ale až následně jako integrální prvek s plastem v daném prostředí. Důvodem je, že se spousta látek v prostředí těla chová naprosto jedinečně. Základní vlastnosti těchto změkčovadel jsou: 1) biokompatibilita 2) silná a trvalá plastifikace – k udržení pružnosti 3) stabilita při změně teploty, oxidaci a degradaci UV zářením po určitou dobu danou životností výrobku (Bernard et al., 2014). Alternativní změkčovadla DEHP jsou sice již používána, ale často je s nimi spojena spousta obtíží (Bernard, 2015). Ku příkladu di-isonyl ftalát (DINP), který se používal jako náhrada za DEHP a byl součástí dětských hraček, byl označen za potenciálně toxický s tím, že může mít chronické účinky například na ledviny a játra. I když to bylo vyvráceno mnoho studiemi, i tak obavy o možnou toxicitu přetrvávají (Wilkinson, Lamb, 1999). Změkčovadla a jejich konkrétní použití v medicínských prostředcích jsou uvedena v *Tabulce 5* (Bernard et al., 2014).

Tabulka 5 – používané změkčovadla v medicínských prostředcích (Upraveno podle: Bernard et al., 2014)

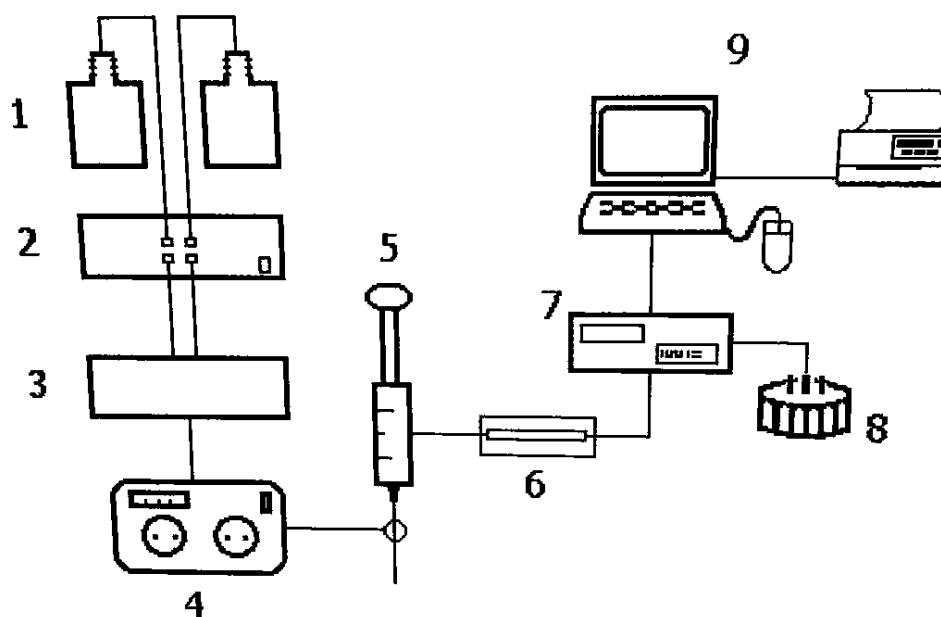
Zkratka	Název	Použití	Koncentrace změkčovadla (wt %)
DEHT	Di(2-ethylhexyl) ftalát	Infuzní sety, transfuzní sety	25 - 30
DINP	Diisononyl ftalát	Infuzní sety, transfuzní sety, žilní sety, hadičky na umělou výživu a čerpadla	30 - 40
DINCH	Di-isononyl-1,2-cyclohexaandikarboxylát	hadičky na umělou výživu a čerpadla, infuzní a extenzní sety	Okolo 40
DEHA	Bis(2-ethylhexyl) adipát	Jednorázové infuzní pumpy, arteriovenózní trubičky, hadičky na krev a krevní produkty	neuveдено

3.2 Detekce nečistot

K detekci nečistot a jednotlivých složek v polymerech se využívá mnoha metod od termogravimetrie (TGA), diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC), nukleární magnetické rezonance (NMR), infračervené spektroskopie (IR), potenciometrické titrace, až po metody chromatografické, jakými jsou například vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), plynová chromatografie atd. V tomto textu jsou však vybrány jen 3 typy metod a popsán jejich princip.

3.2.1 HPLC

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) neboli vysokoúčinná kapalinová chromatografie se řadí mezi chromatografické separační metody, založené na rozdílné distribuci dělených látek ve směsi mezi dvě různé nemísitelné fáze. Mobilní (pohyblivou) fází je zde kapalina, která výrazně ovlivňuje interakci s fází stacionární, což je v tomto případě buď tuhá látka nebo kapalina ukotvená na tuhém nosiči (Nováková, Douša, 2003; Klouda, 2003). Pro efektivní separaci je nutné užití dostatečně malých zrníček sorbentu, která kladou prostupující kapalině značný odpor. Z tohoto důvodu je nutné pracovat při vysokém tlaku (Klouda, 2003), proto se používá čerpadlo, které přivádí mobilní fází. Při isokratické eluci je MF vedena ze zásobníku MF do vysokotlakého čerpadla, při gradientové eluci jsou přiváděné proudy ze dvou nebo více zásobníků míseny podle programu ve směšovači, který je zařazen před vysokotlakým čerpadlem. Odplynění MF je provedeno v odplyňovači (degaser). Dále je MF vedena přes zařízení pro dávkování vzorku do chromatografické kolony, která je přímo spojená s detektorem. Z detektoru putuje signál do datové stanice. Obecné schéma kapalinového chromatografu je uvedeno na *Obrázku 7* (Nováková, Douša, 2003; Klouda, 2003).



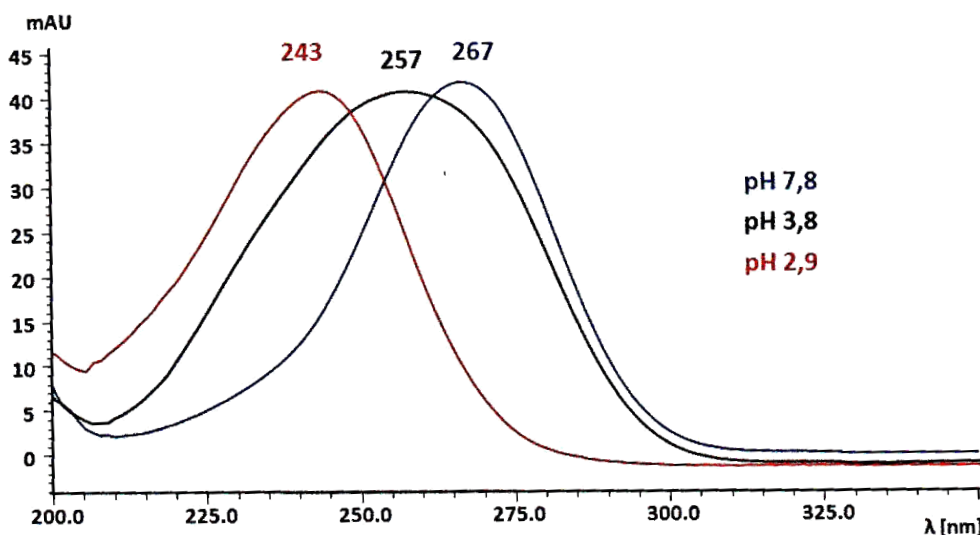
Obrázek 7 – Obecné schéma kapalinového chromatografu (převzato z: Nováková, Douša, 2003)

1. Uchování a transport MF (zásobníky MF, vysokotlaké čerpadlo)
2. Dávkování vzorku (autosampler, manuální dávkovací ventil)
3. Separace látek (chromatografická kolona, termostat kolny)
4. Detekce látek (detektor)
5. Záznam dat pro následné vyhodnocení (počítač a software)

Separaci a eluci jednotlivých složek (analytů, solutů) ovlivňuje povaha obou fází. Eluce se může provést buď mobilní fází o konstantním složení (stejně eluční síle) a jde o tzv. isokratickou eluci nebo mobilní fází o zvyšující se eluční síle a potom se jedná o tzv. gradientovou eluci, kde se složení mobilní fáze mění ve prospěch silnější eluční složky. Isokratická eluce je vhodná, pokud mají látky podobné fyzikálně-chemické vlastnosti, zatímco gradientová se používá v případě vlastností odlišných. Oddělené zóny analytů vycházející z kolony jsou zaznamenány při průchodu detektorem a následně je signál převeden do podoby chromatogramu. Chromatogram je časová závislost intenzity veličiny, která je sledována detektorem (nejčastěji absorbance). Pro tento záznam je charakteristické vykreslení křivek Gaussovského tvaru, které nazýváme píky (Nováková, Douša, 2003).

Charakteristická veličina pro dělenou látku je retenční (eluční) čas R_t nebo retenční (eluční) objem V_R . Retenční čas je doba, která uplyne od nástřiku vzorku do dosažení maxima eluční křivky (vrcholu píku) (Douša, 2013). Retenční objem je pak objem mobilní fáze (MF), která proteče kolonou za tuto dobu. Při chromatografické separaci je R_t kvalitativní charakteristikou látky (Nováková, Douša, 2003). Pro kvantitativní vyhodnocení zkoumané látky je podstatné určení plochy píku (respektive jeho výšky). Toto vyhodnocení bývá provedeno pomocí software nebo digitálních integrátorů (Douša, 2013).

Problémy při chromatografii často činí špatná příprava či užití MF. Může dojít k zavzdušnění čerpadla, v detektoru se objeví vzduchové bubliny, nástřik vzorku je značně nepřesný a nereprodukovatelný atd. Proto má příprava MF určitá pravidla a postupy. Při přípravě by se měly vždy používat co nejčistější rozpouštědla (HPLC grade) a další aditiva. Dále je také podstatné pH MF (viz *Obrázek 8*). I jeho malá změna může vést ke změně retence analytu. Kromě již zmíněného pH má vliv na výslednou hodnotu měřené vlnové délky absorpčního maxima i typ rozpouštědla a iontová síla (Nováková, Douša, 2003).

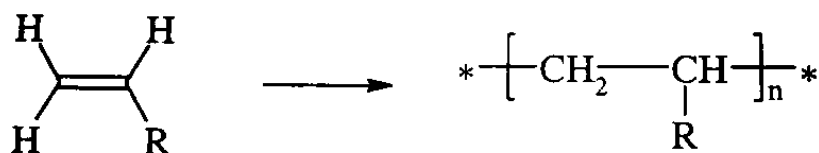


Obrázek 8 – UV spektra naměřená pro kyselinu askorbovou v roztocích o různém pH (převzato z: Nováková, Douša, 2003)

3.2.2 NMR spektroskopie

Nukleární magnetická rezonance (NMR) slouží k určení struktury dané látky, ale také ke studiu intra- a intermolekulárních interakcí. Je velmi cenným nástrojem v supramolekulární chemii a to až už v kapalném, plynném nebo tuhém stavu. Těmito možnostmi dosahuje i RTG analýzu – jedinou absolutní metodu určení struktury. Využití této metody se stalo naprosto běžné i v medicíně, v podobě MRI (magnetic resonance imaging) (Milata, Segl'a, 2004). Magnetická rezonance je považována za bezpečnou technologii, protože nepoužívá ionizujícího záření s vysokou energií k oddělení elektronů z atomů nebo molekul (Hartwig, 2015). Fyzikální podstata NMR spektroskopie je založena na interakci spinů jader s radiofrekvenčním zářením v přítomnosti silného homogenního magnetického pole.

Při struktuře polymerů je nutné uvažovat diastereotopické uspořádání polymerů vznikající reakcí dle *Obrázku 9*, kde R = CH₃, Cl, OH, OAc, Ph, atd. ale i jiných typů polymerů. Jako jsou polyizobutyleny, teflony atd. V oblasti struktury polymerů je NMR především využívána k řešení takticity polymerů, struktury polymerace dienů a kopolymerů (Milata, Segl'a, 2004).



Obrázek 9 – Polymerizační reakce (převzato z: (Milata, Segl'a, 2004)

NMR spektroskopie byla také použita zásadním způsobem pro stanovení velikosti a oxidačního stavu oligomerů používaných pro přípravu polymerních elektrolytů. Cílem výzkumu del Valle a kol. bylo kontrolování elektrosyntézy polyanilinu (PANI) a poly(o-anisidinu), k získání fragmentů o známé velikosti použitím NMR a UV-VIS techniky. 1 H NMR vzorky byly připraveny v deuterovaném DMSO a získaná spektra vykazovala charakteristické signály dimerů anilinu. Integrální analýza ukázala, že poměr mezi signály v aromatické oblasti a mezi signály protonů připojených k atomu dusíku byl asi 5 : 1, což ukazuje, že většina získaných molekul byly trimery (Abbrent, Greenbaum, 2013).

3.2.3 Infračervená spektroskopie

IR spektroskopie se zabývá měřením a vyhodnocováním absorpčních spekter látek v rozsahu vlnové délky 800 nm až 1000 μm . Výhodnou této metody je možnost studovat různé typy vzorků v různých skupenstvích. V poslední době došlo k velkému vývoji velmi citlivých metod k měření IR spekter polymerů, olejů, biologických vzorků, katalyzátorů atd. Těto metody lze využít jak na identifikaci molekul, tak i na důkaz nových sloučenin, výzkum chemických rovnováh a mnoho dalších. Metoda je založena na vibraci atomů v molekule, které odpovídá daný vibrační stav molekuly, který se může absorpcí záření změnit. Při průchodu IR záření sloučeninou dojde k tomu, že se část záření (s určitým kmitočtem) absorbuje a zbytek záření (o jiném kmitočtu) látkou projde. Absorbované IR záření způsobí změnu vibračních stavů molekuly. IR záření můžeme rozdělit do 3 kategorií – viz *Tabulka 6*. Při interpretaci IR spekter sledujeme 4 hlavní charakteristiky a to: polohu a tvar absorpčního pásu, počet pásů a jejich intenzitu.

U charakterizace polymerů se tato metoda používá nejvíce k určení jejich molekulového složení. Poskytuje totiž velmi cenné informace o jejich struktuře, která má zásadní vliv na jejich fyzikální vlastnosti. Zkoumá se především konfigurační a konformační izomerie, vodíkové vazby, velikost řetězce, krystalinita. Při interpretaci spekter se vibrační módy skupin, jako je CH_3 , CH_2 , NH , CO atd. opisují jako lokalizované vibrace, nezávislé na zbytku řetězce. Polymerní řetězec má prvky symetrie jako je skluzná rovina a rotační osa. Při změně krystalinity polymerů se mění i jejich poloha a intenzita některých pásů. Obecně se dá říci, že s rostoucím podílem krystalického podílu roste počet pásů a často dochází k štěpení pásů (Milata, Segl'a, 2004).

Tabulka 6 – typy IR záření (Milata, Segl'a, 2004)

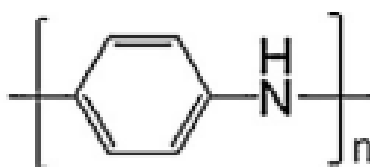
Zkratka	Název	Typ oblasti	Vlnová délka
NIR	Near – infrared	blízká	800 – 2500 nm
MIR	Middle - infrared	střední	2,5 – 50 μm
FIR	Far – infrared	daleká	50 – 1000 μm

4 POLYANILIN (PANI)

Polyanilin je elektricky vodivý polymer, jehož monomery jsou anilin hydrochlorid a peroxodisíran amonný.

4.1 Struktura

Struktura polyanilinu (PANI) je uvedena na *Obrázku 10*.



PANI

Obrázek 10 – struktura polyanilinu (převzato z: Lu et al. 2011)

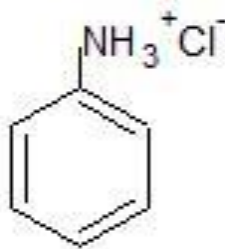
4.1.1 Monomery

4.1.1.1 Anilin hydrochlorid (AH)

Anilin hydrochlorid je sůl anilinu. Jde o pevnou bílou toxickou látku s charakteristickým zápachem. Další vybrané vlastnosti jsou uvedeny v *Tabulce 7*. Strukturální vzorec je uveden na *Obrázku 11*. Pokud dojde k absorpci do těla, začne se tvořit methemoglobin, který může při určité koncentraci způsobovat cyanózu (PENTA, 2011).

