

SEMIKVANTITATIVNÍ STANOVENÍ POLYVINYLPIRROLIDONU

Zuzana Slováková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana SLOVÁKOVÁ**
Osobní číslo: **T09728**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Semikvantitativní stanovení polyvinylpyrrolidonu**

Zásady pro vypracování:

- 1. Provedte literární studii z dostupných materiálů.**
- 2. Zaměřte se především na stanovení pomocí ITP respektive CZE. Rešeršní část doplňte i o stanovení pomocí CE.**
- 3. Odzkoušejte ITP respektive CZE stanovení PVP v komplexu s diazobarvivou.**
- 4. Získaná data seřadte a zpracujte v písemné podobě jak je obvyklé v bakalářské práci (viz instrukce UTB pro vypracování BP), tak v prezentaci (PowerPoint).**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Dle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Stávající monografická a časopisecká literatura na ÚIOŽP, UK UTB a jiných knihovnách.
Elektronické informační zdroje (www stránky, databáze Web of Science a další).

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Josef Houser, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

8. února 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

24. května 2013

Ve Zlíně dne 8. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Zuzana Slovákova

Obor: Inženýrství ochrany životního prostředí

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 14. 5. 2023

..... Zuzana Slovákova

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, užijeli 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 vzdělávacího 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 užít 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 výtěžku 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 přihlédne k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá semikvantitativním stanovením polyvinylpyrrolidonu. V teoretické části se nachází stručná charakteristika polyvinylpyrrolidonu a metod, jimiž byl polyvinylpyrrolidon stanovován. Praktická část bakalářské práce se zabývá nalezením podmínek pro separaci a stanovení polyvinylpyrrolidonu kapilární zónovou elektroforézou a izotachoforézou. Byla použita také metoda absorpce záření – molekulová absorpční spektrometrie.

Klíčová slova: polyvinylpyrrolidon, PVP, stanovení, kapilární zónová elektroforéza, izotachoforéza.

ABSTRACT

This work deals with the semi-quantitative determination of polyvinylpyrrolidone. The theoretical part is a brief characterization of polyvinylpyrrolidone and the methods by which the polyvinyl determined. The practical part of the thesis deals with finding conditions for the separation and determination of polyvinylpyrrolidone capillary zone electrophoresis and isotachophoresis. She also used the method of absorption of radiation - Molecular absorption spectrophotometry.

Keywords: polyvinylpyrrolidone, PVP, determination, capillary zone electrophoresis, isotachophoresis.

Za velkou podporu během studia a pomoc bych, chtěla poděkovat celé mé rodině.

Dále bych především chtěla poděkovat za velkou pomoc mému vedoucímu bakalářské práce, panu Ing. Josefovi Houserovi, Ph.D. za cenné rady, ale také za čas, který mi při měření a diskuzích věnoval.

Poděkování patří také firmě Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko, za zapůjčení dávkovacího kohoutu a detektoru.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 POLYVINYLPIRROLIDON	13
1.1 OBECNÝ POPIS.....	13
1.1.1 Vlastnosti	14
1.2 VÝROBA	15
1.3 POUŽITÍ	16
1.3.1 Potravinářský průmysl	16
1.3.2 Farmaceutický průmysl.....	16
1.3.3 Chemický průmysl.....	16
1.3.4 Technický průmysl	17
1.3.5 Zemědělství.....	17
1.3.6 Spotřební a kosmetický průmysl.....	17
1.4 TOXICITA.....	18
2 METODY STANOVENÍ POLYVINYLPIRROLIDONU	20
2.1 KAPILÁRNÍ ZÓNOVÁ ELEKTROFORÉZA.....	20
2.1.1 Princip metody	20
2.1.2 Využití metody	20
2.2 KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA	20
2.2.1 Princip metody	20
2.2.2 Využití metody	21
2.3 IZOTACHOFORÉZA	21
2.3.1 Princip metody	21
2.3.2 Využití metody.....	21
2.4 MOLEKULOVÁ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE	22
2.4.1 Princip metody	22
2.5 METODA STANOVENÍ PVP POMOCÍ AZOBARVIVA.....	22
3 CÍL PRÁCE.....	23
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	24
4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE, CHEMIKÁLIE	25
4.1 PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ.....	25
4.2 CHEMIKÁLIE	26
4.3 ROZTOKY A JEJICH PŘÍPRAVA.....	28
5 POPIS ZPRACOVÁNÍ PŘI MĚŘENÍ	31

5.1	MOLEKULOVÁ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE	31
5.2	KAPILÁRNÍ ZÓNOVÁ ELEKTROFORÉZA	31
5.3	IZOTACHOFORÉZA	31
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	32
	ZÁVĚR	39
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	43
	SEZNAM OBRÁZKŮ	44
	SEZNAM TABULEK	45

ÚVOD

Polyvinylpyrrolidon PVP (povidon, polyvidon, PNVP, E1201) má mnoho vlastností, které jsou způsobeny jeho širokým rozmezím molekulových hmotností. Používá se v mnoha odvětvích průmyslu. Od chemického až po potravinářský. Přesný osud PVP není dosud zcela znám. Stanovení lze realizovat například gelovou chromatografií nebo spektrometricky s jodem, avšak toto stanovení v některých případech selhávají. Proto byla snaha nalézt podmínky pro stanovení PVP pomocí izotachoforézy či kapilární zónové elektroforézy, což by mohlo vést ke sledování osudu PVP například na čistírnách odpadních vod.

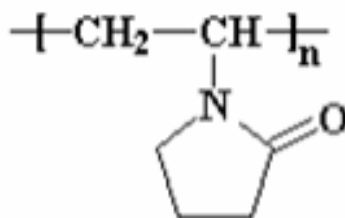
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYVINYLPYRROLIDON

Polyvinylpyrrolidon zkráceně PVP. Vyskytuje se také pod jinými názvy např. povidon, polyvidon, PNVP, E1201.

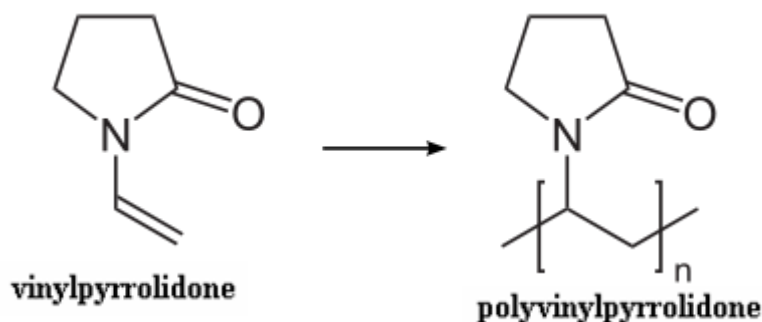
1.1 Obecný popis

PVP $(C_6H_9NO)_n$ (*Obr. 1*), jehož systematický název je poly 1-ethylen-2-pyrrolidon. Monomerem je N-vinyl-2-pyrrolidon, který je toxický především pro vodní organismy. Polymerací se PVP stává netoxický, takže neškodí vodním organismům ani člověku samotnému. [1]



Obr. 1 Polyvinylpyrrolidon [2]

Z hlediska chemického jde o lineární uhlíkatý řetězec, na který je přes terciární amin navázán laktamový pětičlenný kruh. Na *Obr. 2* je vidět vznik polyvinylpyrrolidonu pomocí polymerace. Tato látka byla patentována v roce 1939 a byla využita za 2. světové války jako náhražka krevní plazmy.



Obr. 2 Vznik PVP [3]

1.1.1 Vlastnosti

PVP je sypký, bílý až nažloutle bílý prášek s různou velikostí částic. Jednotlivé výrobky PVP mají různý zápach, který závisí na způsobu jejich syntézy, a proto není stejný pro všechny druhy. Např. PVP K-30 je cítit mírně po amoniaku nebo aminu. Má velmi dobré hydroskopické vlastnosti a je amorfní. [4]

Univerzálním rozpouštědlem pro tuto látku je voda, což znamená, že PVP je velmi dobře rozpustný v hydrofilních rozpouštědlech. Také v rozpouštědlech organických jako jsou alkoholy, aminy, amidy a laktamy. Dobře rozpustný je i v rozpouštědlech hydrofobních. Naopak PVP je nerozpustný v esterech, etherech a ketonech. Má dobrou schopnost vytvářet sloučeniny s anorganickými i organickými solemi a různými barvivy. [4]

PVP nabývá molekulové hmotnosti v rozmezí 2 500 - 25 000 000 g·mol⁻¹. Molekulová hmotnost je dána podmínkami polymerace a pro lepší orientaci byl zaveden specifický kód charakterizující rozmezí molekulové hmotnosti daného PVP. Specifický kód označující se písmenem K, jako Kopollidon a příslušným číslem např. K15, K30, K70 atd. [5]

Tab. I Rozmezí molekulové hmotnosti jednotlivých specifických kódů [6]