Tabulka 7 – Vybrané vlastnosti AH (upraveno podle: PENTA, 2011)

Molekulový vzorec	hořlavý	Relativní hustota (20°C) [g/cm ³]	Rozpustnost (20°C) ve vodě [g/l]	Molární hmotnost
C ₆ H ₅ NH ₂ .HCl	ANO	1,22	1070	129,59



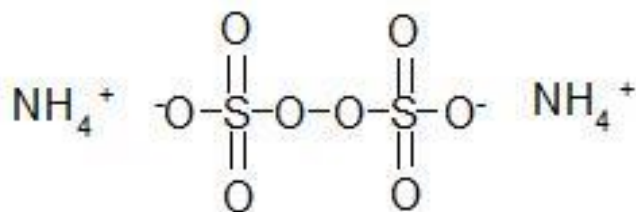
Obrázek 11 – Strukturální vzorec AH (vytvoreno v programu ACD/ChemSketch 12.0)

4.1.1.2 Amonium persulfát (APS)

Amonium persulfát neboli peroxidisíran amonný je monomer polyanilinu. Strukturální vzorec této sloučeniny je na *Obrázku 12*. Jde o pevnou bílou nehořlavou látku bez zápachu. Je to silné oxidační činidlo. Další vlastnosti jsou uvedeny v *Tabulce 8* (PENTA, 2010). APS se mimo jiné využívá i při polymeraci latexu, emulzních polymeracích, v elektronickém průmyslu (Signorin et al., 2001), může se podílet na iniciaci tvorby hydrogelů, které následně nacházejí využití např. v tkáňovém inženýrství (Martens, 2008).

Tabulka 8 – Vybrané vlastnosti APS (Upraveno podle: PENTA, 2010)

Molekulový vzorec	pH	hořlavý	Relativní hustota (20°C) [g/cm ³]	Rozpustnost (20°C) ve vodě [g/l]	Molární hmotnost
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	3,2	NE	1,98	620	228,20



Obrázek 12 – Strukturální vzorec APS (vytvoreno v programu ACD/ChemSketch 12.0)

4.2 Historie

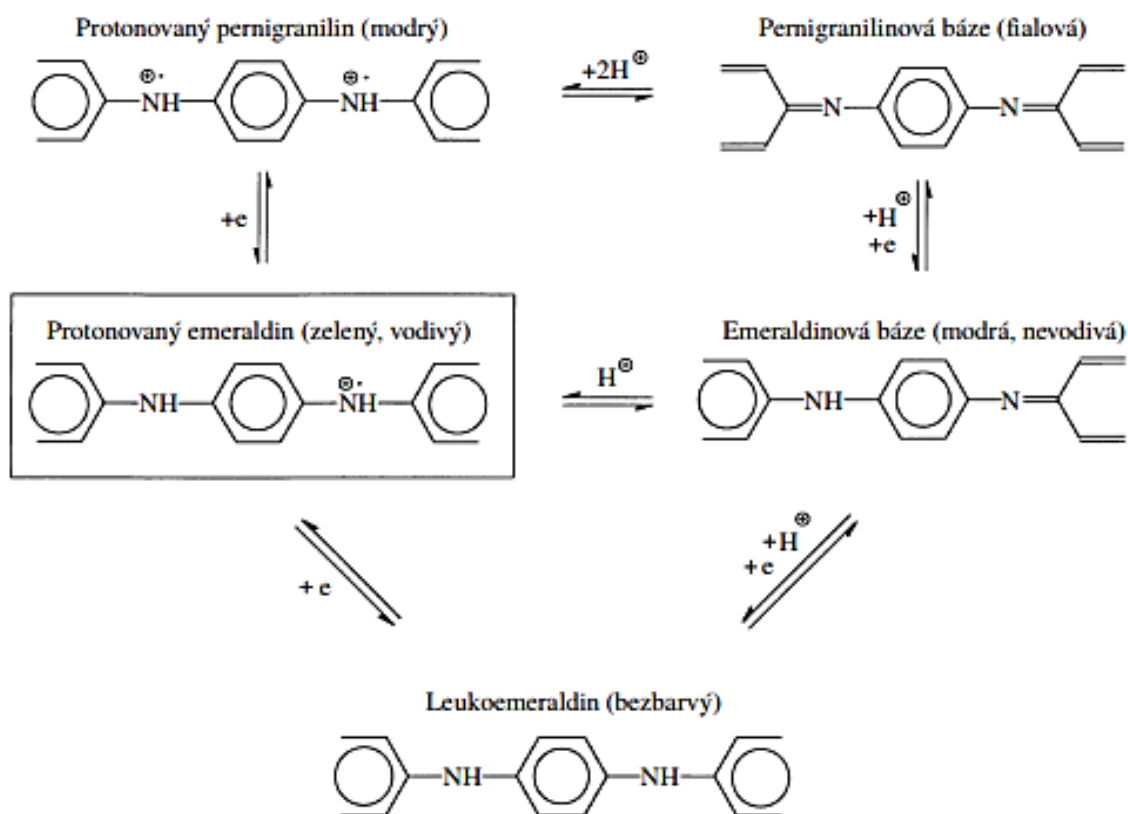
Polyanilin je nejspíše nejstarším syntetickým polymerem připraveným člověkem. Již v roce 1826 jej získal německý chemik Unverdorben jako produkt pyrolytické destilace indiga. Roku 1840 ho popsal Fritzsche jeho zelené oxidační produkty (polyanilin). V roce 1862 britský profesor Letheby provedl elektrochemickou oxidaci, která způsobila po alkalizaci modré zbarvení, které je charakteristické pro polyanilinovou bázi (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001). Vodivé polymery objevil Alan J. Heeger, Alan G. MacDiarmid a Hideki Shirakawa a roku 2000 byli za tento objev oceněni Nobelovou cenou za chemii (Lu et al. 2011).

4.3 Příprava

Příprava polyanilinu se provádí oxidací anilinu peroxodisíranem amonným. Reakce probíhá v kyselém vodném prostředí, jde o reakce exotermní, probíhá na vzduchu, při laboratorní teplotě a výtěžek činí téměř 100 %. Při praktickém provedení rozpustíme 2,59 g (20 mmol) anilin hydrochloridu v 50 ml vody. Dále separovaně rozpustíme 5,71 g (25 mmol) peroxodisíranu amonného také v 50 ml vody a následně oba roztoky smícháme. Směs zmodrá a na konci polymerace bude zelená. Doba polymerace je zhruba 10 minut. Poté odfiltrujeme sraženinu, promyjeme 0,2 M HCl a acetonem. Produkt se suší na vzduchu a následně při 60 °C ve vakuu. Produktem je emeraldin (polyanilin hydrochlorid) (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

4.4 Formy

Existuje několik forem polyanilinu, které se liší stupněm protonace či oxidace. Můžeme tedy cíleně měnit jeho vodivost a to odebráním nebo dodáním elektronů chemickou nebo elektrochemickou oxidací a redukcí získáme různé formy, lišící se strukturou, stabilitou, zbarvením a elektrickými vlastnostmi (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001). Mezi nejběžnější formy řadíme zelenou vodivou polyanilinovou (emeraldinovou) sůl a nevodivou modrou bázi. Vodivost klesá při tomto přechodu z jednotek S/cm na 10^{-9} S/cm (Stejskal, Gilbert, 2002). Na *Obrázku 13* je znázorněna základní stabilní emeraldinová forma, pernigranilin (oxidovaný emeraldin) a leoukoemeraldin (redukovaný emeraldin). Emeraldin i pernigranilin mají také protonované formy a odpovídající báze (Stejskal, 2006).



Obrázek 13 – Formy PANI (převzato z: Stejskal, 2006)

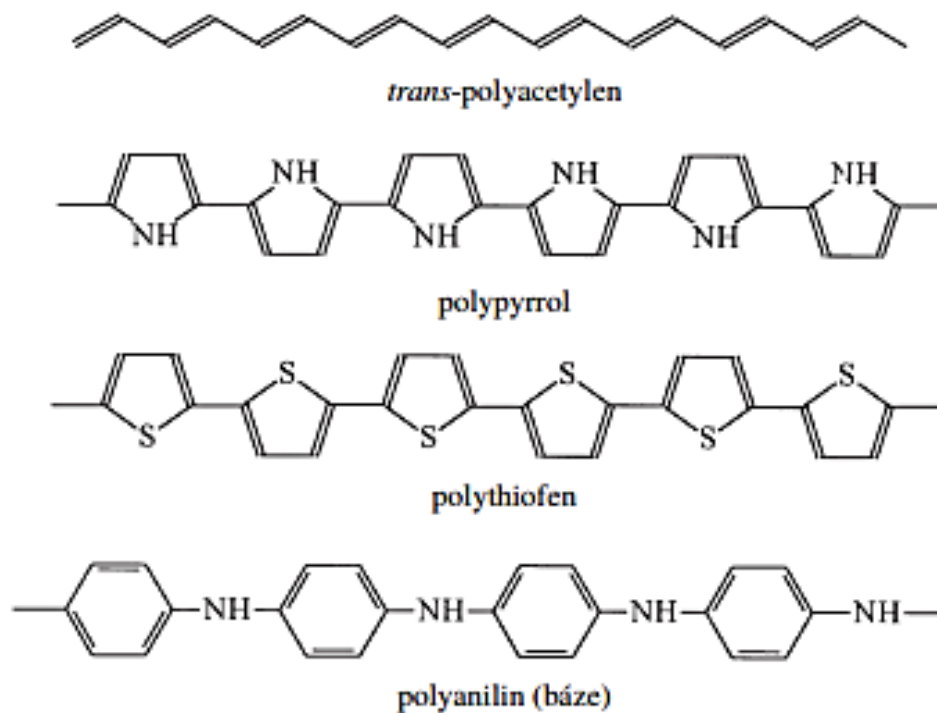
4.5 Vlastnosti

V této kapitole budou shrnuty poznatky o vlastnostech PANI (fyzikálně chemických a biologických).

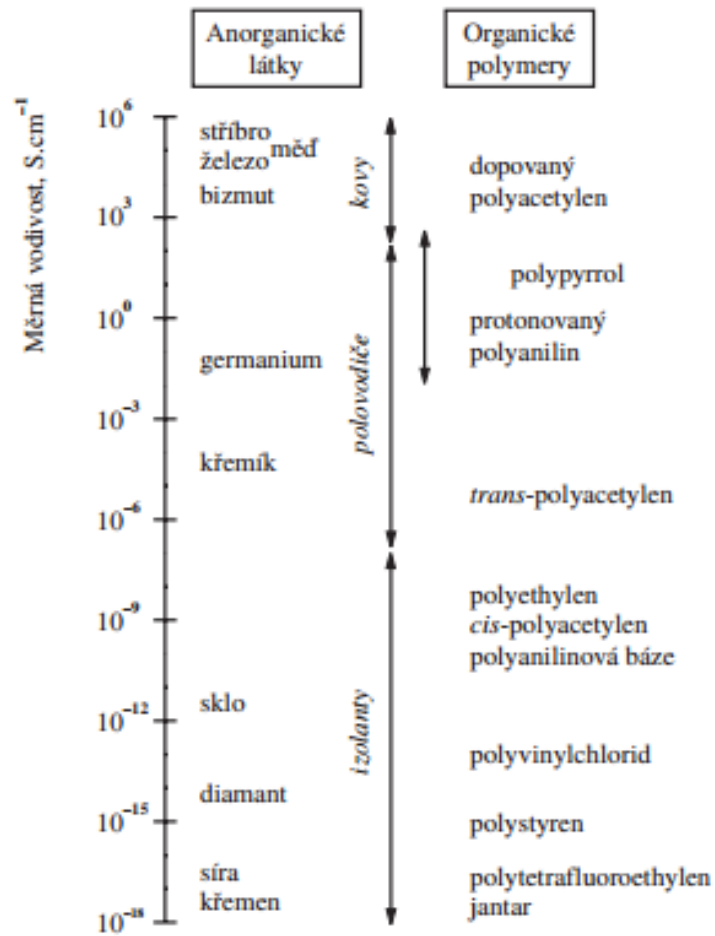
4.5.1 Fyzikálně chemické vlastnosti

Vodivost: K rozvoji využívání vodivých polymerů došlo v posledním desetiletí spolu s rozvojem znalostí o tomto speciálním typu polymerů (Humpolíček et al., 2012). Polyanilin patří mezi tyto vodivé polymery, jež jsou velice zajímavé díky svým elektrickým a oxidačně redukčním vlastnostem a potenciálnímu využití v mnoha oblastech. Elektricky vodivé polymery jsou také známé jako „syntetické kovy“ (Lu et al. 2011). Na *Obrázku 14* jsou příklady vodivých polymerů, včetně polyanilinu (Stejskal, 2006). Ve struktuře se těmito sloučeninám pravidelně střídají jednoduché a dvojné vazby (jde o konjugovaný systém) a také obsahují nositele náboje, jež zajišťují přenos náboje po řetězci (Stejskal, 2006). Ty vznikají procesem zvaným dopování. Nejde však o klasické dopování jako u anorganických

kých polovodičů – u polymerů je nutná vyšší koncentrace (řádově až desítek procent) (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001). U těchto polymerů se vodivost pohybuje okolo 0,01 – 30 S/cm. Srovnání anorganických látek a organických polymerů je uvedeno na *Obrázku 15* (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

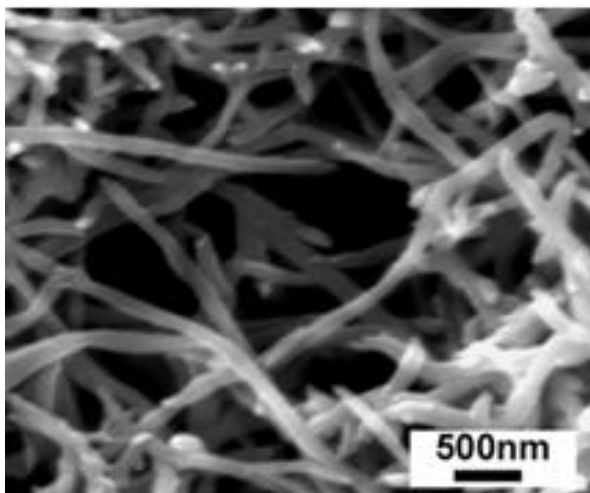


Obrázek 14 – Příklady vodivých polymerů (převzato z: Stejskal, 2006)



Obrázek 15 – Měrná elektrická vodivost vybraných látek (převzato z: Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001)

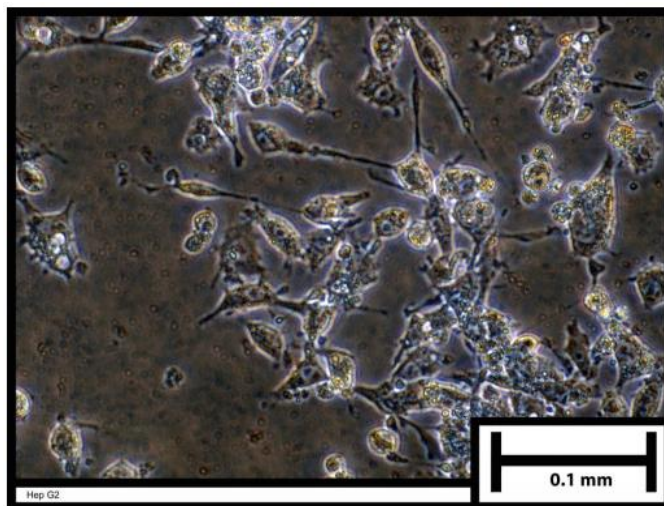
Morfologie: Podle typu polymerace a reakčních podmínek se liší i morfologie vzniklých produktů. Při klasické polymeraci anilinu vzniká produkt s granulární morfologií, při polymeraci při snížení kyselosti vznikají nanotrubky (viz Obrázek 16). Přesná příčina tvorby těchto útvarů není známá, ale je dalším důvodem atraktivity tohoto polymeru (Stejskal, 2006).



Obrázek 16 – PANI nanotrúbky (převzato z Chiou, Epstein, 2005)

4.5.2 Biologické vlastnosti

Buněčná proliferace: Obecně povrchy pokryté polyanilinovými filmy umožňují buněčnou adhezi. Vazba a růst buněk na polyanilinovém povrchu je dána jeho hydrofilitou, fyzikálními vlastnostmi povrchu atd. Co se týče proliferace, je zde rozdíl mezi formami PANI. Při porovnání filmu z polyanilinové soli, bázi a filmem opláchnutým „ultračistou“ vodou byla nejvyšší proliferace pozorována u posledního zmíněného. Tento výsledek lze odůvodnit tím, že působením ultračisté vody dojde mimo jiné k odstranění potenciálně toxických nečistot a v případě polyanilinové soli dojde k deprotonaci a přeměně na polyanilinovou bázi (ta umožňuje proliferaci více). Toto zjištění omezuje biomedicínské využití polyanilinové soli bez toho, aniž by došlo k dalším úpravám, jako přečištění atd. Na *Obrázku 17* vidíme morfologii rostoucích buněk na filmu (PANI báze) (Humpolíček et al., 2012).

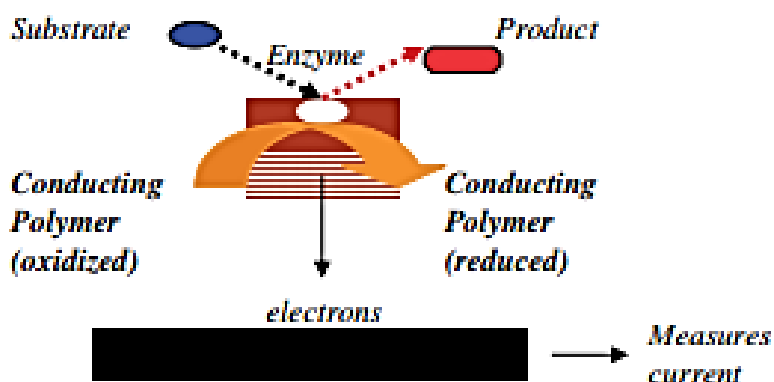


Obrázek 17 – Morfologie rostoucích buněk na filmu (PANI báze) (převzato z: Humpolíček et al., 2012)

4.6 Využití a aplikace

Polyanilin a obecně vodivé polymery přilákaly velkou pozornost mimo jiné díky snadnosti syntézy (Lu et al., 2011). Polyanilin náleží mezi polymery, pro něž se hledalo využití právě s ohledem na jeho schopnost reagovat na vnější stimuly změnou své elektrické vodivosti (Humpolíček et al., 2012). Těto vlastnosti se dá velmi dobře využít v biomedicině a to speciálně v aplikacích ve tkáních jakými jsou ku příkladu mozek, nervová tkáň či srdce (Kuceková et al., 2014). I když jsou biologické aplikace teď velmi aktuální, je zde jisté omezení při zpracování. Polyanilin je totiž špatně rozpustný ve vodě i v organických rozpouštědlech. Řešením tohoto problému by mohla být kopolymerace nebo protonace s kyselinami, což by vedlo k lepší rozpustnosti (Kuceková et al., 2014).

Vodivé polymery se dají také využít jako biosenzory nebo pro kontrolu nad buněčnou proliferací a diferenciací. Biosenzor se skládá ze snímacího prvku (tj. biomolekuly) a převodníku. Snímací prvek interaguje s analytem produkujícím chemický signál, který je převeden na snímač, který nakonec transformuje vstup na elektrický signál. Na *Obrázku 18* je znázorněno schéma přenosu elektronů v amperometrickém biosenzoru. Enzym katalyzuje redoxní reakci specifického analytu, což má za následek snížení vodivosti polymeru (snímače) a měření proudu (Guimard, 2007).



Obrázek 18 – Schéma amperometrického biosenzoru (převzato z Guimard, 2007)

Vysoká vodivost při dopingu činí tyto polymery slibnými pro aplikace v elektrooptických, molekulárních a nanoelektrických zařízeních a také jako nátěry odolné vůči korozi. Kromě toho se schopnosti reverzibilního dopingu dá využít v senzorech, separačních membránách (Lu et al., 2011), při katalýze organických reakcí, palivových článcích, superkondenzátorech, nebo analytických elektrodách (Humpolíček, Kašpárková, Saha, Stejskal, 2012). Německá firma Bayer používá PANI v antistatických vrstvách fotografických filmů. Tyto vrstvy zabraňují vzniku elektrostatických výbojů při jejich rychlém převíjení. Změny optické absorpce PANI při vloženém elektrickém potenciálu a elektrochemismus se uplatňují v zobrazovací technice. V tomto kontextu se hovoří o „elektronických tapetách“ či „inteligentních oknech“. Tyto „inteligentní“ výrobky dokážou reagovat a měnit se dle přání zákazníka. Tohoto principu se využívá i při vývoji „neviditelných“ letadel. Také byly navrženy optické senzory na bázi PANI indikující změny pH (Prokeš, Stejskal, Omastová 2001). Vodivé polyanilinové nanovlákná byly použity také jako nanoplniva pro zlepšení vlastností feroelektrického kopolymeru. Kromě toho byly polyanilinové nanovlákná s příměsí zlatých nanočástic označeny za potenciálně vhodné k výrobě digitálního energeticky nezávislého paměťového zařízení (Long et al., 2011).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cíle bakalářské práce byly stanoveny následovně:

- V teoretické části:
 - definovat pojmy z oblasti biomateriálů;
 - shrnout poznatky o nečistotách v polymerních materiálech a o možných způsobech jejich detekce;
 - shrnout poznatky o polyanilinu a monomerech použitých pro jeho přípravu.
- V praktické části:
 - vyvinout metodu HPLC vhodnou pro stanovení zbytkových monomerů a tuto metodu ověřit;
 - stanovit zbytkové množství monomerů v reálných vzorcích polyanilinů metodou HPLC.

6 METODIKA

6.1 Přístrojové vybavení

- Vysokoučinný kapalinový chromatograf Waters 600E (System Controller)
- Analytické váhy Sartorius, BA 110 S



Obrázek 19 – kapalinový chromatograf

6.2 Chromatografické podmínky

Analýzy byly provedeny za použití HPLC modulárního systému skládajícího se z čerpadla Waters 600E, vakuového odplyňovače VD 040 (Watrex, Česká republika) a detektoru UV200 (Watrex, Česká republika). Byla použita kolona C18 X-select (300 mm x 7,8 mm, Waters). Analýza zbytkového anilin hydrochloridu a peroxodisíranu amonného byla provedena za použití isokratického režimu. Rychlost průtoku mobilní fáze byla 0,8 ml min⁻¹ a nástřikový objem činil 20 ml. Vzorky byly proměřeny UV detektorem při vlnové délce 235 nm. Analýza dat byla provedena softwarem Clarity.

6.3 Vzorky

V experimentální části byly studovány vzorky PANI připraveného v přítomnosti dopovacích kyselin, jejich přehled je uveden v *Tabulce 9*. Vzorky byly připraveny na Ústavu makromolekulární chemie Praha, dle postupu IUPAC (Stejskal, Sapurina, 2005).

6.3.1 Příprava vzorků

Příprava PANI

Vzorky polyanilinu byly syntetizovány oxidací 0,2 mol L⁻¹ anilinu (Fluka, Švýcarsko) 0,25 mol L⁻¹ peroxodisíranem amonným (Lach-Ner, Česká republika) v přítomnosti 1 mol L⁻¹ vodných roztoků kyseliny sírové (S), dusičné (N), fosforečné (P), chlorovodíkové (Cl) a methansulfonové (M), (vše P-Lab, Česká Republika). Vodné roztoky obou prekurzorů a příslušné kyseliny se smísily, krátce se promíchaly a nechaly v klidu polymerovat přes noc. Protonované, vodivé PANI soli (PANI_S, PANI_N, PANI_P, PANI_Cl, PANI_M), připravené polymerací, byly izolovány filtrací, promyty 0,2 M roztokem příslušné kyseliny, acetonem a vysušeny na vzduchu.

Příprava výluhů

Výluhy PANI pro HPLC analýzu byly připraveny extrakcí dle normy ČSN EN ISO 10993-12 v poměru 0,2 g práškového PANI na 1 ml ultračisté vody. Doba extrakce činila 24 hod.

Tabulka 9 – Vzorky PANI připravené v přítomnosti různých dopovacích kyselin

Označení	Typ kyseliny
PANI_S	sírová
PANI_M	methansulfonová
PANI_P	fosforečná
PANI_N	dusičná
PANI_Cl	chlorovodíková

6.4 Chemikálie

Chemikálie, které byly použity pro přípravu mobilní fáze a k neutralizaci PANI výluhů, jsou uvedeny v *Tabulce 10*.

Tabulka 10 – Použité chemikálie

Název	Vzorec	Výrobce/Dodavatel
Acetonitril, HPLC gradient grade	CH ₃ CN	Chem-Lab
Demineralizovaná voda	H ₂ O	-
Kyselina octová	CH ₃ COOH	Ing. Petr Lukeš
Octan sodný	CH ₃ COONa	Lachema Brno
Hydroxid sodný	NaOH	Ing. Petr Lukeš

6.5 Standardy

Ke kalibraci byly použity komerčně dostupné standardy a to anilin hydrochlorid a peroxidisíran amonný (amonium persulfát) – viz *Tabulka 11*.

Tabulka 11 – Použité standardy

Název	Vzorec	Výrobce/Dodavatel
Ammonium persulfate	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	Sigma-Aldrich
Anilin hydrochlorid	C ₆ H ₈ ClN	Sigma-Aldrich

6.6 Volba mobilní fáze

V této bakalářské práci bylo testováno několik typů mobilních fází (MF), které se lišily složením (směsi acetonitrilu (ACN), acetátového pufru, kyseliny octové a demineralizované vody). Testované mobilní fáze jsou uvedeny v *Tabulce 12*. Acetátový pufr pro přípravu MF₂ (pH = 4) byl připraven smícháním 847 ml 0,1 M kyseliny octové a 153 ml

0,1 M octanu sodného a pro přípravu MF₃ (pH = 5) bylo smícháno 357 ml 0,1 M kyseliny octové a 643 ml 0,1 M octanu sodného.

Tabulka 12 – Složení použitých MF

Označení	Složení	Poměr
MF ₁	ACN : H ₂ O : CH ₃ COOH	60 : 40 : 0,4
MF ₂	ACN : acetátový pufr (pH = 4)	60 : 40
MF ₃	ACN : acetátový pufr (pH = 5)	60 : 40

6.6.1 Mobilní fáze MF₁ (ACN : H₂O : CH₃COOH)

Jako první byla testována mobilní fáze MF₁ o složení ACN : H₂O : CH₃COOH v poměru 60 : 40 : 0,4.

- **Kalibrace**

Pro sestavení kalibračních přímek bylo naváženo cca 420 mg peroxidisíranu amonného (APS) a toto množství bylo kvantitativně převedeno do 50 ml odměrné baňky a doplněno mobilní fází. Dále bylo naváženo cca 15 mg anilin hydrochloridu (AH), kvantitativně převedeno do 100 ml odměrné baňky a rovněž doplněno mobilní fází. Z každého z roztoků bylo pipetováno a smícháno 25 ml. Z takto vzniklého roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentraci 1,684; 0,4211; 0,8422; 1,1791; 1,6844 g.ml⁻¹ APS a 0,032; 0,0079; 0,0158; 0,0221 g.ml⁻¹ AH. Tyto roztoky byly postupně analyzovány výše uvedenou chromatografickou metodou. Každý roztok byl analyzován 3x.

- **Příklady výpočtů koncentrací standardů v Mobilní fázi MF₁:**

Výpočet koncentrace APS po 1. ředění: (navážka APS = 421,1 mg)

$$c_{APS,1} = \frac{m_{APS}}{V_{MF}} = \frac{421,1 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} = 8,422 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$$

Příklad výpočtu koncentrace APS po 2. ředění:

$$c_{APS,1} \cdot V_1 = c_{APS,2} \cdot V_2$$

$$c_{APS,2} = \frac{c_{APS,1} \cdot V_1}{V_2} = \frac{8,422.25 \frac{mg}{ml} \cdot ml}{50 ml} = 4,211 \frac{mg}{ml}$$

Výpočet koncentrace AH po 1. ředění: (navážka AH = 15,8 mg)

$$c_{AH,1} = \frac{m_{AH}}{V_{MF}} = \frac{15,8 mg}{100 ml} = 0,158 \frac{mg}{ml}$$

Příklad výpočtu koncentrace AH po 2. ředění:

$$c_{AH,1} \cdot V_1 = c_{AH,2} \cdot V_2$$

$$c_{AH,2} = \frac{c_{AH,1} \cdot V_1}{V_2} = \frac{0,158.25 \frac{mg}{ml} \cdot ml}{50 ml} = 0,0790 \frac{mg}{ml}$$

- **Vzorky výluhů PANI**

Z každého ze vzorků výluhů (kap. 6.3.1) bylo odebráno po 25 μ l a doplněno mobilní fází na objem 10 ml. Ze vzorku PANI_P bylo odebráno 50 μ l a doplněno mobilní fází na tentýž objem. Vzhledem k tomu, že výluhy měly pH v silně kyselé oblasti, byla provedena i HPLC analýza neutralizovaných výluhů. V tomto případě byly vzorky připraveny obdobným způsobem, po předchozí neutralizaci výluhů hydroxidem sodným.

6.6.2 Mobilní fáze MF₂ (ACN : acetátový pufr (pH = 4))

Jako druhá byla testována mobilní fáze MF₂ o složení ACN: acetátový pufr o pH = 4 v poměru 60 : 40.

- **Kalibrace**

Kalibrace probíhala stejným způsobem, jak je popsáno v kap. 6.6.1.

- **Příklady výpočtů koncentrací pro Mobilní fázi MF₂:**

Výpočet koncentrace APS po 1. ředění:

$$c_{APS,1} = \frac{m_{APS}}{V_{MF}} = \frac{420,6 mg}{50 ml} = 8,412 \frac{mg}{ml}$$

Výpočet koncentrace APS po 2. ředění:

$$c_{APS,1} \cdot V_1 = c_{APS,2} \cdot V_2$$

$$c_{APS,2} = \frac{c_{APS,1} \cdot V_1}{V_2} = \frac{8,412.25 \frac{mg}{ml} \cdot ml}{50 ml} = 4,206 \frac{mg}{ml}$$

Výpočet koncentrace AH po 1. ředění:

$$c_{AH,1} = \frac{m_{AH}}{V_{MF}} = \frac{15,8 mg}{100 ml} = 0,158 \frac{mg}{ml}$$

Výpočet koncentrace AH po 2. ředění:

$$c_{AH,1} \cdot V_1 = c_{AH,2} \cdot V_2$$

$$c_{AH,2} = \frac{c_{AH,1} \cdot V_1}{V_2} = \frac{0,158.25 \frac{mg}{ml} \cdot ml}{50 ml} = 0,0790 \frac{mg}{ml}$$

- **Vzorky výluhů PANI**

Z jednotlivých vzorků výluhů PANI, připravených v přítomnosti různých dopovačích kyselin (PANI_S, PANI_M, PANI_P, PANI_N, PANI_Cl) bylo odebráno vždy 25 μ l a doplněno mobilní fází na objem 10 ml. Mobilní fáze MF₃ (ACN : acetátový pufr (pH = 4)).