	Vzhled (při 25°C)	Rozmezí molekulové hmotnosti (měřeno v LALLS)
PVP K-15	Světle žlutý vodný roztok	6000 - 15 000
	Téměř bílý, amorfní prášek	
PVP K-30	Bezbarvý až světle žlutý vodný roztok	40 000 - 80 000
	Téměř bílý, amorfní prášek	
PVP K-60	Žlutý vodný roztok	240 000 - 450 000
PVP K-90	Nažloutlý viskózní, vodný roztok	900 000 - 1 500 000
	Téměř bílý, amorfní prášek	
PVP K-120	Bezbarvý až žlutý vodný roztok	2 000 000 - 3 000 000
	Téměř bílý, amorfní prášek	

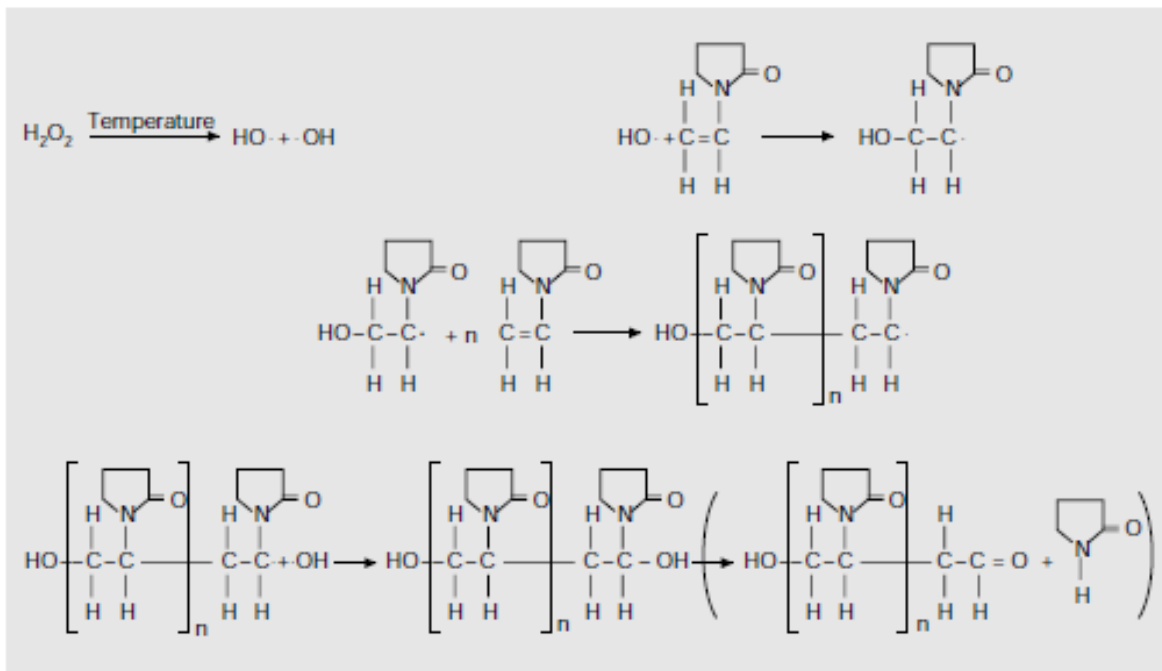
Bylo věnováno mnoho studií, zabývajících se stanovením molekulové hmotností PVP. Nízkomolekulární polymery mají úzkou distribuční křivku

oproti sloučeninám s vysokou molekulovou hmotností. Techniky pro měření molekulové hmotnosti u různých produktů PVP jsou založeny na měření sedimentací, rozptylu světla a především využití chromatografie pro stanovení absolutní molekulové hmotnosti. [6]

Tato látka je biologicky rezistentní. Aby byla schopná degradovat, musí být upravena. Produkty degradace jsou převážně NO a NO₂. K těmto procesům však nedochází samovolně, proto díky tomu dochází k ukládání ve vodách a půdách. [4]

1.2 Výroba

Polyvinylpyrrolidon je vyroben polymerací z N-vinylpyrrolidonu ve vodném prostředí s použitím peroxidu vodíku jako iniciátoru, což můžeme vidět ve schématu na *Obr. 3*. Vzniklý PVP, o velmi malé molekulové hmotnosti, je rozpustný ve vodě. PVP lze také připravit polymerací volného radikálu v organických rozpouštědlech, například 2-methylpropanol. Tato technologie se převážně používá při výrobě nízkomolekulárního PVP pro injekční roztoky. [4]



Obr. 3 Polymerace PVP ve vodném prostředí [4]

1.3 Použití

PVP má velmi hojné použití téměř ve všech průmyslových odvětvích. Mezi nejvýznamnější patří průmysl potravinářský, zde působí PVP jako stabilizátor a také je velmi často využíván v průmyslu farmaceutickém.

1.3.1 Potravinářský průmysl

Zde působí PVP jako aditivum do potravin tzv. stabilizátor, který má označení E1201 (přidatná látka). Má velmi dobré stabilizační a emulgační schopnosti, díky kterým umožňuje vytvoření tenkého filmu na povrchu [7]. Využívá se pro čiření bílého vína, navázáním na oxid křemičitý a také v pivovarnictví, jako pomocná látka v membránách pro filtraci [8]. V cukrářských výrobcích jako stabilizátor barev v cukrových polevách [9].

1.3.2 Farmaceutický průmysl

Ve farmacii se PVP používá jako pojivo v mnoha léčivých přípravcích vyráběných ve formě tablet [4]. Dále se používá při výrobě membrán pro dialýzu (membrány obsahující PVP jsou více propustné). Tyto membrány jsou slučitelné s krví, rozpuštěním PVP je zabráněno přítomností jiných látek, jako je např. PVC [10]. Používá se také do roztoků pro uložení kontaktních čoček a pro ošetření očí ve formě kapek [9].

S jodem tvoří PVP komplex, nazývaný jodovaný povidon, zejména kvůli jeho vynikajícím dezinfekčním vlastnostem. Ten se využívá v některých výrobcích např. v tekutých mýdlech. Nejsou známy druhy bakterií, které jsou vůči jodovanému povidonu odolné. Tento komplex nezapáchá, nebarví a nedráždí kůži. U kojenců je využíván při léčbě zánětu spojivek. [11, 12]

PVP slouží také jako dispergační prostředek pro některé kapalné přípravky, jako stabilizátor enzymů a vitamínů. [9]

1.3.3 Chemický průmysl

PVP má využití především pro různé druhy polymerací jako emulgátor nebo jako ochranný koloid, ale také se může vyskytovat jako jeden

z monomerů a vytvářet tak kopolymery se širokým rozmezím zajímavých technologických vlastností.

Alkylované PVP, vyráběné kopolymerací z PVP, které se dále využívají jako emulgátor nebo dispergátor, ale také jako součást dřevo-nátěrů odolávajících vodě. PVP/polystyrenový latex, látka přidávaná do čistících prostředků nebo do nátěrů. PVP/alkylaminometakrylát, využití v digitálním a inkoustovém tisku jako barevné receptor. Výrobou dalších kopolymerů využívaných jako pomocné látky nebo součást vlasových gelů.

PVP se při chemických reakcích využívá jako stabilizátor suspenzí. Při chemických stanoveních je součástí pufru pro izolaci bílkovin z malých frakcí obilí. Dále při kapilární zónové elektroforéze anorganických aniontů, kde je využit jako nosič elektrolytu. [12]

1.3.4 Technický průmysl

PVP se využívá na výrobu lepidel, lepících tyčinek s velmi dobrou přilnavostí a jako vysokotavitelné lepidlo. Rovněž se využívá jako speciální aditivum pro baterie, keramiku a sklolaminát. V tenkém nánosu tvoří fotocitlivou vrstvu pro katodové trubice a využívá se také v kalících lázních. [8]

1.3.5 Zemědělství

V zemědělském průmyslu se PVP využívá k výrobě granulí a tablet. Především se využívá jako ochranný povlak před průnikem plísní a hub dovnitř granulí a tablet a chrání je před okolními vlivy.

Slouží také jako potahová látka hnojiv a semen. U rostlin slouží jako ochranná složka, která zvyšuje přilnavost účinných látek a umožňuje tyto látky stabilizovat. [10]

1.3.6 Spotřební a kosmetický průmysl

Velké využití měl PVP ve vlasové kosmetice, kde byl původní složkou laků, využíval se i ve vlasových šampónech a kondicionérech, byl přísadou také vlasových gelů. Dnes má velmi omezené využití.