6.6.3 Mobilní fáze MF₂ (ACN : acetátový pufr (pH = 5))

Následně byla testována MF₃ o složení ACN: acetátový pufr o pH = 5 v poměru 60 : 40.

- **Kalibrace**

Vzhledem ke skutečnosti, že při použití této mobilní fáze nedošlo k výraznějšímu posunu retenčních časů pík sledovaných standardů oproti MF₂ s acetátovým pufrům o pH 4, byla pro výpočet použita kalibrace z kap. 6.6.2. Kontrola retenčních časů byla provedena za použití standardu APS o koncentraci 0,04227 g.ml⁻¹ a AH 0,0079 g.ml⁻¹. Tento roztok byl analyzován 3x s prakticky totožnými výsledky.

- **Vzorky výluhů PANI**

Ze vzorků výluhů bylo odebráno vždy 25 μ l a doplněno mobilní fází MF₃ na objem 10 ml. U vzorku PANI_P bylo odebráno 50 μ l a doplněno na tentýž objem.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Volba mobilní fáze

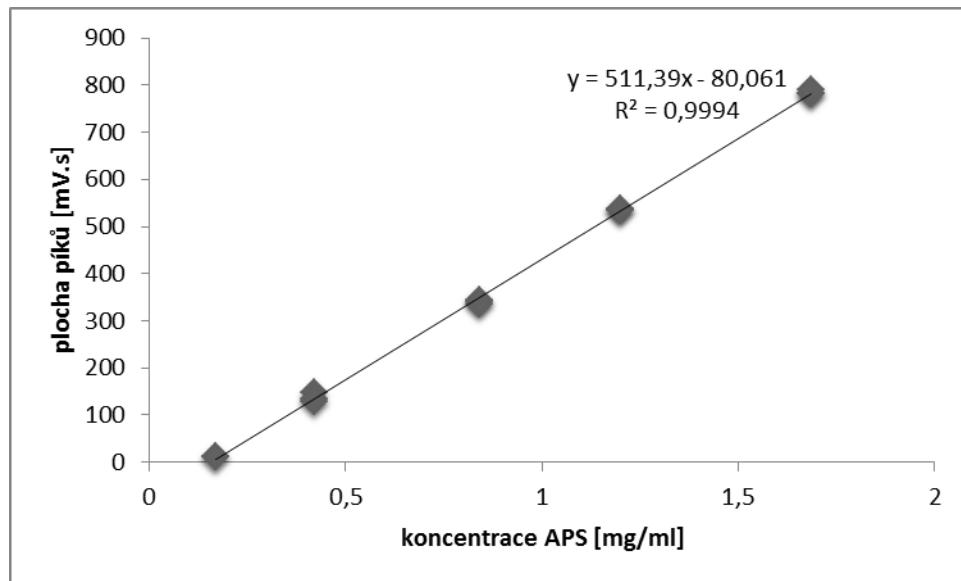
Za účelem stanovení koncentrace prekurzorů/monomerů ve vodných výluzích z PANI prášků, které byly připraveny v přítomnosti různých dopovacích kyselin (chlorovodíkové, sírové, dusičné, fosforečné a methansulfonové), byly testovány tři mobilní fáze o složení uvedeném v *Tabulce 12*. Výsledky stanovení jsou představeny a diskutovány v následující části práce.

7.1.1 MF₁ (ACN : H₂O : CH₃COOH)

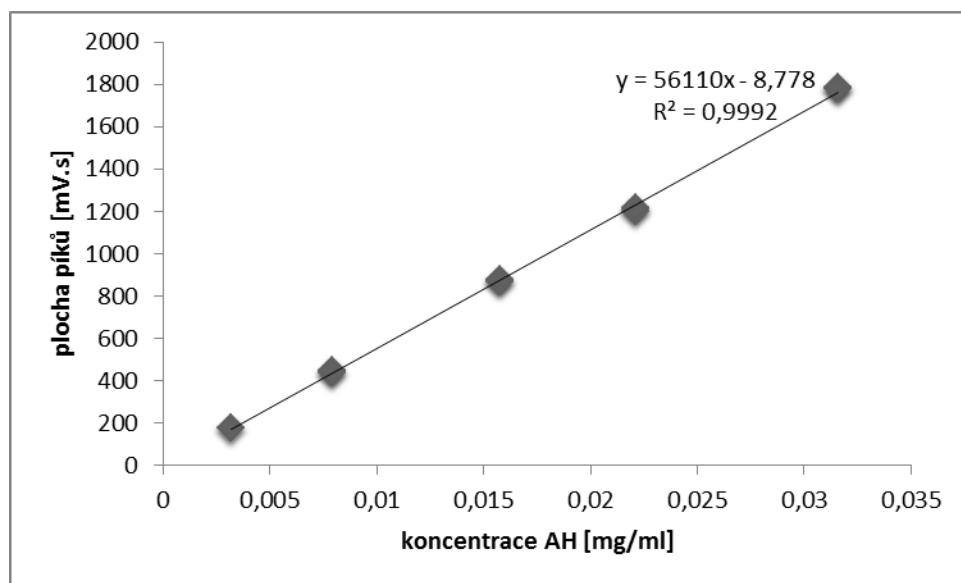
Jako první byla použita mobilní fáze MF₁ o složení ACN : H₂O : CH₃COOH v poměru 60 : 40 : 0,4. Tato mobilní fáze byla shledána jako vyhovující, protože došlo k dobré separaci AH i APS. Z tohoto důvodu byly sestrojeny kalibrační závislosti jak pro APS, tak pro AH a následně byly analyzovány i vzorky výluhů PANI připravených v přítomnosti výše uvedených dopovacích kyselin. Byla provedena i analýza zneutralizovaných výluhů s cílem zjistit, jestli změny pH výluhu ovlivní charakteristické chromatografické veličiny, jako je retenční čas a tvar chromatografického píku v případě, že je použita tato nepufrovaná mobilní fáze.

Tabulka 13 – Data použitá pro sestrojení kalibračních závislostí pro stanovení anilin hydrochloridu (AH) a peroxodisíranu amonného (APS). Mobilní fáze MF₁.

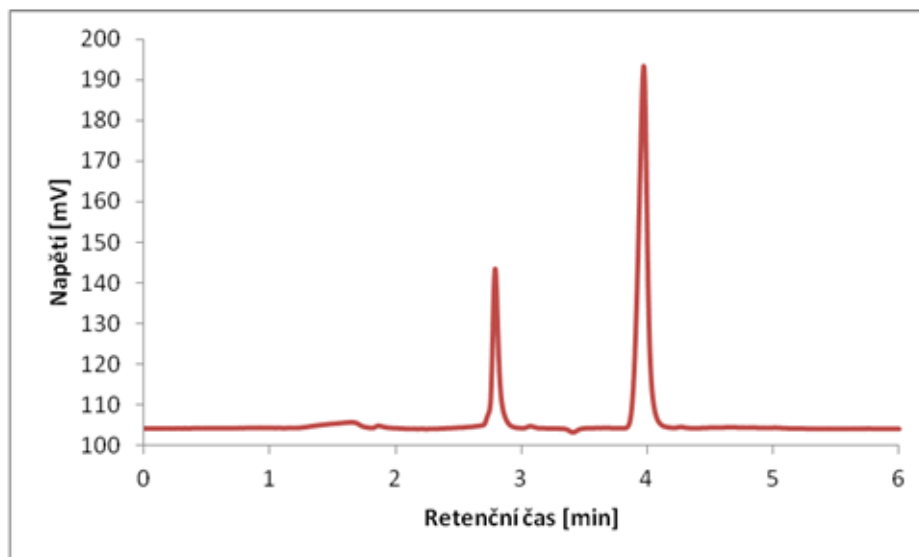
Retenční čas APS R _t = 2,8 min			Retenční čas AH R _t = 3,9 min		
Koncentrace [g/ml]	APS Plocha píku [mV.s]	APS	Koncentrace [g/ml]	AH Plocha píku [mV.s]	AH
0,1684	11,20 ± 1,13		0,0032	176,05 ± 2,05	
0,4211	141,03 ± 8,08		0,0079	442,50 ± 4,75	
0,8422	340,70 ± 3,97		0,0158	870,70 ± 6,16	
1,1791	536,47 ± 1,29		0,0221	1209,10 ± 9,38	
1,6844	783,57 ± 5,05		0,0316	1781,63 ± 2,06	



Obrázek 20 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu APS



Obrázek 21 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci AH



Obrázek 22 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4211 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₁.

Z chromatogramu standardního roztoku uvedeného na *Obrázku 22* (koncentrace APS 0,4211 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml) je patrná dobrá separace obou analytů, APS s retenčním časem 2,78 min a AH s retenčním časem 3,96 min. Analýzou dalších standardů, v ostatních ředěních, se retenční časy výrazně neměnily, čímž byla potvrzena vhodnost použité mobilní fáze pro analýzu výluhů. Obecně je chromatogram jasný bez dalších šumů a nežádoucích vlivů.

Z chromatogramů získaných při analýze standardů o různých koncentracích AH a APS byly integrací získány příslušné plochy píků analytů a hodnoty byly vyneseny do kalibračního grafu proti koncentracím. Byly tak sestrojeny kalibrační závislosti, ze kterých byly získány regresní rovnice, které sloužily k zjištění koncentrace jednotlivých zbytkových monomerů ve výluzích. Při výpočtu bylo nutné zvážit faktor zředění, zohledňující přípravu vzorku.

Výpočtem byly stanoveny následující regresní rovnice:

Regresní rovnice pro APS (viz Obrázek 20):

$$y = 511,39x - 80,061 \rightarrow x = \frac{y+80,061}{511,39} \cdot f$$

kde: y ... plocha odpovídajícího píku z chromatogramu [mV.s]

x ...hledaná koncentrace monomeru [mg/ml]

f ... faktor ředění [1]

Vzorový výpočet koncentrace APS pro PANI_S:

$$x = \frac{339,499 + 80,061}{511,39} \cdot \frac{10\,000}{25} = 328 \text{ mg/ml}$$

Regresní rovnice pro AH (viz Obrázek 21):

$$y = 56110x - 8,778 \rightarrow x = \frac{y+8,778}{56110} \cdot f$$

kde: y ... plocha odpovídajícího píku z chromatogramu [mV.s]

x ...hledaná koncentrace monomeru [mg/ml]

f ... faktor ředění [1]

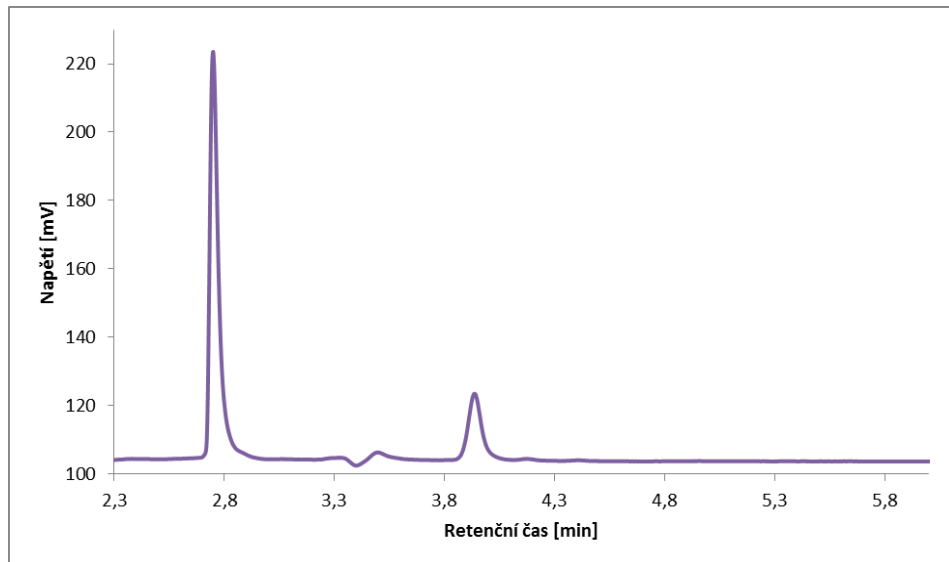
Vzorový výpočet koncentrace AH pro PANI_S:

$$x = \frac{84,79 + 8,778}{56110} \cdot \frac{10\,000}{25} = 0,667 \text{ mg/ml}$$

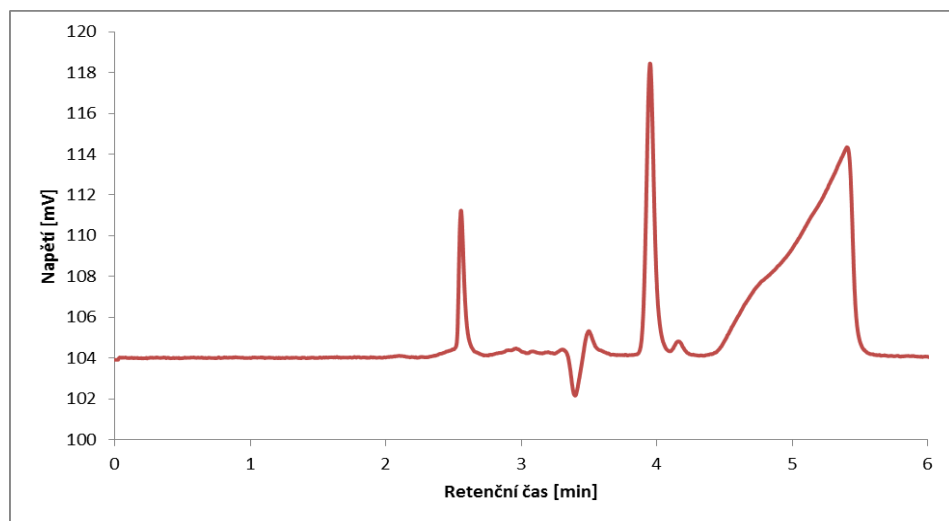
- **Vzorky výluhů vzorků PANI připravených v přítomnosti různých dopovacích kyselin**

Příklady chromatogramů výluhů PANI_S, PANI_N a PANI_M jsou uvedeny na *Obrázku 23, 24, 25*. Z chromatogramů je patrné, že APS a AH byly dobře separovány i v reálných vzorcích. Kromě sledovaných analytů byly na chromatogramech přítomny i další neidentifikované píky. Nejzřetelnější byl neznámý pík/analyt výluhu PANI_N v retenčním čase 5,4 min. Mohlo by se jednat například o hydrochinon či jinou látku. Pro konkrétní zjištění této látky by však bylo nutné provést řadu dalších analýz, což nebylo

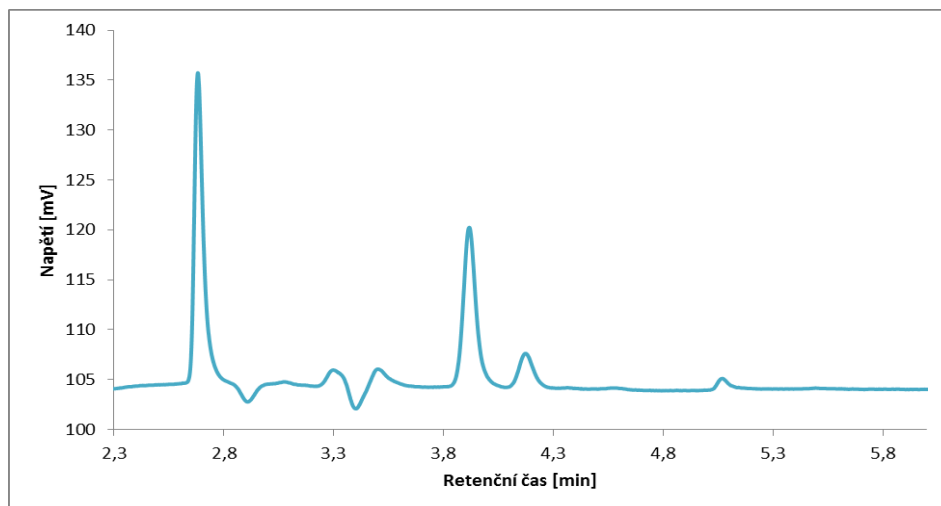
součástí této práce. Výsledky stanovení koncentrace zbytkových monomerů získané z kalibračních přímk (Obrázek 20 a 21) jsou pak uvedeny v Tabulce 14.



Obrázek 23 – Chromatogram výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.



Obrázek 24 – Chromatogram výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.



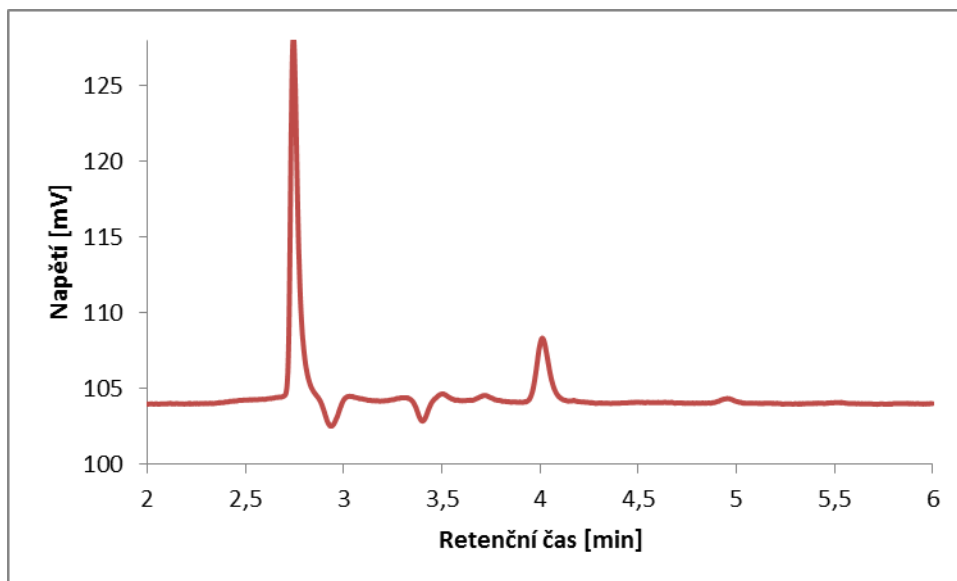
Obrázek 25 – Chromatogram výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.

Tabulka 14 – Koncentrace monomerů ve výluhích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₁

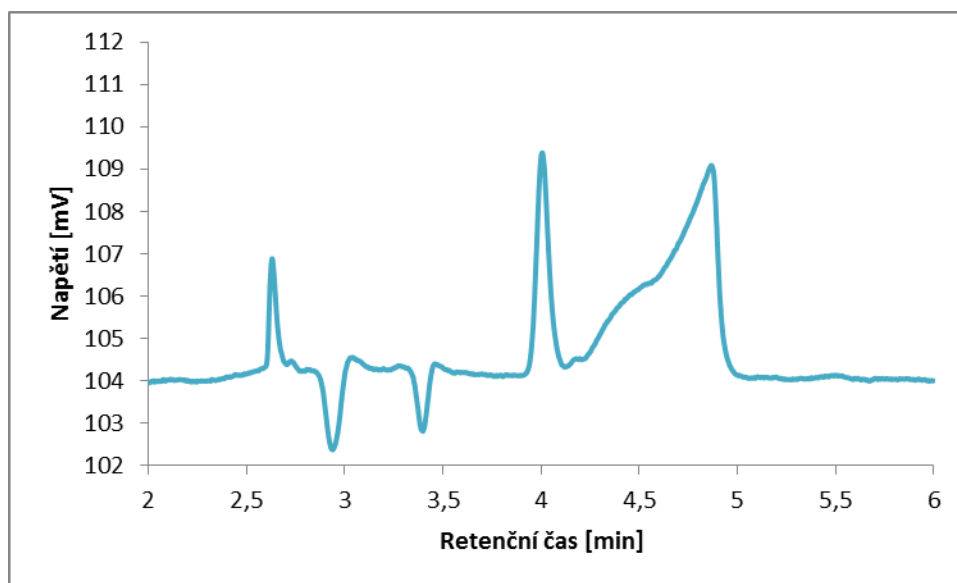
Vzorek	Koncentrace APS [mg/ml]	Koncentrace AH [mg/ml]
PANI_S	328	0,37
PANI_M	147	0,53
PANI_P	39	0,13
PANI_N	80	0,48
PANI_CI	89	0,38

- **Vzorky neutralizovaných výluhů vzorků PANI připravených v přítomnosti různých dopovacích kyselin**

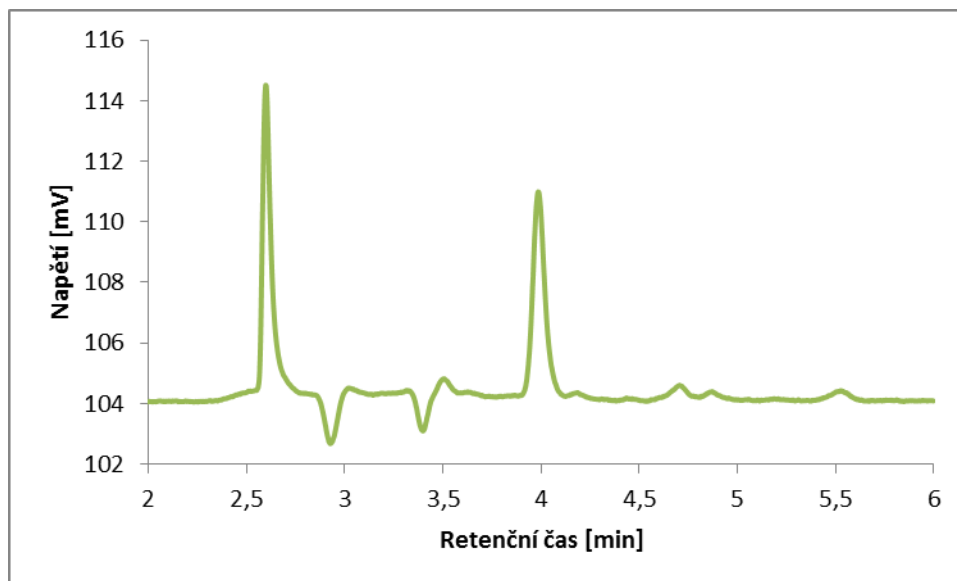
V dalším kroku byly analyzovány výluhy PANI vzorků, jejichž pH bylo upraveno přidávkem NaOH do neutrální oblasti. Příklady chromatogramů výluhů PANI_S, PANI_N a PANI_M jsou uvedeny na *Obrázku 26, 27, 28*. Z chromatogramů je patrné, že APS a AH byly rovněž dobře separovány. I po úpravě pH výluhu však nedošlo ke zlepšení v separaci nejzřetelnějšího neznámého píku/analytu ve výluhu PANI_N (pouze se změnila doba eluce, retenční čas činil v tomto případě 4,85 min). Souhrnné výsledky z tohoto stanovení jsou uvedeny v *Tabulce 15*.



Obrázek 26 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.



Obrázek 27 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.



Obrázek 28 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.

Tabulka 15 – Koncentrace monomerů v neutralizovaných výluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₁

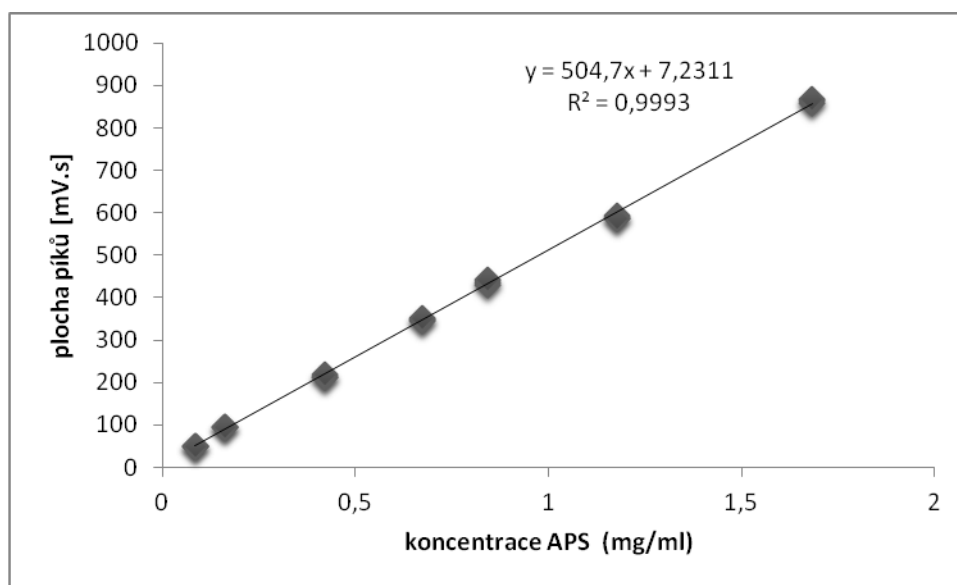
Vzorek	Koncentrace APS [mg/ml]	Koncentrace AH [mg/ml]
PANI_S	228	0,39
PANI_M	175	0,55
PANI_P	67	0,11
PANI_N	135	0,45
PANI_CI	138	0,30

7.1.2 MF₂(ACN : acetátový pufr (pH = 4))

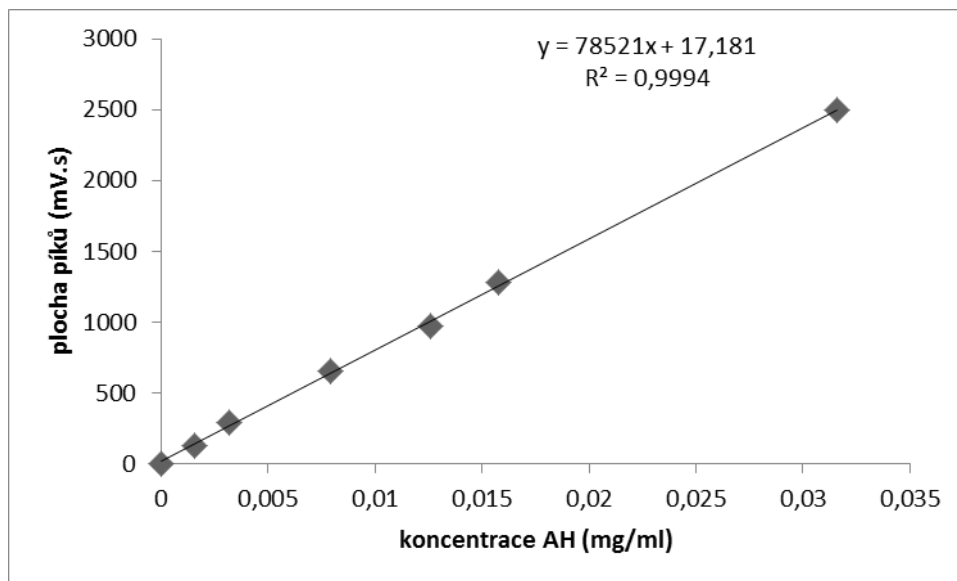
Jako další byla použita mobilní fáze MF₂ o složení ACN: acetátový pufr o pH = 4. V poměru 60 : 40. Tato mobilní fáze byla vybrána kvůli předpokladu, že by změna pH mohla zlepšit separaci neznámého píku ve výluhu PANI_N. Bylo možné rovněž předpokládat, že pufovaná mobilní fáze bude zárukou dobré separace anilin hydrochloridu. Mobilní fáze byla shledána jako vyhovující, a proto byla provedena kalibrace i analýza jednotlivých vodných výluhů PANI.

Tabulka 16 – Data použitá pro sestavení kalibračních závislostí pro stanovení anilin hydrochloridu (AH) a peroxodisíranu amonného (APS). Mobilní fáze MF₂.

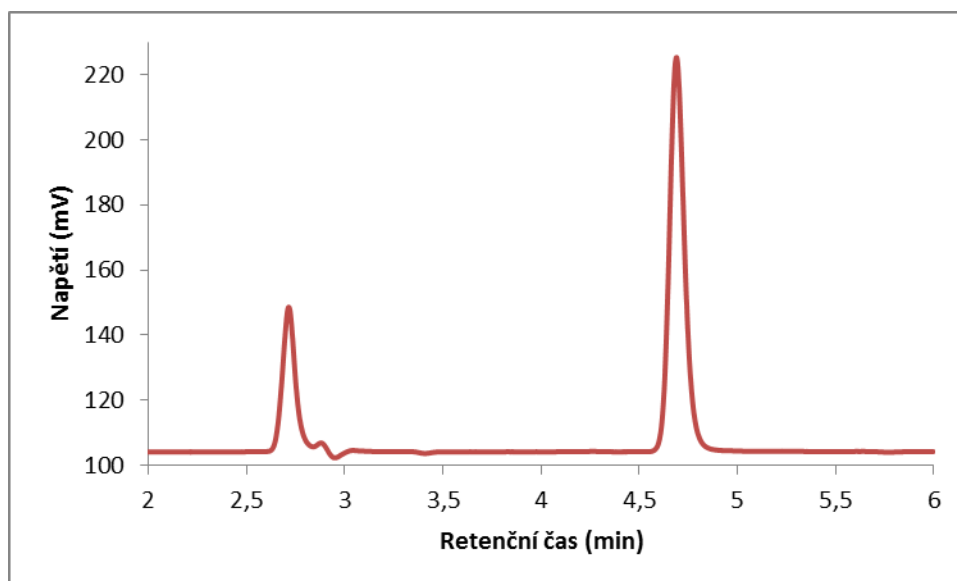
Retenční čas APS $R_t = 2,7$ min			Retenční čas AH $R_t = 4,7$ min		
Koncentrace APS [g/ml]	Plocha píku [mV.s]	APS	Koncentrace AH [g/ml]	Plocha píku [mV.s]	AH
0,0841	49,23 ± 1,10		0,00158	131,67 ± 1,33	
0,1682	94,63 ± 0,32		0,00316	290,00 ± 12,60	
0,4206	214,93 ± 3,73		0,00790	651,10 ± 8,09	
0,6730	349,03 ± 2,58		0,01260	976,40 ± 5,94	
0,8412	434,97 ± 6,16		0,01580	1281,77 ± 6,83	
1,1777	588,23 ± 3,88		0,02210	1663,90 ± 2,00	
1,6824	863,93 ± 4,65		0,03160	2493,10 ± 5,37	



Obrázek 29 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu APS



Obrázek 30 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu AH



Obrázek 31 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4206 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₂.

Z chromatogramu standardního roztoku uvedeného na *Obrázku 31* (koncentrace 0,4206 mg/ml APS a 0,0079 mg/ml AH) je patrná dobrá separace APS s retenčním časem 2,72 min a AH s retenčním časem 4,69 min. Chromatografické píky jsou symetrické a záznam je bez dalších šumů a nežádoucích vlivů. Dále se pokračovalo jako u MF₁ – viz kapitola 7.1.1.