PVP bývá obsažen v pěnách do koupele, v zubních pastách nebo v zubních bělicích gelech. Přidává se také do krémů především do pleťových, opalovacích nebo depilačních. Zde je jeho funkcí především usnadnění roztírání. [13]

PVP má hojné využití v pracích a mycích prostředcích. V pracích prostředcích se nachází ve formě kapalně i práškové a konkrétní využití má nejen jako prášek na praní, ale také jako tablety, které se vkládají přímo do bubnů praček, různé aviváže a kapalně prostředky sloužící k praní. Slouží také jako stabilizátor barev na praných oděvech, kde vytváří tenký film pro ochranu barev a vláken. V mycích prostředcích je PVP využit k ručnímu i automatickému mytí. Má schopnost tvořit komplexy a tím na sebe vázat špínu a odstraňovat ji z materiálu. Také se používá jako důležité činidlo pro úpravu viskozity vody. [6]

1.4 Toxicita

U PVP byl testován biologický a biochemický dopad na organismus, při němž byl PVP podán intravenózním nebo intraperitoneálním způsobem. Nebyl prokázán průchod přes zažívací trakt a ukládání v organismu. Při podání PVP intravenózně se projevilo ukládání do mízních uzlin. Průchodnost PVP organismem je velmi ovlivněna jeho molekulovou hmotností. Při akumulaci pevného materiálu do zažívacího traktu může mít za následek zhutnění. [13]

Podáním PVP do těla pomocí injekcí byly u člověka po delší době objeveny vyrážky. Také při kontaktu s okem může zapříčinit velmi mírné abrazivní poškození. Jedná se o přechodné zarudnutí spojivek s charakteristickým ohraničením. [8]

PVP nevyvolává při krátkodobém styku s kůží nepříznivé účinky na zdraví ani viditelné podráždění. Přesto se z hygienických důvodů u manipulace s PVP vyžaduje použití rukavic a maximální opatrnost. I přesto při delším kontaktu PVP s kůží může u některých osob vyvolat dermatitidu nebo rozsáhlé podráždění kůže. V případě otevřených ran,

odřenin nebo v případě velké citlivosti kůže by měla být manipulace s tímto materiálem velmi omezena. Při vstupu materiálu do krve díky odřenině nebo řezné ráně může mít škodlivé účinky. [13, 8]

Vdechnutí může způsobovat nepříznivé zdravotní účinky nebo podráždění dýchacích cest. Tyto účinky byly prokázány pouze u zvířat. Bylo prokázáno, že PVP nepřispívá k poškození plicních cév, pouze u osob se sníženou respirací, onemocněním dýchacích cest, chronickou bronchitidou a rozedmou plic, může při vdechování nadměrné koncentrace částic PVP vznikat další postižení. V případě dlouhodobého vystavení vysokým koncentracím prachu vyvolává změny v plicních funkcích, jako například pneumokonióza. [13]

Bylo vyvráceno, že by materiál způsoboval chronické mutace a rakovinu. U PVP nebyly prokázány karcinogenní účinky. Avšak studie prokázaly, že dlouhodobým užíváním různými způsoby by mohlo dojít k ukládání do organismu, závisí však na množství přijatého PVP. U PVP využívaného v potravinářském průmyslu nebyly prokázány žádné vlivy na organismus, pouze upozornění na řídnutí stolice až průjmy. Opět v závislosti na přijatém množství. [13, 8]

2 METODY STANOVENÍ POLYVINYLPIRROLIDONU

2.1 Kapilární zónová elektroforéza

2.1.1 Princip metody

Jedná se o separační metodu, která je založena na migraci iontů v kapalině mezi dvěma elektrodami o vysokém napětí. Kapilární zónová elektroforéza využívá jednoho pracovního elektrolytu, což zapříčiňuje v celé kapiláře konstantní elektrické pole. Zóny s různými konstantními rychlostmi jsou odděleny elektrolytem a odezva detektoru na konci kapiláry má charakteristický profil píku. [14]

2.1.2 Využití metody

CZE má konkrétní využití u stanovení organických kyselin, analýzy aminokyselin a bílkovin (např. kasienu), stanovení anorganických iontů, barviv, ochucovadel, konzervantů, vitamínů a náhradních sladidel. [15]

V současné době, je tato metoda široce využívána v oddělení lékařské chemie a biochemie, pro stanovení biologicky aktivních látek v reálných vzorcích. Rozsáhlé studie byly provedeny při stanovení v moči u obézních pacientů a pacientů s traumaty. [16]

2.2 Kapilární elektroforéza

2.2.1 Princip metody

Kapilární elektroforéza je separační metoda, která se provádí jako volná elektroforéza bez nosiče v tenké kapiláře. Tato kapilára je zhotovena z tenkého křemene. Směr pohybu v kapiláře určuje elektroosmotický tok. Separace se provádí v neutrálním až alkalickém prostředí pufru, který nese kladný náboj, a separovaná látka, která se deprotonizuje na vnitřní straně kapiláry, nese náboj záporný.

K detekci se používají fotometrické nebo fluorescenční detektory, založené na sledování absorpce ultrafialového záření. Výsledkem je

elektroforeogram, záznam závislosti absorbance na čase, který je tvořen píky. [17] Často se používají bezkontaktní vodivostní detektory nebo lze použít i hmotnostní detektory.

2.2.2 Využití metody

Využívá se v metabolomice, konkrétně ve stanovení hladiny metabolitu v daném organismu za daného metabolického stavu. V analýze potravin, v genetickém zkoumání, u biologicky aktivních látek, v klinických výzkumech a mnoha dalších.

2.3 Izotachoforéza

2.3.1 Princip metody

U této separační metody je vzorek vnášen mezi dva elektrolyty vedoucí (leading) a zakončující (terminator). Separované ionty musí mít pohyblivost (mobilitu) menší jak vedoucí elektrolyt a větší jak elektrolyt zakončující. V jednom měření mohou být separovány buď kationty, nebo anionty. [18] Mobilitu lze ovlivnit disociací (volbou pH vedoucího elektrolytu), případně komplexací (přidáním komplexotvorné látky do leadingu ve funkci koprotionu).

2.3.2 Využití metody

ITP se využívá pro analýzy aniontů nebo kationtů ve vodných popř. alkoholických roztocích. Pro rozbory vod, biologických materiálů, farmaceutických přípravků, potravin a pesticidů. Dále se využívá ke studiu komplexních sloučenin, stanovení elektroforetických mobilit a stanovení rovnovážných konstant. [19] ITP se velice často kombinuje s CZE, kdy v prvním kroku dochází k zakoncentrování analytu a jen sledovaná část je dále podrobena CZE analýze.

2.4 Molekulová absorpční spektrometrie

2.4.1 Princip metody

Molekulová absorpční spektrometrie je založena na měření absorpce elektromagnetického záření, ke které dochází při interakci záření specifické vlnové délky s elektronovým obalem molekul měřené látky. Při absorpci záření ve viditelné oblasti dochází k přechodům mezi orbitály π a π^* , u komplexů π donoru na π^* akceptoru. Podstatou energie fotonů jsou elektronové přechody mezi energetickými hladinami a elektronovými obaly.

2.5 Metoda stanovení PVP pomocí Azobarviva

Jedinou prací zmiňující se o separaci komplexu azobarviv s polyvinylpyrrolidonem je práce M. Beneito-Cambry a kol. [20] z univerzity ve Valencii z roku 2009, kteří použili pro separaci kapilární elektroforézu. Komplexy polyvinylpyrrolidonu se odlučují do kinetiky prvního řádu a poskytují dva píky. Zbývající polyvinylpyrrolidonové komplexy byly v rovnovážné koncentraci s volným barvivem, které byly v exponenciální oblasti kvůli barvivu osvobozeného z komplexu během elektroforetického běhu. Jako azobarviva byly použity: Kongo červeně a kyselá modř 113, pro získání formací o maximální stechiometrii a průměrné stabilitě polyvinylpyrrolidonového komplexu. [20]

Tento postup také předpovídá průměrnou molekulovou hmotnost polyvinylpyrrolidonu. Stanovuje polyvinylpyrrolidon v čistících prostředcích a farmaceutických přípravcích. Při použití vhodných sond je postup také užitečný ke zjištění syntetických nebo přírodních neiontových polymerů a ke studování interakce polymer-sonda. [20]

3 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, zda by bylo možné separovat komplex azobarviva s polyvinylpyrrolidonem, nebo volné zbytkové azobarvivo, metodou kapilární zónové elektroforézy, kde na rozdíl od kapilární elektroforézy není elektroosmotický tok, který umožňuje migraci i látek bez náboje. Pokud se toto podaří a komplexy budou dostatečně robustní a mobilní, bude cílem nalézt podmínky pro semikvantitativní, či kvantitativní stanovení polyvinylpyrrolidonu metodou kapilární zónové elektroforézy.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE, CHEMIKÁLIE

4.1 Přístroje a zařízení

Elektroforetický analyzátor EA 100 s kolonou o vnitřním průměru 0,3 mm a délky 160 mm, s dávkovacím keramickým kohoutem o objemu cca 200 nl, s vodivostní kontaktní detekcí. Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko.