Výpočtem byly z analyzovaných dat stanoveny následující regresní rovnice:

Regresní rovnice pro APS (viz Obrázek 29):

$$y = 504,7x + 7,231 \rightarrow x = \frac{y-7,231}{504,7} \cdot f$$

Regresní rovnice pro AH (viz Obrázek 30):

$$y = 78521x + 17,181 \rightarrow x = \frac{y-17,181}{78521} \cdot f$$

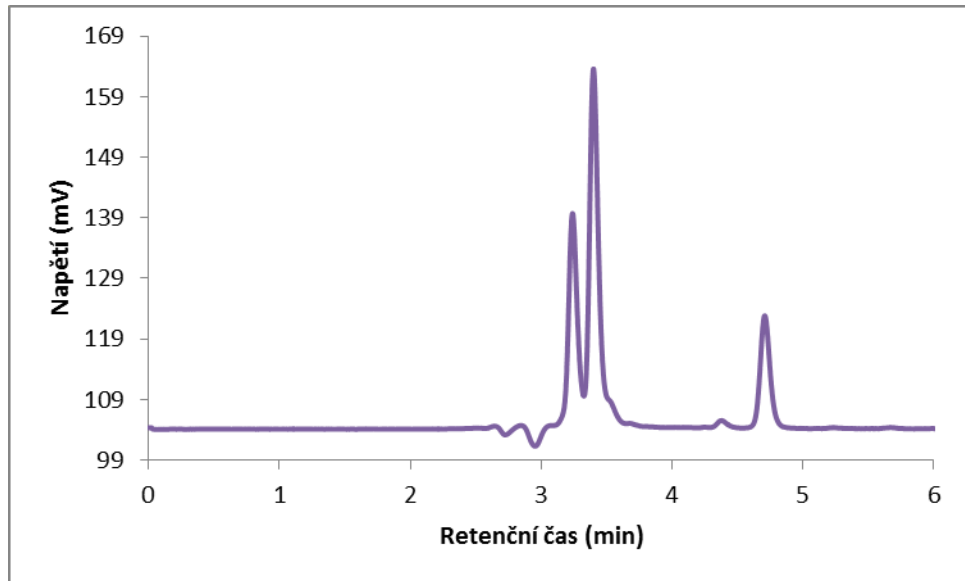
kde: y ... plocha odpovídajícího píku z chromatogramu [mV.s]

x ...hledaná koncentrace monomeru [mg/ml]

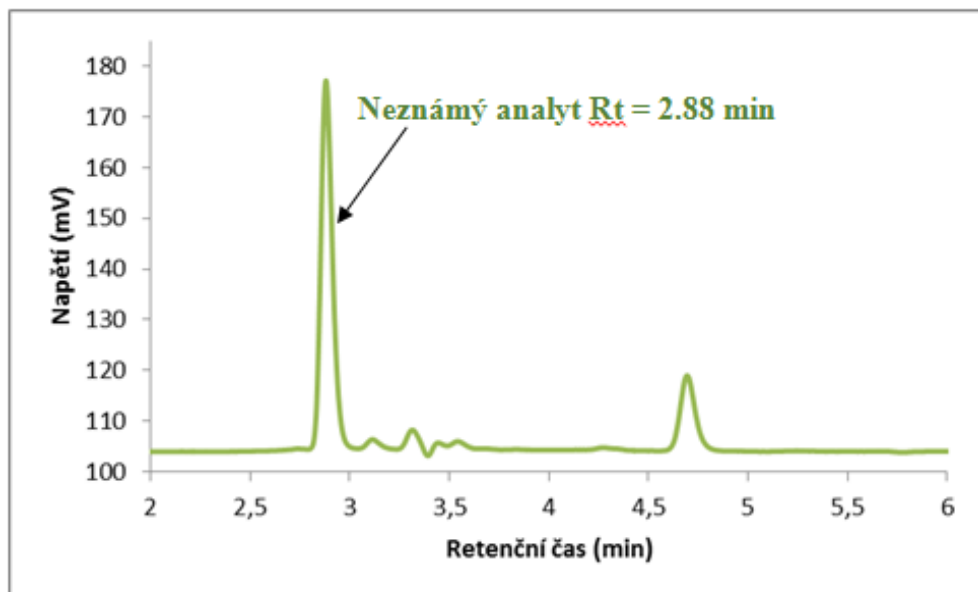
f ... faktor ředění [1]

- **Vzorky výluhů vzorků PANI připravených v přítomnosti různých dopovacích kyselin**

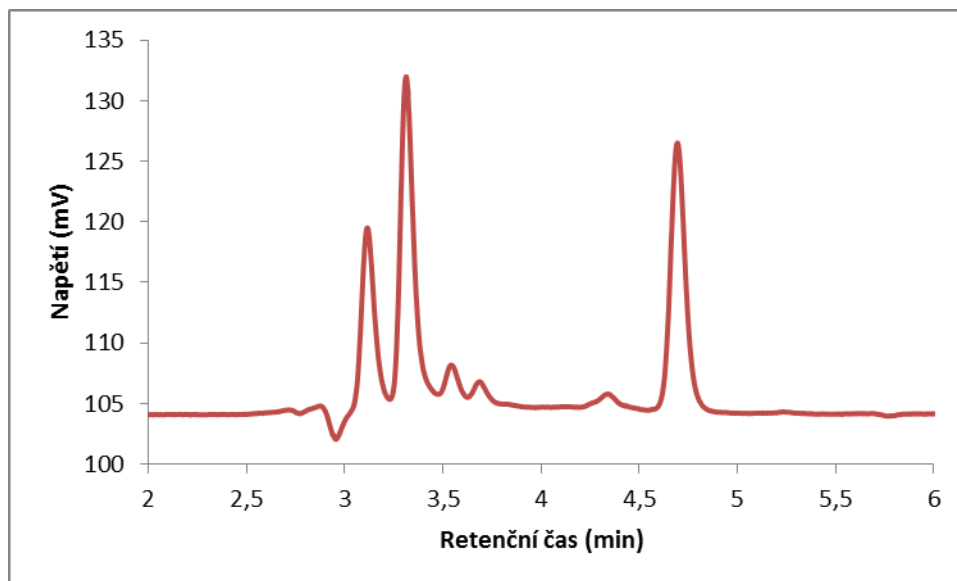
Příklady chromatogramů výluhů PANI_S, PANI_N a PANI_M jsou uvedeny na *Obrázku 32, 33, 34*. Z chromatogramů je patrné, že APS a AH byly dobře separovány i v reálných vzorcích. I zde byly, kromě sledovaných analytů, na chromatogramech přítomny další neidentifikované píky. Významný neznámý pík/analyt přítomný ve výluhu PANI_N, který se při analýze vzorku v MF₁ eluoval v retenčním čase cca 5,4 min změnil díky změně složení mobilní fáze významně svoji polohu a v této pufované mobilní fázi byl jeho retenční čas výrazně kratší, a to 2,88 min. K další změně došlo v retenci prvního píku, který by měl představovat APS. Oproti mobilní fázi MF₁ byly v oblasti retence APS zaznamenány dva eluční píky v těsné blízkosti, jeden s Rt = 3,10 min a druhý s Rt = 3,31 min. Tato skutečnost může být způsobena tzv. splitem píku – tzn., že APS (jedna sloučenina) se eluuje ve dvou pících, což je obvykle důsledkem ne zcela optimálních chromatografických podmínek. Další možností je, že se jedná o dvě rozdílné sloučeniny, které v MF₁ nebyly viditelné a po změně složení (a pH) došlo k jejich viditelné separaci. V *Tabulce 17* je jako koncentrace APS uveden součet koncentrací obou „rozdělených“ píků, i když v tuto chvíli není jasné, zda je tento přístup správný. Objasnění tohoto problému pak bude předmětem další práce.



Obrázek 32 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.



Obrázek 33 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.



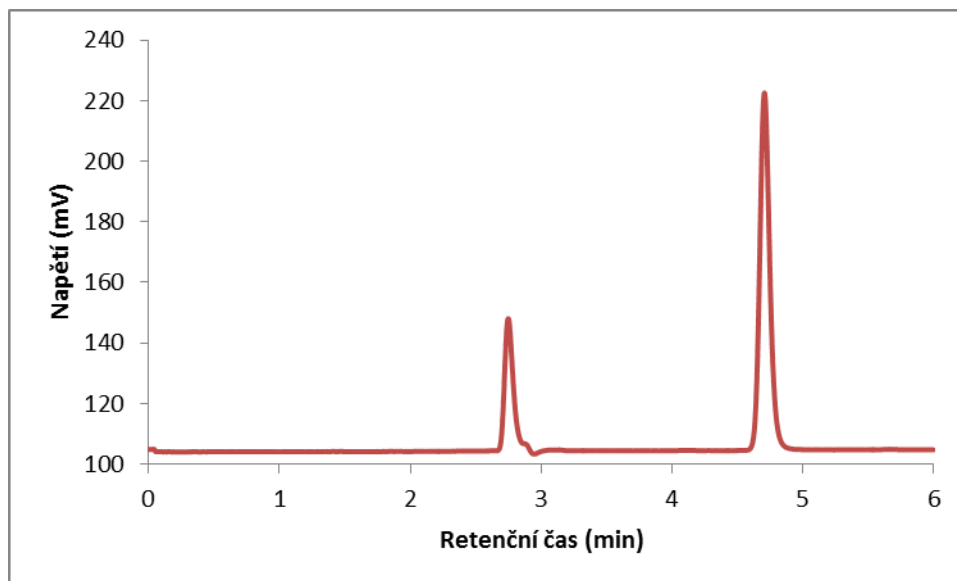
Obrázek 34 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.

Tabulka 17 – Koncentrace monomerů ve výluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₂.

Vzorek	Koncentrace APS [mg/ml]	Koncentrace AH [mg/ml]
PANI_S	221	0,44
PANI_M	164	0,51
PANI_P	0	0,02
PANI_N	13	0,32
PANI_CI	29	0,23

7.1.3 MF₃ (ACN : acetátový pufr (pH = 5))

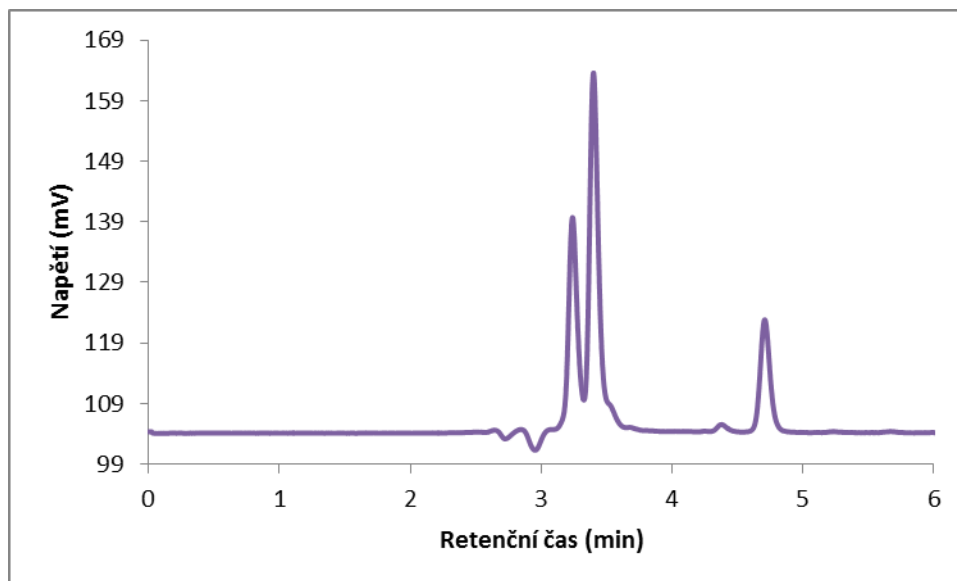
Jako poslední byla použita mobilní fáze MF₃ o složení ACN: acetátový pufr o pH = 5. V poměru 60 : 40. Tato mobilní fáze byla vybrána kvůli předpokladu, že by další změna pH mohla pomoci zlepšit separaci přítomných analytů. Mobilní fáze byla shledána jako vyhovující také a proto byla provedena analýza výluhů PANI. Analýzou kalibračního roztoku obsahujícího standard APS o koncentraci 0,4227 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml bylo zjištěno, že jejich retenční časy se shodují s retenčními časy zaznamenanými v MF₂. Z výsledků tedy vyplynulo, že pro stanovení může být použita kalibrační závislost z analýzy standardů v MF₂.



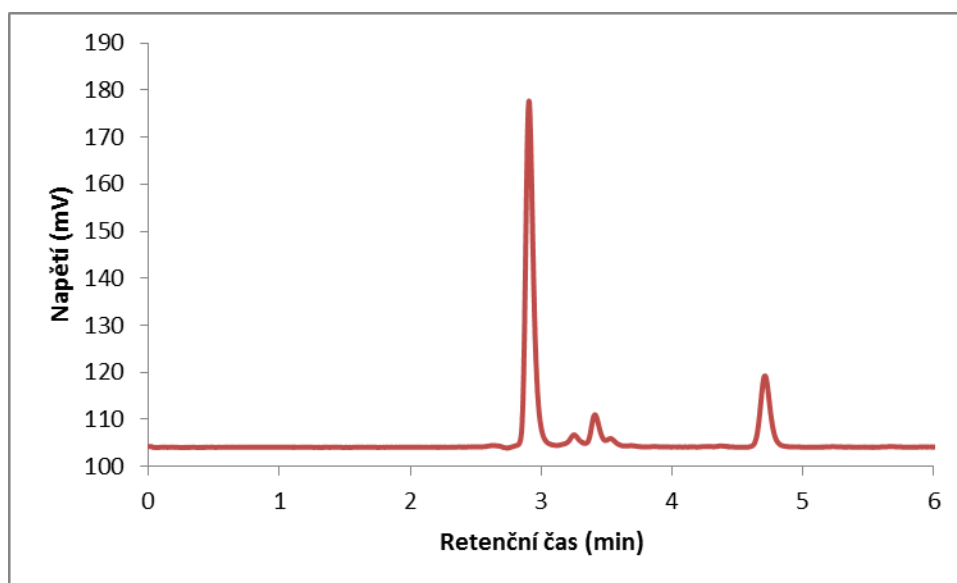
Obrázek 35 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4227 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₃.

- **Vzorky výluhů vzorků PANI připravených v přítomnosti různých dopovacích kyselin**

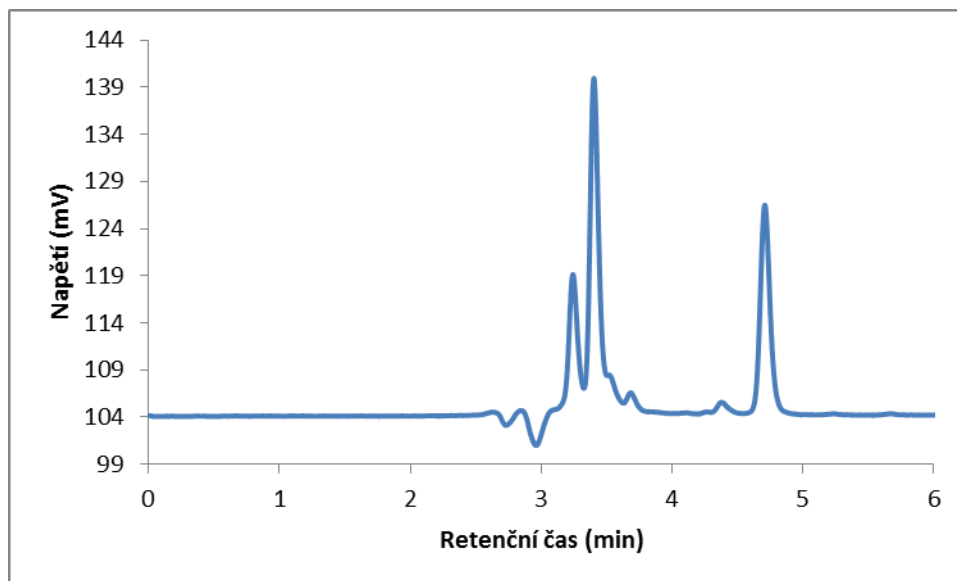
Příklady chromatogramů výluhů PANI_S, PANI_N a PANI_M jsou uvedeny na Obrázku 36, 37, 38. Z chromatogramů je patrné, že APS a AH byly rovněž dobře separovány i v reálných vzorcích. I zde byly kromě sledovaných analytů na chromatogramech přítomny i další neidentifikované píky. Situace však byla velmi podobná jako při analýza v mobilní fázi s pH = 4. Došlo jen k zanedbatelnému posunu v retenčních časech sledovaných analytů (viz Tabulka 18).



Obrázek 36 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.



Obrázek 37 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.



Obrázek 38 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.

Tabulka 18 – Koncentrace monomerů ve výluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₃

Vzorek	Koncentrace APS [mg/ml]	Koncentrace AH [mg/ml]
PANI_S	366	0,39
PANI_M	184	0,50
PANI_P	8	0,04
PANI_N	37	0,32
PANI_CI	55	0,22

7.2 Srovnání stanovení sledovaných analytů v jednotlivých mobilních fázích

Srovnání koncentrací zbytkových monomerů, přítomných v jednotlivých výluzích, které byly získány analýzou ve studovaných mobilních fázích je uvedeno v *Tabulce 19 a 20*. U MF₁ neobsahující pufr (složení viz kapitola 6.6) byla koncentrace obou monomerů ve výluzích PANI stanovena poměrně dobře a oba monomery představovaly majoritní podíl přítomných nečistot. Výjimkou byl výluh PANI_N (polymer připravený v přítomnosti kyseliny dusičné), kde byl v retenčním čase 5,4 min zaznamenán výskyt neznámého píku/analytu. Mohlo by se jednat například o hydrochinon či jinou látku, její přesná

identifikace však nebyla součástí této práce. Z důvodu kyselostí výluhů byla u MF₁ provedena i analýza neutralizovaných výluhů PANI, ale nedošlo k výraznějším změnám chromatografických veličin. Dále byla použitím MF₂ a MF₃ (složení viz kapitola 6.6) provedena analýza výluhů PANI v pufované mobilní fázi o různém pH. Analýza prokázala, že výsledky stanovení v MF₂ a MF₃ jsou obdobné. Pufry obecně zlepšují tvar píku, což potvrdila i představená metoda. Ve srovnání s MF₁ došlo u výluhu PANI_N analyzovaných v těchto mobilních fázích k dramatickému posunu neznámého píku/analytu (Rt = 2,88 min) a změně v oblasti eluce APS. V této souvislosti je třeba konstatovat, že pH mobilní fáze má vliv na UV spektra ionizovatelných analytů, a tedy ovlivňuje i detekci použitým UV detektorem. U anilinu klesá odezva při 235 nm s klesající hodnotou pH (anilin je více protonizován). Nejvyšší odezvu (a retenci) je tedy možno očekávat v mobilních fázích, kde anilin není protonizovaný.

Na základě představených výsledků je možno konstatovat, že koncentrace zbytkového anilin hydrochloridu v polyanilinu se lišila v závislosti na typu vzorku, resp. typu dopovací kyseliny, v jejichž přítomnosti byl polyanilin připraven. Nejvíce zbytkového AH bylo stanoveno v polyanilinu připraveném v přítomnosti kyseliny methansulfonové, nejméně pak v polymeru připraveném s kyselinou fosforečnou. Obdobný závěr lze učinit i v případě APS. I když stanovení APS není tak spolehlivé jako AH výsledky naznačují, že nejvíce zbytkového APS je obsaženo ve vzorku polyanilinu polymerovaného v přítomnosti kyseliny sírové a nejméně pak opět v polymeru připraveném s kyselinou fosforečnou.

Tabulka 19 – Srovnání koncentrací APS ve výluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC, při použití MF₁, MF₂ a MF₃

Vzorek	Koncentrace APS [mg/ml]			
	MF ₁	MF ₁ (neutralizované výluhy)	MF ₂	MF ₃
PANI_S	328	228	221	366
PANI_M	147	175	164	184
PANI_P	39	67	0	8
PANI_N	80	135	13	37
PANI_CI	89	138	29	55

Tabulka 20 – Srovnání koncentrací AH ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC, při použití MF₁, MF₂ a MF₃

Vzorek	Koncentrace AH [mg/ml]			
	MF ₁	MF ₁ (neutrali- zované výluhy)	MF ₂	MF ₃
PANI_S	0,37	0,39	0,44	0,39
PANI_M	0,53	0,55	0,51	0,50
PANI_P	0,13	0,11	0,02	0,04
PANI_N	0,48	0,45	0,32	0,32
PANI_CI	0,38	0,30	0,23	0,22

ZÁVĚR

Bakalářská práce byla zaměřena na stanovení zbytkových monomerů, anilin hydrochloridu a peroxodisíranu amonného ve výluzích vodivého polymeru polyanilinu, připraveného v přítomnosti různých dopovacích kyselin. K tomuto účelu byla použita HPLC. Vývoj metody pro tento účel je důležitý, neboť s její pomocí je možno sledovat zbytkové nečistoty, jejichž uvolňování může negativně ovlivňovat chování buněk, např. při *in vitro* testech cytotoxicity.

Z výsledků vyplývá, že navržená metoda je pro analýzu anilin hydrochloridu poměrně spolehlivá. Jednotlivé hodnoty koncentrací tohoto zbytkového monomeru, stanovené pro konkrétní vzorek v použitých mobilních fázích, se do určité míry liší. Pro analýzu by však primární volbou měla být pufrovaná mobilní fáze. V mobilní fázi obsahující pufr je zajištěno zachování stabilního pH ve vzorcích výluhů, kde jsou přítomny zbytkové dopovací kyseliny o různé síle.

Na rozdíl od anilin hydrochloridu není stanovení druhého z monomerů peroxodisíranu amonného, zcela uspokojujivé. Separace tohoto analytu se výrazně lišila v závislosti na použité mobilní fázi.

Ve vzorcích výluhů pak byly identifikovány i další neznámé analyty, jejichž množství nebylo významné s výjimkou vzorku PANI_N, připraveného v přítomnosti kyseliny dusičné. Zde byl zaznamenán neznámý pík, jehož retenční čas se významně měnil se složením mobilní fáze. Snaha o identifikaci tohoto píku srovnáním jeho retenčního času s retenčními časy dostupných standardů (převážně dimerů anilinu jako benzidin, phenazin, azobenzen) nebyla úspěšná. V pokračujících experimentech tedy budou testovány další možné přítomné nečistoty, např. benzochinon nebo hydrochinon.

V dalších krocích vývoje spolehlivé metody pro stanovení zbytkového peroxodisíranu amonného (případně dalších nečistot) je možno navrhnout následující postup. Z důvodů nespolehlivého stanovení APS metodou HPLC s detektorem UV by bylo vhodné jeho stanovení ověřit použitím jiného detektoru – např. ELSD detektor, který detekuje všechny analyty (i ty, které ve své molekule neobsahují UV chromofory). Další vhodnou alternativou by bylo použití některé ze spektroskopických metod, např. UV-VIS spektroskopie (Liang et al., 2008).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ABBRENT, GREENBAUM, 2013. *Recent progress in NMR spectroscopy of polymer electrolytes for lithium batteries* [online]. *Current Opinion in Colloid*. vol. 18, issue 3, s. 228-244, [cit. 2015-01-17]. DOI: 10.1016/j.cocis.2013.03.008. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029413000472>
- ALCOCK, STEPHENSON, 1996. *The Powder Injection Moulding Process* [online]. *Materials World*, [cit. 2015-02-23]. Dostupné z: [:http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=1080](http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=1080) .
- ANTUSCH et al., 2013. *A new fully automatic PIM tool to replicate two component tungsten DEMO divertor parts* [online]. *Fusion Engineering and Design*. vol. 88, 9-10, s. 2461-2465, [cit. 2015-02-23]. DOI: 10.4271/951885. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S0920379613004171/1-s2.0-S0920379613004171-main.pdf?_tid=cbae613a-b305-11e4-9671-00000aacb35f&acdnat=1423780000_85eb4bf6c8c92efe9a1d322de2ef227c
- BASU, NATH, 2009. *Fundamentals of Biomaterials and Biocompatibility, in Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing, and Applications* (eds B. Basu, D. S. Katti and A. Kumar), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, [cit. 2015-02-23]. doi: 10.1002/9780470891315.ch1
- BERNARD et al., 2014. *Analytical methods for the determination of DEHP plasticizer alternatives present in medical devices* [online]. *A review. Talanta* [online]. vol. 129, s. 39-54. [cit. 2015-03-30] DOI: 10.1016/j.talanta.2014.04.069. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914014003476>
- BERNARD et al., 2015. *Migrability of PVC plasticizers from medical devices into a simulant of infused solutions* [online]. *International Journal of Pharmaceutics*. vol. 485, 1-2, s. 341-347, [cit. 2015-04-19] DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.030. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037851731500246X>
- BINYAMIN, SHAFI, MERY, 2006. *Biomaterials: A primer for surgeons. Seminars in Pediatric Surgery* [online]. vol. 15, issue 4, s. 276-283, [cit. 2014-9-13]. DOI:10.1053/j.sempedsurg.2006.07.007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055858606000552>
- BLACK, 2006. *Biological performance of materials: fundamentals of biocompatibility*. 4th ed. Boca Raton: CRC Taylor & Francis, 497 s. ISBN 0-8493-3959-6.

- BOUTRAND, 2012. *Biocompatibility and performance of medical devices*. 1st pub. Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, xxiii, 518 s. ISBN 978-0-85709-070-6.
- BUCHBERGER, STIFTINGER, 2011. *Analysis of Polymer Additives and Impurities by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry and Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry*. [online]. s. 39, [cit. 2015-02-28]. DOI: 10.1007/12_2011_147. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/12_2011_147
- CENIA, česká informační agentura životního prostředí [online]. [cit. 2015-01-15]. Dostupné z: <http://www.cenia.cz>; [http://www.cenia.cz/web/www/web-pub2.nsf/\\$pid/CENMSFQ9QLZY/\\$FILE/hlava%20I-7.pdf](http://www.cenia.cz/web/www/web-pub2.nsf/$pid/CENMSFQ9QLZY/$FILE/hlava%20I-7.pdf)
- DOUŠA, 2013. HPLC.CZ. [online] [cit. 2015-04-04]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/>
- DUCHÁČEK, 1995. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická.
- FURTH et al., 2007. *Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine*. *Biomaterials*. 2007, vol. 28, issue 34, s. 457-467. DOI: 10.1007/978-3-540-77755-7_34.
- GOONOO et al., 2013. *An assessment of biopolymer- and synthetic polymer-based scaffolds for bone and vascular tissue engineering*. *Polym. Int.*, 62: 523–533. doi: 10.1002/pi.4474
- GUIMARD et al., 2007. *Conducting polymers in biomedical engineering*. *Progress in Polymer Science* [online]. vol. 32, 8-9, s. 876-921, [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670011000578>
- GUNEY et al., 2013. *Surface Modification of Polymeric Biomaterials: A primer for surgeons*. *Biomaterials Surface Science* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, vol. 15, issue 4, s. 89, [cit. 2014-11-10]. DOI: 10.1002/9783527649600.ch5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055858606000552>
- HARTWIG, 2015. *Engineering for safety assurance in MRI: analytical, numerical and experimental dosimetry*. *Magnetic Resonance Imaging*. 33(5): 681-689. DOI: 10.1016/j.mri.2015.02.001. ISSN 0730725x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0730725X15000405>

- HONZÍK, 2004. *Plasty se zkrácenou životností a způsoby jejich degradace* [online]. Biom.cz, [cit. 2015-02-12]. ISSN: 1801-2655. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/plasty-se-zkracenou-zivotnosti-a-zpusoby-jejich-degradace>>.
<http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=154~2F2004&rpp=15#seznam>
- HUMPOLÍČEK et al., 2012. *Proliferace buněk na vodivém polymeru, polyanilinu* [online]. Chemické listy vol. 106, iss. 5, s. 380-383, [cit. 2015-03-11]. ISSN 0009-2770. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_05_380-383.pdf.
- HUMPOLÍČEK, KAŠPÁRKOVÁ, SÁHA, STEJSKAL, 2012. *Biocompatibility of polyaniline* [online]. Synthetic Metals. vol. 162, 7-8, s. 722-727, [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1016/j.synthmet.2012.02.024. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379677912000781>
- CHECOT-MOINARD, RIGOLLET, LOURDIN, 2011. *Powder injection moulding PIM of feedstock based on hydrosoluble binder and submicronic powder to manufacture parts having micro-details*. Powder Technology. vol. 208, issue 2, s. 472-479. DOI: 10.1016/j.powtec.2010.08.045.
- CHIOU, EPSTEIN, 2005. *Polyaniline Nanofibers Prepared by Dilute Polymerization*. Advanced Materials [online]. vol. 17, issue 13, [cit. 2015-03-13]. DOI: 10.1002/adma.200401000. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200401000>
- JANČÁŘ, 2003. *Úvod do materiálového inženýrství polymerních kompozitů*. Vyd. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
- JAROW, BAXLEY, 2014. *Medical devices: US medical device regulation. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* [online]. [cit. 2015-01-21]. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.10.004. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S1078143914003457/1-s2.0-S1078143914003457-main.pdf?_tid=3cda1c8e-a175-11e4-bee6-00000aacb35f&acdnat=1421848743_3aa46fb931310da731ec2a3514a0af6e
- KLOUDA, 2003. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

- KOUTSKÝ, 1997. *Biomateriály*. Vyd. 1. Plzeň: Západočeská univerzita, Strojní fakulta, 72 s. ISBN 8070823704.
- KROISOVÁ, 2009. *Biodegradovatelné polymery - úvod do problematiky*. Vyd. 1. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 78 s. ISBN 978-80-7372-468-9.
- KUČEKOVÁ et al., 2014. *Colloidal polyaniline dispersions: Antibacterial activity, cytotoxicity and neutrophil oxidative burst* [online]. *Colloids and Surfaces B: Bio-interfaces*. vol. 116, s. 411-417, [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.01.027. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776514000289>
- KUČERA, 2003. *Vznik makromolekul I.: obecné poznatky o zákonitostech tvorby polymerů*. Vyd. 1. Brno: VUTIUM, 172 s. ISBN 8021421274.
- LAPČÍK, RAAB, 2004. *Nauka o materiálech II*. Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati.
- LEE, HENTHORN, 2012. *Materials in biology and medicine*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, xiv, 246 s. ISBN 978-1-4398-8169-9.
- LIANG et al., 2008. *A rapid spectrophotometric determination of persulfate anion in ISCO* [online]. *Chemosphere*.73(9): 1540-1543, [cit. 2015-05-20] DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.08.043. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565350801093X>
- LI et al., 2015. *Effect of the cooling medium temperature on the thermal shock resistance of ceramic materials*. *Materials Letters* [online]. vol. 138, s. 216-218, [cit. 2014-11-10]. DOI: 10.1016/j.matlet.2014.09.137. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X14017911>
- LONG et al., 2011. *Recent advances in synthesis, physical properties and applications of conducting polymer nanotubes and nanofibers*. *Progress in Polymer Science* [online]. vol. 36, issue 10, s. 1415-1442, [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.04.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670011000578>
- LU et al., 2011, *One-dimensional conducting polymer nanocomposites: Synthesis, properties and applications* [online]. *Progress in Polymer Science* 2011, vol. 36, issue 5, s. 671-712, [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.07.010. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670010000754>

- MAŇOUŠEK, 2013. *Toxoalergické puzzle – klinické projevy toxicity a alergie na kovy*. [online], [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2013/03/09.pdf>
- MARTENS et al., 2008. *Characterisation of Redox Initiators for Producing Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels*. Macromolecular Symposia [online]. roč. 266, č. 1, s. 59-62, [cit. 2015-03-11]. ISSN 10221360. DOI: 10.1002/masy.200850611.
- MILATA, SEGLA, 2004. *Spektrálne metódy v chémii*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 2004, 327 s. ISBN 8022720496.
- MLEZIVA, 1986. *Základy makromolekulární chemie*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 380 s.
- MOLITOR, KALINOVÁ, MĚŠŤÁK, 2013. *Prsní implantáty - bezpečnost a zdravotní rizika*. Breast cancer news [online]. roč. 3, č. 1, s. 32-35, [cit. 2015-03-29]. Dostupné z: https://www.mojemedicina.cz/files/leciva/jine-soubory/herceptin/bcn_2013_01/08.pdf
- NAIK, STONE, 2005. *Integrating biomimetics*. Materials Today [online]. vol. 8, issue 9, [cit. 2015-01-21]. DOI: 10.1016/s1369-7021(05)71077-4. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S1369702105710774/1-s2.0-S1369702105710774-main.pdf?_tid=200e2900-a180-11e4-b0ea-00000aab0f26&acdnat=1421853419_c09a846f49ff967a7b1ca5e893de3739
- *Nariadení vlády č. 154/2004 Sb.*, kterým se stanoví technické požadavky na aktivní implantabilní zdravotnické prostředky [online] [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=336~2F2004&rpp=15#seznam>
- *Nariadení vlády č. 336/2004 Sb.*, kterým se stanoví technické požadavky na zdravotnické prostředky [online], [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=336~2F2004&rpp=15#seznam>
- *Nariadení vlády č. 342/2000 Sb.*, kterým se stanoví zdravotnické prostředky, které mohou ohrozit člověka [online], [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=342~2F2000&rpp=15#seznam>