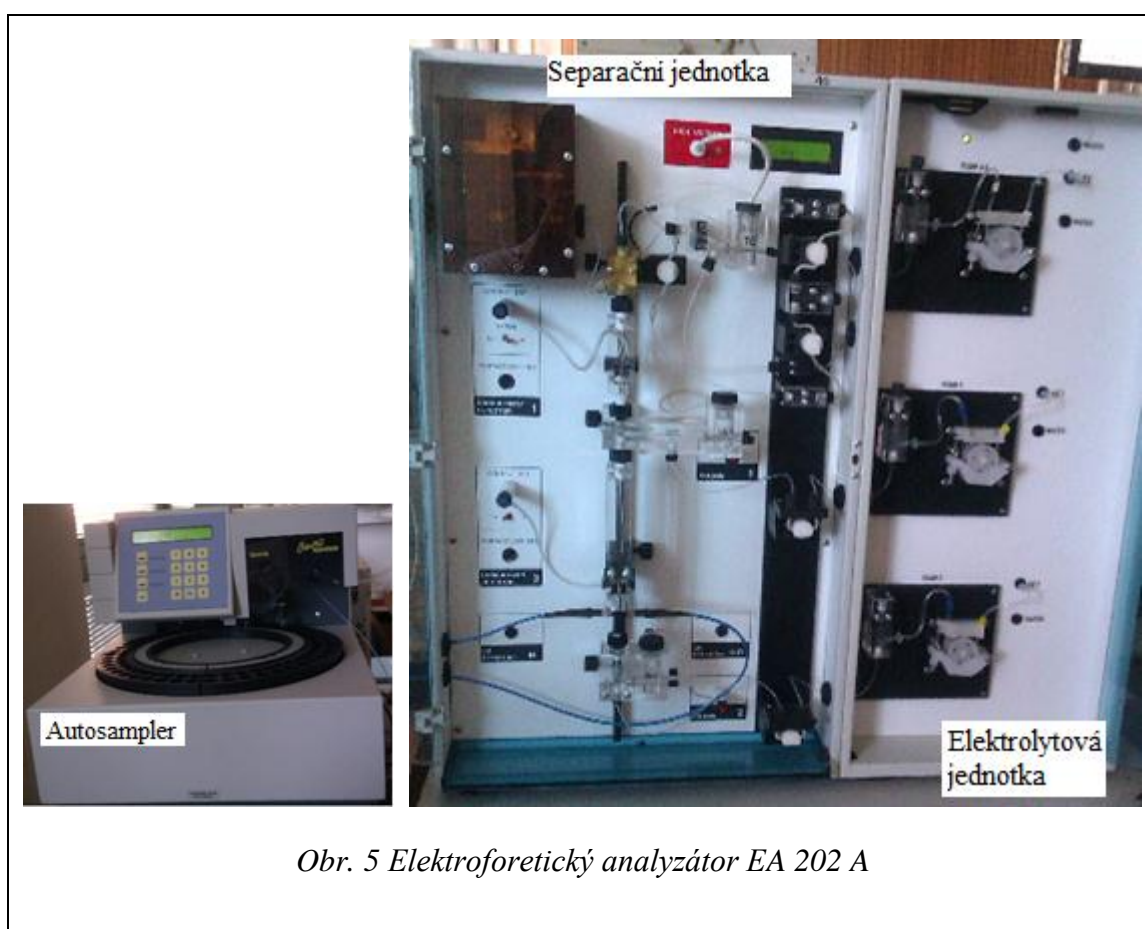
Obr. 4: Elektroforetický analyzátor EA 100

Analytické laboratorní váhy R 180 D, Sartorius, GMBH Göttingen, Německo.

Spektrometr HELIOS ϵ , Thermo, USA

Elektroforetický analyzátor EA 202 A se spojenými kolonami o vnitřním průměru 0,8 mm a délky 160 mm, respektive 0,3 mm a délky 160 mm, s dávkovacím kohoutem cca 30 μl , s vodivostní kontaktní detekcí, s podavačem vzorků. Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko.

Přístroj určený k automatickému měření metodami ITP, ITP-ITP respektive ITP-CZE. Přístroj je složený ze čtyř částí: automatickým dávkovačem, separační jednotkou, elektrolytovou jednotkou a personálním počítačem s řídicím a vyhodnocovacím programem. [21]



4.2 Chemikálie

Kyselina morfolinetan sulfonová, MES p.a. $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}$

$M_r = 195,2378 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Fluka AG, Buchs, Švýcarsko.

Čištěna krystalizací z vodně-alkoholického roztoku.

Tris(hydroxymethyl)aminomethan, TRIS p.a. C₄H₁₁NO₃

Mr = 121,14 g.mol⁻¹

Fluka AG, Buchs, Švýcarsko.

Speciálně čištěný (z teplého vodného roztoku sráženo ethanolem při nízké teplotě).

Histidin, HIS, p.a. C₆H₉N₃O₂

Mr = 155,1547 g.mol⁻¹

Fluka AG, Buchs, Švýcarsko.

Speciálně čištěný (z teplého vodného roztoku sráženo ethanolem při nízké teplotě).

Kyselina chlorovodíková p.a., HCl

Mr = 36,4606 g.mol⁻¹

Lachema Neratovice, ČR.

Izotermálně destilovaná.

Hydroxyethylcelulóza, HEC

1% vodný roztok.

Fluka AG, Buchs, Švýcarsko.

Roztok čištěn směsným ionexem.

Kyselina jantarová, SA, p.a. C₄H₆O₄

Mr = 118,088 g.mol⁻¹

Lachema Neratovice, ČR

Čištěna krystalizací z vodného roztoku

Kyselina galová, GA C₇H₆O₅

M = 170,1195 g.mol⁻¹

Původ neznámý

Kyselina adipová, AA, p.a. C₆H₁₀O₄

Mr = 146,1412 g.mol⁻¹

Lachema Neratovice, ČR.

Čištěna krystalizací z vodného roztoku.

Chlorid sodný p.a., NaCl

Mr = 58,4425 g.mol⁻¹

Lachema Neratovice, ČR.

Methylhydroxyethylcelulosa, MHEC pro ITP

1% vodný roztok

Villa Labeco, Spišská Nová Ves, SR.

Polyvinylpyrrolidon, PVP, K15

Fluka AG, Buchs, Švýcarsko.

Kongo červen, KČ, C₃₂H₂₂N₆Na₂O₆S₂

Mr = 696,7 g.mol⁻¹, indikátor

Původ neznámý

Beryllon II, B II p.a.. C₂₀H₁₀N₂Na₄O₁₅S₄

Mr = 738,52 g.mol⁻¹

Lachema Neratovice, ČR

Redestilovaná voda

Destilovaná voda rektifikována s manganistanem draselným a kyselinou sírovou.

Ethanol pro UV spektroskopii

Lachema Neratovice, ČR.

4.3 Roztoky a jejich příprava

Roztok GA: 1·10⁻³ mol·l⁻¹

8,50 mg kyseliny galové bylo rozpuštěno v 50 ml destilované vody.

Roztok MES: 1·10⁻³ mol·l⁻¹

10,61 mg kyseliny morfolinethan sulfonové bylo rozpuštěno v 50 ml destilované vody.

Roztok PVP: cca $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (vyjádřeno jako mer)

Bylo naváženo 11,11 mg PVP K15. Navážené množství bylo zalito asi 50 ml redestilované vody a ponecháno nabobtnat. Poté pomocí míchání a sonifikace byl PVP rozpuštěn a kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 100 ml. Obsah byl důkladně promíchán a podroben několika minutové sonifikaci.

Roztok KČ: cca $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Bylo rozpuštěno 34,56 mg Kongo červeně, převedeno do 50 ml odměrné baňky, která byla po rysku doplněna destilovanou vodou.

Roztok BII.: cca $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Bylo rozpuštěno 37,13 mg Beryllonu II., převedeno do 50 ml odměrné baňky, která byla po rysku doplněna destilovanou vodou.

Nosný elektrolyt A: $7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ SA} + 21 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HIS} + 0,2\% \text{ MHEC}$

Nosný elektrolyt obsahující 325,82 mg histidinu a 82,66 mg kyseliny jantarové byl rozpuštěn v 50 ml redestilované vody. K rozpuštěným látkám bylo přidáno 20 ml 1% roztoku hydroxymethylcelulózy. Po promíchání bylo vše převedeno do 100 ml odměrné baňky a doplněno redestilovanou vodou po rysku. Vzniklý elektrolyt byl krátce sonifikován.

Nosný elektrolyt B: $7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ SA} + 28 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HIS} + 0,2\% \text{ MHEC}$

Elektrolyt obsahoval 109,00 mg histidinu a 20,67 mg kyseliny jantarové, navážené množství bylo rozpuštěno v 10 ml redestilované vody, bylo přidáno 5 ml 1% MHEC. Po důkladném promíchání bylo vše převedeno do 25 ml odměrné baňky a doplněno po rysku redestilovanou vodou. Opět byla provedena krátká sonifikace.

Nosný elektrolyt C: $7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ GA} + 28 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HIS} + 0,2\% \text{ MHEC}$

Elektrolyt vzniklý navážením 43,44 mg histidinu a 25,58 mg kyseliny adipové byl rozpuštěn v 10 ml redestilované vody s přidavkem 5 ml 1% MHEC. Rozpuštěné a promíchané látky byly převedeny do 25 ml odměrné baňky, doplněny po rysku redestilovanou vodou. Byla provedena sonifikace. pH = 4,9.

Nosný elektrolyt D: $7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ GA + $28 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ HIS + 0,2% MHEC

108,00 mg histidinu a 51,50 mg kyseliny adipové bylo rozpuštěno ve 20 ml redestilované vody s přidavkem 10 ml 1% MHEC. Roztok byl převeden do odměrné baňky o objemu 50 ml a doplněn po rysku redestilovanou vodou a sonifikován. pH = 5,25.

Nosný elektrolyt E: $7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ MES + $14 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ HIS + 0,2% MHEC

Elektrolyt byl připraven navážením 21,72 mg HIS a 25,58 mg kyseliny morfolinethan sulfonové a rozpuštěním v 10 ml redestilované vody. Bylo přidáno 5 ml 1% MHEC a roztok byl převeden do odměrné baňky o objemu 25 ml, doplněn po rysku redestilovanou vodou a krátce sonifikován. pH = 4,73.

Nosný elektrolyt F: $7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ SA + $14 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ HIS + 0,2% MHEC

86,88 mg histidinu a 41,34 mg kyseliny jantarové bylo rozpuštěn asi v 10 ml redestilované vody. Poté bylo přidáno 10 ml 1% roztoku MHEC. Promíchané množství bylo kvantitativně převedeno do odměrné baňky o objemu 50 ml a doplněno redestilovanou vodou po rysku. Opět byla provedena krátká sonifikace.

Vedoucí elektrolyt Le: $1\cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl + 0,2 % HEC + HIS do pH \cong 6,0

Navážka 0,7858 g histidinu byla rozpuštěna v cca 100 ml redestilované vody, rozpuštění bylo urychleno sonifikací. Bylo přidáno 25 ml izotermálně destilované HCl o koncentraci $1\cdot 10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$, poté 50 ml 1% roztoku HEC, smíchané množství bylo převedeno do odměrné baňky o objemu 250 ml a po rysku doplněno redestilovanou vodou. Byla provedena 10 až 20 sekundová sonifikace.

Zakončující elektrolyt Te: $5\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ MES + TRIS do pH \cong 6,0 - 6,2

V cca 100 ml redestilované vody bylo rozpuštěno asi 150 mg TRISu, (rozpuštění bylo urychleno sonifikací). Poté bylo přidáno 244,05 mg MESu, smíchané množství bylo převedeno do odměrné baňky o objemu 250 ml a po rysku doplněno redestilovanou vodou. Provedena 10 až 20 sekundová sonifikace.

5 POPIS ZPRACOVÁNÍ PŘI MĚŘENÍ

5.1 Molekulová absorpční spektrometrie

Měření absorbance v závislosti na vlnové délce bylo realizováno v rozmezí vlnových délek 325 – 700 nm. Měřeny byly směsi PVP ($1,68 \cdot 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) + Beryllon II ($1,21 \cdot 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) v poměru 0:6 až 5:1 (*Tab. II*) a směsi PVP + Kongo červeně ($1,10 \cdot 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) v poměru 0:6 až 5:1 (*Tab. III*).

5.2 Kapilární zónová elektroforéza

Analýzy kapilární zónovou elektroforézou byly prováděny s hnacími proudy od 20 μA do 90 μA s dobou analýzy 800 až 3 000 s. Byly odzkoušeny různé nosné elektrolyty s kyselinou jantarovou, kyselinou adipovou a s kyselinou morfolinethan sulfonovou (nosný elektrolyt A až nosný elektrolyt F). Jejich koncentrace byly 7 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Nosný elektrolyt byl ve všech případech pufován přídatkem histidinu a vždy byla přidávána methyldihydroxyethylcelulosa na potlačení osmotického toku.

Byly analyzovány modelové vzorky Beryllonu II a Kongo červeně bez, respektive s polyvinylpyrrolidonem. Byl odzkoušen i vzorek kyseliny galové a vzorek chloridů.

5.3 Izotachoforéza

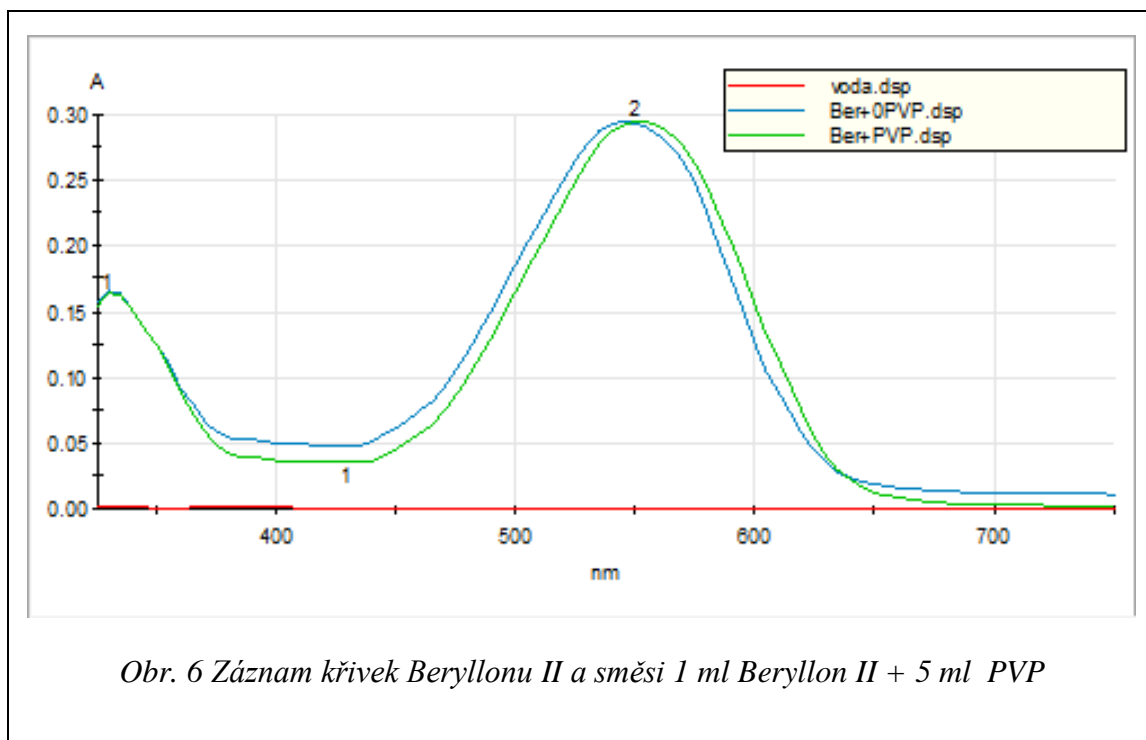
Izotachoforeticky byly analyzovány modelové vzorky Kongo červeně a Beryllonu II a to jak s polyvinylpyrrolidonem, tak bez něj. Koncentrace všech analytů byla cca $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Operační systém: průměr kolony 0,8 mm; délka kolony 160 mm; kontaktní vodivostní detektor; hnací proud 300 μA ; vedoucí elektrolyt obsahoval histidin-histidinium chlorid (koncentrace chloridů $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) s hydroxyethylcelulosou na potlačení osmotického toku; zakončující elektrolyt $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ kyselina morfolinethan sulfonová, s přídatkem trishydroxymethylaminomethanem pro zvýšení pH. Celková doba měření byla 330 s.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Měřením ve viditelné oblasti bylo zjištěno, že u obou vzorků, jak u Beryllonu II (*Tab. II, Obr. 6*), tak u Kongo červeně (*Tab. III, Obr. 7*), docházelo v přítomnosti PVP k posunu vlnové délky maxim, což by naznačovalo, že PVP dává komplex nejen s Kongo červení, ale i s Beryllonem II. Proto bylo přistoupeno k izotachoforetickým analýzám.