- NAVRÁTILOVÁ, 2012. *Mikrostruktura, její stabilita a únavové vlastnosti ultra-jemnozrnné mědi připravené metodou ECAP* [online]. Brno, [cit. 2014-11-07]. Dostupné z: http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=60320. Doktorská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce prof. RNDr. LUDVÍK KUNZ, CSc., dr. h. c.
- NOVÁKOVÁ, DOUŠA, 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2 sv. (299, 235 s.). ISBN 978-80-260-4243-31.
- OTA et al., 2008. *A novel highly articulated robotic surgical system for epicardial ablation*. 2008 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. DOI: 10.1109/iembs.2008.4649137.
- PALMISANO, PETTIGREW, 1992. *Biodegradability of Plastics – Consistent methods for testing claims of biodegradability need to be developed*, Bioscience, Vol. 42, No. 9; pg. 680-685.
- PARK, LAKES, 2007. *Biomaterials: an introduction*. 3rd ed. New York: Springer, xi, 561 s.
- PENTA, 2010. *Bezpečnostní list Peroxodisíran amonný* [online]. [cit. 2015-03-11]. LACH-NER, Dostupné z: http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/p/bezplist_172.pdf
- PENTA, 2011. *Bezpečnostní list Anilin hydrochlorid* [online]. [cit. 2015-03-11]. LACH-NER, Dostupné z: http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/a/bezplist_379.pdf
- PROKEŠ, STEJSKAL, OMASTOVÁ, 2001. *Polyanilin a polypyrrol-dva představitelé vodivých polymerů*. Chemické listy [online]. Č. 95, s. 484-492, [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/08-PDF/484-492.pdf>
- PROKOPOVÁ, 2004. *Makromolekulární chemie*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 207 s. ISBN 8070805544.

- RADANIEL et al., 2014. *Quantification of five plasticizers used in PVC tubing through high performance liquid chromatographic-UV detection*. Journal of Chromatography B. vol. 965, s. 158-163. DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.06.027. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023214004450>
- RAMALINGAM et al., 2012. *Biomaterials and stem cells in regenerative medicine*. Boca Raton, FL: CRC, xviii, 546 s. ISBN 978-1-4398-7925-2.
- RATNER, 2013. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, xxii, 1519 s. ISBN 978-0-12-374626-9.
- RIZZI et al., 2015. *Biomimetics of underwater hair cell sensing*. Microelectronic Engineering [online]. vol. 132, s. 90-97, [cit. 2015-01-21]. DOI: 10.1016/j.mee.2014.10.011. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S0167931714004432/1-s2.0-S0167931714004432-main.pdf?_tid=bbb97490-a17b-11e4-a87f-00000aacb35f&acdnat=1421851533_b3094328aca44b89c062324d94264aab
- RYBNIKÁŘ, 2000. *Makromolekulární chemie*. 1. vyd. Zlín: FT VUT, 105 s. ISBN 8021415568.
- SEDLAŘÍK, 2011. *Studijní opory k přednáškám z předmětu Polymery a životní prostředí* [online]. Zlín, [cit. 2015-01-15]. Dostupné z: www.utb.cz/file/43649_1_1/
- SHI, 2004. *Biomaterials and tissue engineering*. 1st ed. Berlin: Springer, xi, 246 s. ISBN 3-540-22203-0.
- SCHNABEL, 1981. *Polymer Degradation: Principles and Practical Applications*. Berlin: Akademie Verlag, 227 s.
- SIGNORIN et al., 2001. *13-week inhalation toxicity study (including 6- and 13-week recovery periods) with ammonium persulphate dust in albino rats*. Inhalation Toxicology [online]. roč. 13, č. 11, s. 1033-1045, [cit. 2015-03-11]. ISSN 0895-8378. DOI: 10.1080/089583701753210399. Dostupné z: http://www.unboundmedicine.com/medline/citation/11696872/13_week_inhalation_toxicity_study_including_6_and_13_week_recovery_periods_with_ammonium_persulfate_dust_in_albino_rats_

- STEJSKAL, 2006. *Polyanilin: vodivý polymer* [online]. Sborník. Praha: Akademie věd ČR, 2006, s. 173-182. [cit. 2015-03-11] ISBN 80-86675-08-4. [Praktické kurzy z fyziky a chemie: Otevřená věda, Nové Hrady, 06.08.2006-25.08.2006, CZ]. Dostupné z: <http://archiv.otevrena-veda.cz/users/Image/default/C1Kurzy/NH2006pdf/16.pdf>
- STEJSKAL, GILBERT, 2002. *Polyaniline. Preparation of a conducting polymer* [online]. (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 74(5), [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1351/pac200274050857. ISSN 1365-3075. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/pac.2002.74.issue-5/pac200274050857/pac200274050857.xml>
- STEJSKAL, SAPURINA, 2005. *Polyaniline: Thin films and colloidal dispersions* [online]. (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 77(5), [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1351/pac200577050815.
- ŠŇUPÁREK, 2014. *Makromolekulární chemie: úvod do chemie a technologie polymerů*. Vyd. 3., dopl. a upr. Pardubice: Univerzita Pardubice. 187 s. ISBN 978-80-7395-761-2.
- VONDRÁČEK, 2012. *Biodiversita - definice a vysvětlení základních pojmů*. Chemické listy [online], s. 246-252, [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_04_246-252.pdf
- WILKINSON, HEARN, STEWARD, 1999. *The cleaning of polymer colloids* [online]. Advances in Colloid and Interface Science vol. 81, issue 2, s. 77-165, [cit. 2015-04-19]. DOI: 10.1016/S0001-8686(98)00084-0. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868698000840>
- WILKINSON, LAMB, 1999. *The Potential Health Effects of Phthalate Esters in Children's Toys: A Review and Risk Assessment* [online]. Regulatory Toxicology and Pharmacology. vol. 30, issue 2, s. 140-155, [cit. 2015-05-01]. DOI: 10.1006/rtp.1999.1338. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S0273230099913387/1-s2.0-S0273230099913387-main.pdf?_tid=788b0724-e6c2-11e4-ac8b-00000aab0f26&acdnat=1429468544_eb8cb02b5215458d9d2c08a6584df75f

- WILLIAMS et al., 2008. *On the mechanisms of biocompatibility: A primer for surgeons*. Biomaterials [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, vol. 29, issue 20, s. 89, [cit. 2014-9-14]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.023. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9783527649600.ch5>
- WILLIAMS et al., 2009. *On the nature of biomaterials: A primer for surgeons*. Biomaterials [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, vol. 30, issue 30, s. 5897-5909, [cit. 2014-9-14]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.07.027. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961208002676>
- WONG, BRONZINO, 2007. *Biomaterials* [online]. Boca Raton, FL: CRC press, [cit. 2014-11-10]. ISBN 0849378885 Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2013/03/09.pdf>
- *Zákon č. 123/2000 Sb.*, o zdravotnických prostředcích a o změně některých souvisejících zákonů. [online] [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=123~2F2000&rpp=15#seznam>
- ZEMKO et al., 2009. *Sborník konference: Nanocon 2009* [online] 1. vyd. Ostrava: TANGER, s. 36., [cit. 2014-11-10]. ISBN 978-80-87294-12-3. Dostupné z: <http://www.csnmt.cz/getfile.php?type=file&IDfile=87>
- ZHANG, 2015. *Switchable and responsive surfaces and materials for biomedical applications*. Cambridge, ISBN 978-085-7097-132.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EQUAM	European Committee on Quality Assurance & Medical Devices in Plastic Surgery.
PET	Polyethylentereftalát
RGD	Arginin-glycin-asparagová kyseliny
SPD	Serve Plastic Deformation
HAP	Hydroxyapatit
PIM	Powder injection molding
PP	Polypropylen
PE	Polyethylen
PS	Polystyren
PES	Polyester
PVC	Polyvinylchlorid
PMMA	Polymethylmetakrylát
PU	Polyurethan
PTFE	Polytetrafluorethylen
MF	Mobilní fáze
DMSO	Dimethylsulfoxid
DEHT	Di(2-ethylhexyl) ftalát
DINP	Diisonyl ftalát
DINCH	Di-isonyl-1,2-cyklohexandikarboxylát
DEHA	Bis(2-ethylhexyl) adipát
TGA	Termogravimetrie
DSC	Diferenční kompenzační kalorimetrie
NMR	Nukleární magnetická rezonance

IR spektroskopie	Infračervená spektroskopie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ACN	Acetonitril
APS	Amonium persulfát (peroxodisíran amonný)
AH	Anilin hydrochlorid
PANI	Polyanilin
MF	Mobilní fáze
HAP	Hydroxyapatit

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 – Trojúhelníkové schéma znázorňující multidisciplinární přístup k biomateriálům a interakci jednotlivých vědních oborů (Upraveno podle: Black, 2006).....</i>	<i>14</i>
<i>Obrázek 2 – a) Bioprostetická chlopeň b) Intravaskulární stent (převzato z: Williams et al., 2009).....</i>	<i>16</i>
<i>Obrázek 3 – Degradovatelný steh pro uzavření rány – vlákna se smršťují se zvyšující se teplotou zleva doprava při: 20 °C, 37 °C, 41 °C (Převzato ze: Zhang, 2015)</i>	<i>18</i>
<i>Obrázek 4 – Cardio-ARM – hadí robot (převzato z: Ota et al., 2008).....</i>	<i>19</i>
<i>Obrázek 5 – Princip PIM technologie (převzato a upraveno podle: Alcock, Stephenson, 1996)</i>	<i>24</i>
<i>Obrázek 6 – rozdíl mezi strukturní a stavební jednotkou (upraveno podle:</i>	<i>25</i>
<i>Obrázek 7 – Obecné schéma kapalinového chromatografu (převzato z: Nováková, Douša, 2003)</i>	<i>37</i>
<i>Obrázek 8 – UV spektra naměřená pro kyselinu askorbovou v roztocích o různém pH (převzato z: Nováková, Douša, 2003)</i>	<i>38</i>
<i>Obrázek 9 – Polymerizační reakce (převzato z: (Milata, Segla, 2004).....</i>	<i>39</i>
<i>Obrázek 10 – struktura polyanilinu (převzato z: Lu et al. 2011).....</i>	<i>41</i>
<i>Obrázek 11 – Strukturní vzorec AH (vytvořeno v programu ACD/ChemSketch 12.0)</i>	<i>42</i>
<i>Obrázek 12 – Strukturní vzorec APS (vytvořeno v programu ACD/ChemSketch 12.0).....</i>	<i>42</i>
<i>Obrázek 13 – Formy PANI (převzato z: Stejskal, 2006).....</i>	<i>44</i>
<i>Obrázek 14 – Příklady vodivých polymerů (převzato z: Stejskal, 2006)</i>	<i>45</i>
<i>Obrázek 15 – Měrná elektrická vodivost vybraných látek (převzato z: Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001)</i>	<i>46</i>
<i>Obrázek 16 – PANI nanotrubky (převzato z Chiou, Epstein, 2005)</i>	<i>47</i>
<i>Obrázek 17 – Morfologie rostoucích buněk na filmu (PANI báze) (převzato z: Humpolíček et al., 2012)</i>	<i>48</i>
<i>Obrázek 18 – Schéma amperometrického biosenzoru (převzato z Guimard, 2007).....</i>	<i>49</i>
<i>Obrázek 19 – kapalinový chromatograf</i>	<i>52</i>
<i>Obrázek 20 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu APS</i>	<i>59</i>
<i>Obrázek 21 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci AH</i>	<i>59</i>

<i>Obrázek 22 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4211 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₁.</i>	60
<i>Obrázek 23 – Chromatogram výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	62
<i>Obrázek 24 – Chromatogram výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	62
<i>Obrázek 25 – Chromatogram výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	63
<i>Obrázek 26 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	64
<i>Obrázek 27 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	64
<i>Obrázek 28 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₁.</i>	65
<i>Obrázek 29 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu APS</i>	66
<i>Obrázek 30 – Kalibrační graf závislosti plochy píku na koncentraci standardu AH</i>	67
<i>Obrázek 31 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4206 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₂.</i>	67
<i>Obrázek 32 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.</i>	69
<i>Obrázek 33 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.</i>	69
<i>Obrázek 34 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₂.</i>	70
<i>Obrázek 35 – Příklad chromatogramu kalibračního roztoku obsahujícího APS o koncentraci 0,4227 mg/ml a AH 0,0079 mg/ml AH. Stanoveno v MF₃.</i>	71
<i>Obrázek 36 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_S. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.</i>	72
<i>Obrázek 37 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_N. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.</i>	72
<i>Obrázek 38 – Chromatogram neutralizovaného výluhu PANI_M. Stanoveno v Mobilní fázi MF₃.</i>	73

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 – Konkrétní aplikace biomateriálů (upraveno podle: Ratner, 2013)</i>	15
<i>Tabulka 2 – Příklady polymerů vyráběných polykondenzací (Upraveno podle Kučera, 2003).....</i>	27
<i>Tabulka 3 – Souhrn konkrétních aplikací polymerů (upraveno podle: Wong, Bronzino, 2007).....</i>	30
<i>Tabulka 4 – Příklady nečistot v polymerních koloidech (Upraveno podle Wilkinson, Hearn, Steward, 1999)</i>	34
<i>Tabulka 5 – používané změkčovadla v medicínských prostředcích (Upraveno podle: Bernard et al., 2014)</i>	35
<i>Tabulka 6 – typy IR záření (Milata, Segl'a, 2004)</i>	40
<i>Tabulka 7 – Vybrané vlastnosti AH (upraveno podle: PENTA, 2011)</i>	41
<i>Tabulka 8 – Vybrané vlastnosti APS (Upraveno podle: PENTA, 2010).....</i>	42
<i>Tabulka 9 – Vzorky PANI připravené v přítomnosti různých dopovacích kyselin</i>	53
<i>Tabulka 10 – Použité chemikálie</i>	54
<i>Tabulka 11 – Použité standardy</i>	54
<i>Tabulka 12 – Složení použitých MF.....</i>	55
<i>Tabulka 13 – Data použitá pro sestrojení kalibračních závislostí pro stanovení anilin hydrochloridu (AH) a peroxodisíranu amonného (APS). Mobilní fáze MF₁.....</i>	58
<i>Tabulka 14 – Koncentrace monomerů ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₁.....</i>	63
<i>Tabulka 15 – Koncentrace monomerů v neutralizovaných vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₁</i>	65
<i>Tabulka 16 – Data použitá pro sestrojení kalibračních závislostí pro stanovení anilin hydrochloridu (AH) a peroxodisíranu amonného (APS). Mobilní fáze MF₂.....</i>	66
<i>Tabulka 17 – Koncentrace monomerů ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₂.....</i>	70
<i>Tabulka 18 – Koncentrace monomerů ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC při použití MF₃.....</i>	73

<i>Tabulka 19 – Srovnání koncentrací APS ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC, při použití MF₁, MF₂ a MF₃.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabulka 20 – Srovnání koncentrací AH ve vyluzích vzorků PANI připravených v přítomnosti uvedených dopovacích kyselin, stanovené HPLC, při použití MF₁, MF₂ a MF₃.....</i>	<i>75</i>