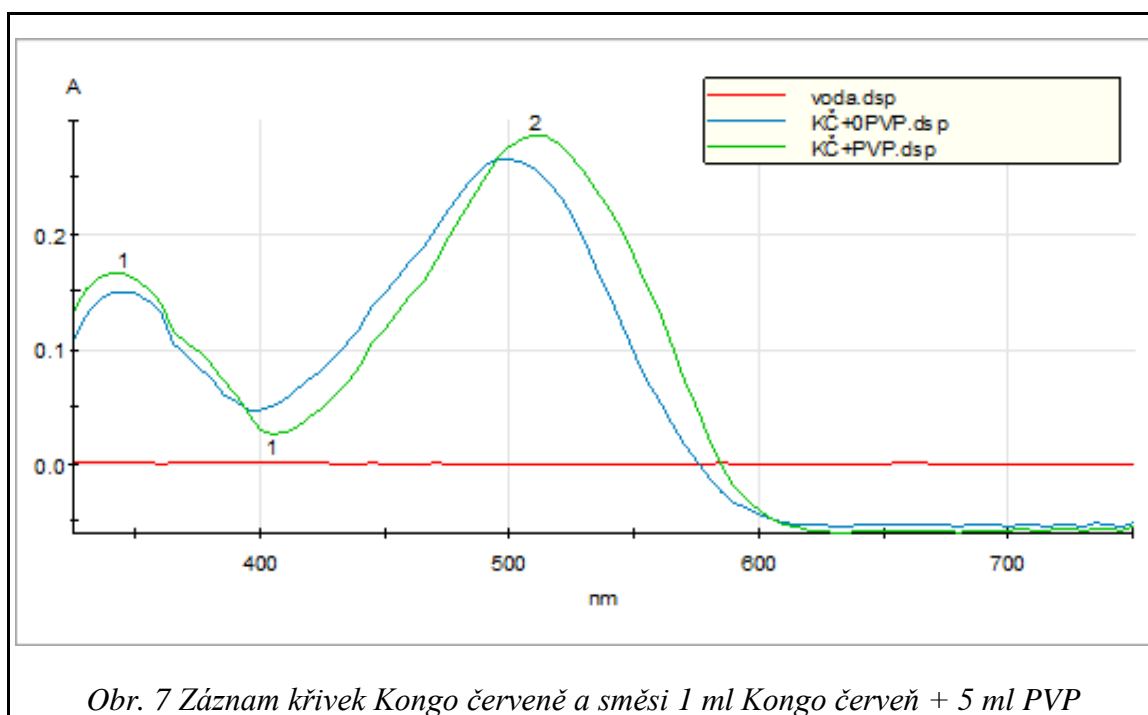
Tab. II Příprava směsi PVP + Beryllon II.

Vzorek číslo	1,676 mmol.l ⁻¹ PVP [ml]	1,207 mmol.l ⁻¹ Beryllon II. [ml]
1	0	6
2	0,2	5,8
3	0,6	5,4
4	1	5
5	2	4
6	3	3
7	4	2
8	5	1



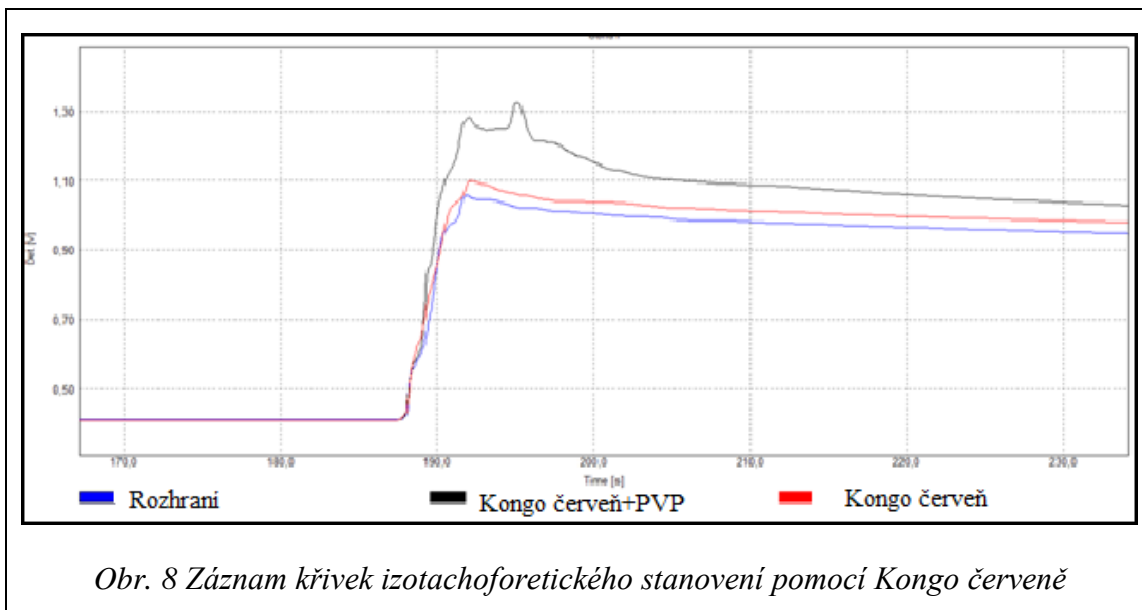
Tab. III Příprava směsi PVP + Kongo červeně

Vzorek číslo	1,676 mmol.l ⁻¹ PVP [ml]	1,097 mmol.l ⁻¹ Kongo červeně [ml]
1	0	6
2	0,2	5,8
3	0,6	5,4
4	1	5
5	2	4
6	3	3
7	4	2
8	5	1

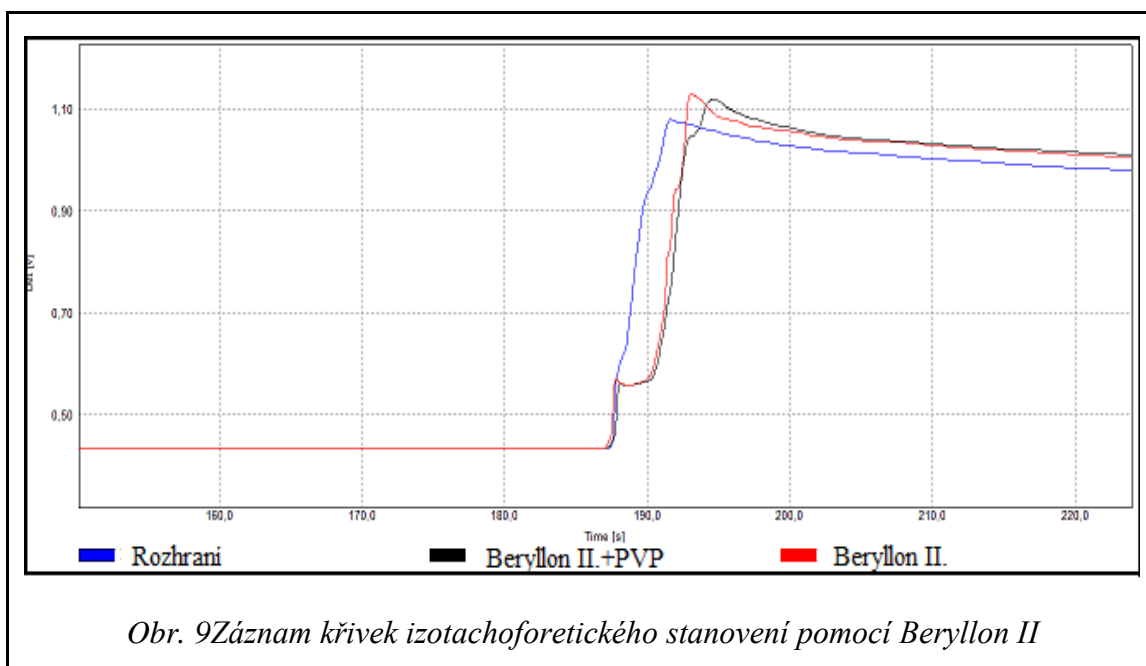


Obr. 7 Záznam křivek Kongo červeně a směsi 1 ml Kongo červeně + 5 ml PVP

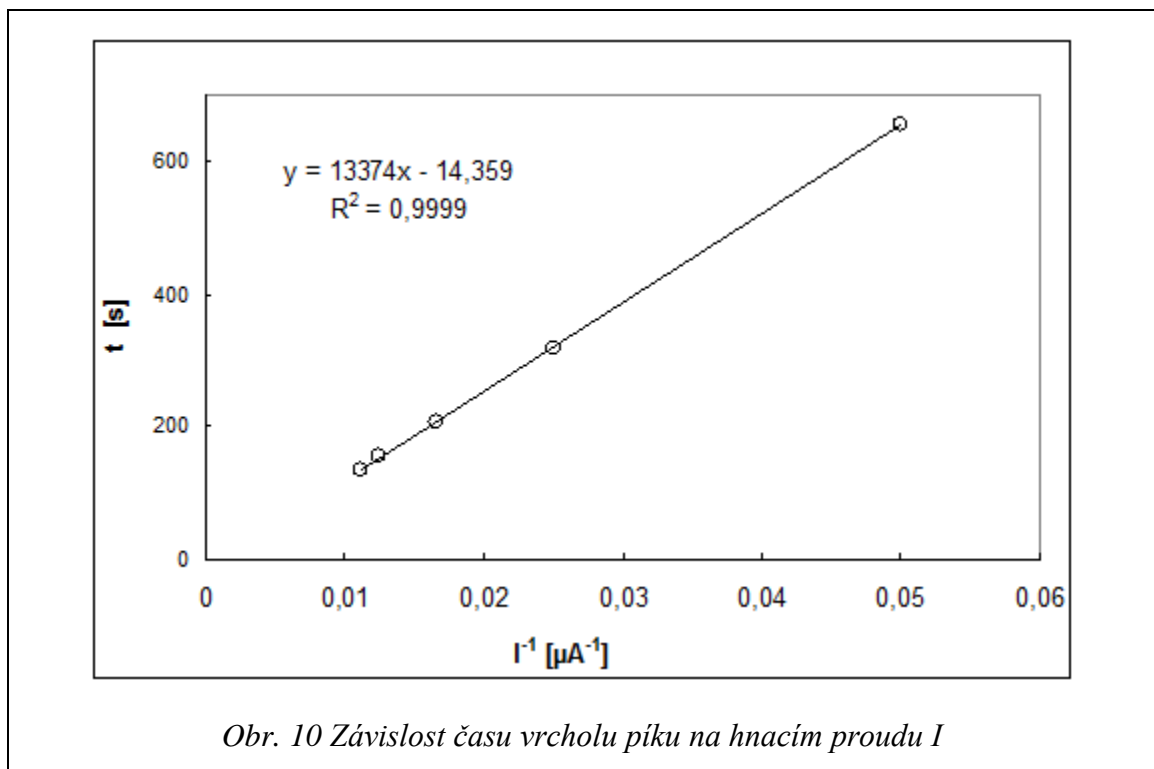
Izotachoforetickou analýzou s vedoucím elektrolytem histidin/histidinium chloridem při $\text{pH} \cong 6$ bylo zjištěno, že Kongo červeně má menší efektivní mobilitu jak terminátor (MES) a tudíž není vidět příslušná zóna na záznamu Obr. 8. Pokud byl analyzován vzorek Kongo červeně s PVP, nebyla taktéž zaznamenána zóna mezi vedoucím a zakončujícím elektrolytem. Za zónou terminátoru je však vidět pík, který by mohl odpovídat nečistotě v PVP s mobilitou jen o něco nižší než je mobilita terminátoru.



V případě analýzy s Beryllonem II tvoří Beryllon svou vlastní zónu. Je-li ve vzorku přítomen i PVP, měla by vzrůst hodnota R_{SH} vlivem tvorby mobilního komplexu, nebo by se měla zkrátit zóna Beryllonu vlivem tvorby pevného nemobilního komplexu. Ani jeden tento případ nenastal, jak je vidět z Obr. 9. Pokud Beryllon tvoří komplex s PVP, je tento komplex nestabilní a rozpadá se při $pH \geq 6$. Proto byla další měření kapilární zónovou elektroforézou realizována při nižším pH nosného elektrolytu.

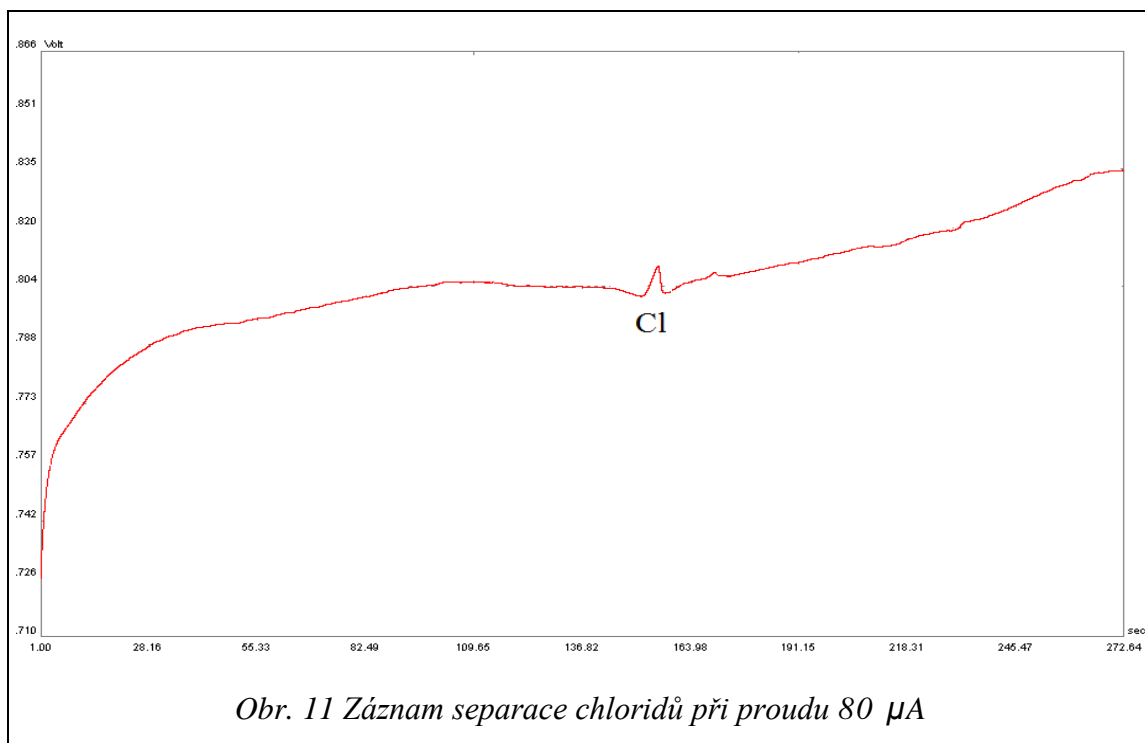


Při analýzách kapilární zónovou elektroforézou byly odzkoušeny různé nosné elektrolyty a to jak s kyselinou jantarovou či adipovou, tak s kyselinou morfolinethan sulfonovou (má menší vodivost a tudíž efektivnější využití separačního náboje). Pokud bylo použito chemikálií čistoty p.a. bez přečištění byly prakticky všechny záznamy rozkmitané a na závěr došlo k havárii detektoru. Proto bylo dále pracováno s přečištěnými chemikáliemi a s novým detektorem (pouhá výměna bez optimalizace). Byly odzkoušeny různé hnací proudy (20 až 90 μA) s dobou analýz až 3 000 s. Pro tyto proudy s nosným elektrolytem F byla zhotovena závislost $t=f(1/I)$, Obr. 10.



Protože rychlost pohybu iontu při elektroforéze je dána součinem pohyblivosti a potenciálu, lze psát: $v = L/t = m \cdot E = m \cdot R \cdot I$. Jelikož odpor kolony je v podstatě během separace konstantní, pak platí že: $t = L/(R \cdot m) \cdot 1/I$. Vyneseme-li tedy čas oproti reciproké hodnotě hnacího proudu, obdržíme přímkou se směrnici $L/(R \cdot m)$. Jak je vidět z Obr. 10 má závislost korelační koeficient 0,9999 a můžeme říci, že vygenerované Joulovo teplo ($R \cdot I^2$) nezkrsluje elektroforetický záznam a že hnací proud je dobře stabilizovaný. Tedy všechny problémy, které se objevují nelze

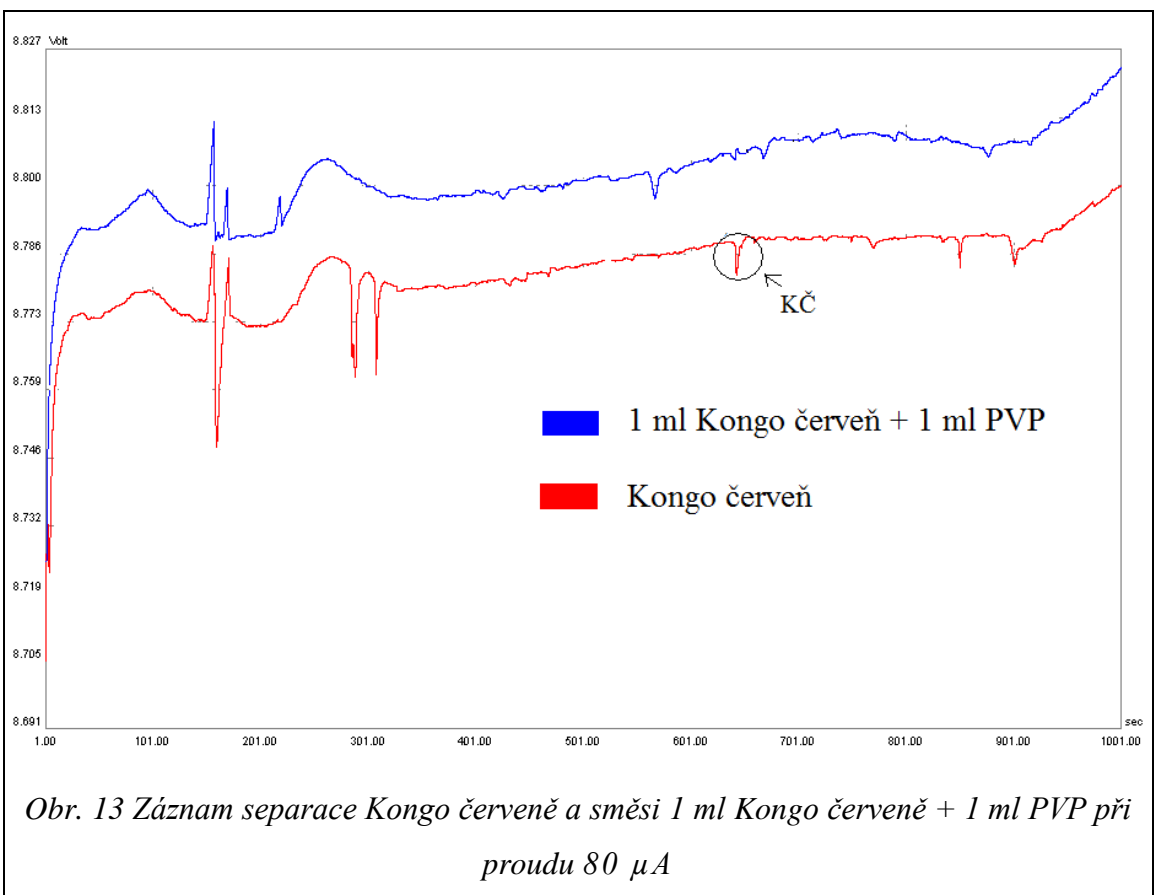
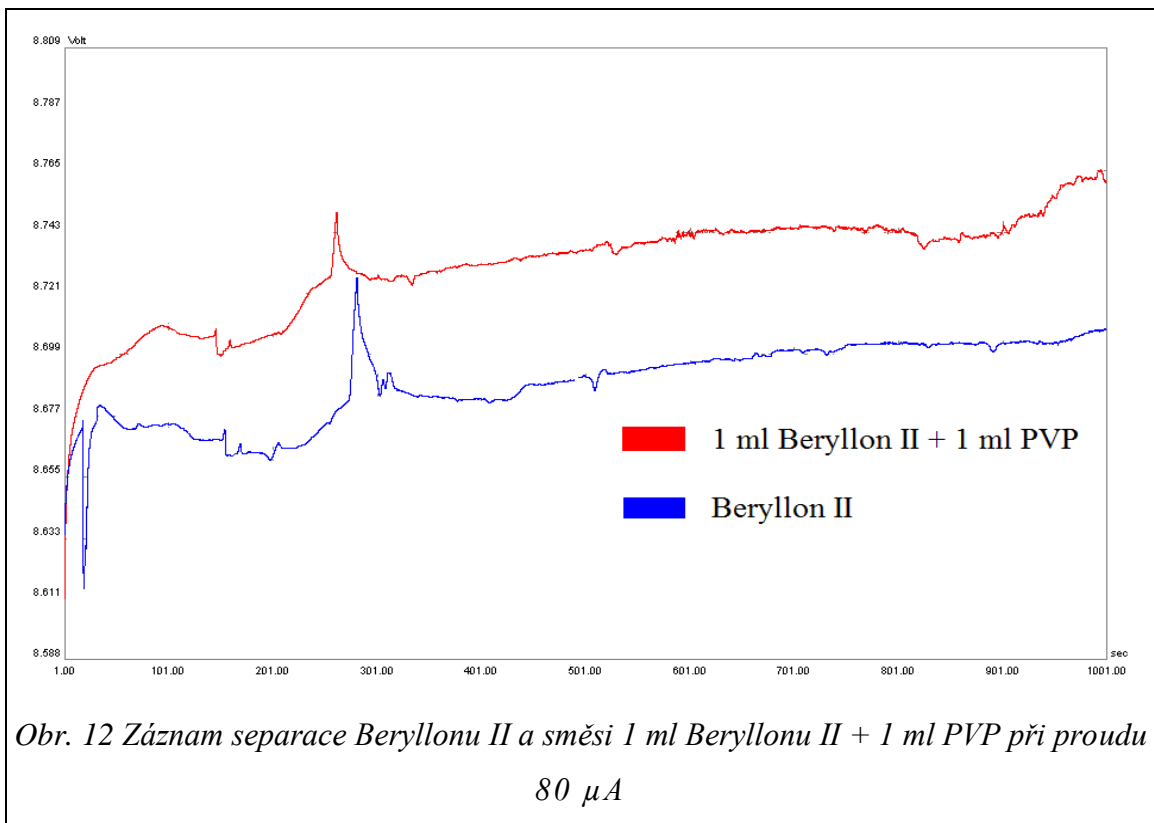
přičíst špatné funkčnosti přístroje. Rovněž lze odhadnout, že při použitém proudu $80 \mu\text{A}$ bude pík Beryllonu vidět při čase větším jak 280 s, pík Kongo červeně při čase větším jak 600 s v závislosti na velikosti disociačních konstant.



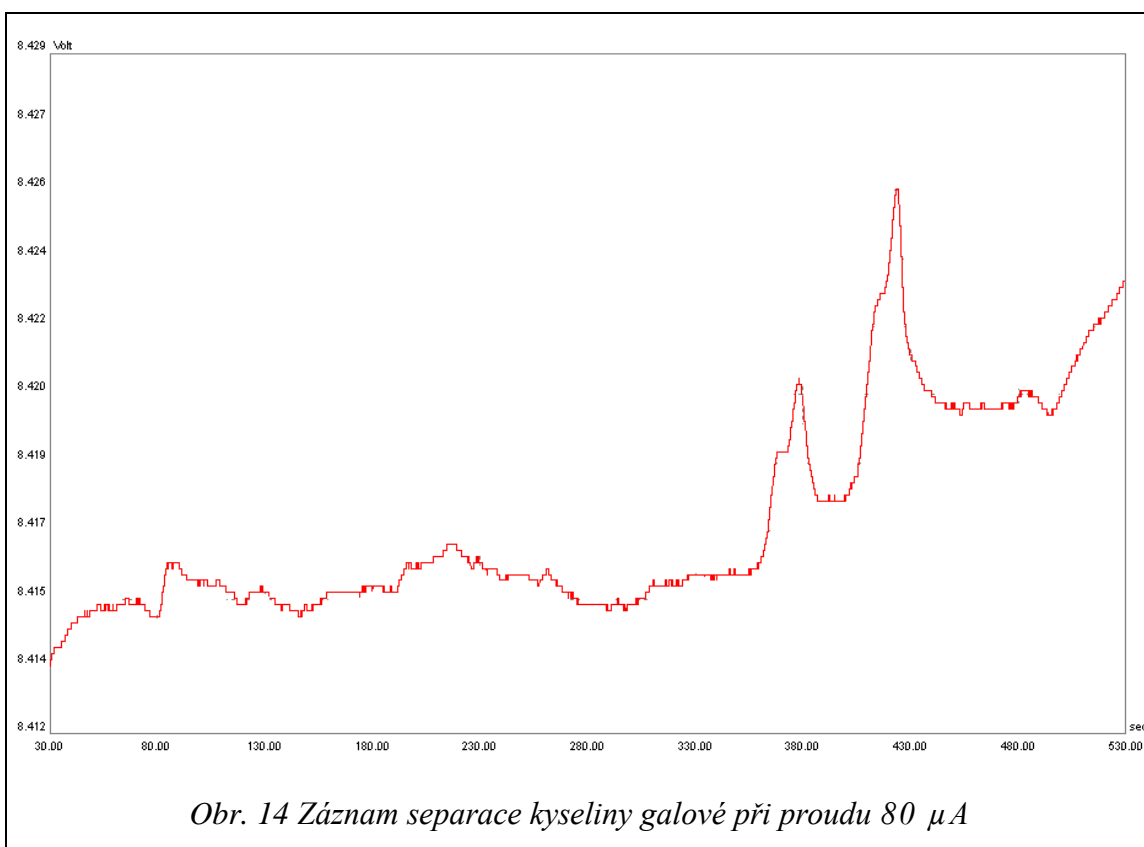
Obr. 11 Záznam separace chloridů při proudu $80 \mu\text{A}$

Na *Obr. 12* by mohl příslušet kladný pík Beryllonu II. Na horní křivce je vidět menší plocha Beryllonu II v přítomnosti PVP. Při opakované analýze však toto nebylo potvrzeno. Záznam obsahuje několik dalších píků, které by se zde neměli vyskytovat. Zřejmě by bylo třeba všechny chemikálie ještě důkladněji přečistit.

V případě Kongo červeně (*Obr. 13*) by se snad mohlo jednat o třetí pík zprava (čas vrcholu píku cca 650 s), který v přítomnosti PVP nebyl zaznamenán, ale objevil se zde jiný pík s kratším časem (580 s) a s delším časem (680 s). Pravděpodobně se jedná o nečistotu z komerčního PVP, který nebyl nijak speciálně čištěn. V případě Kongo červeně byly ještě zaznamenány dva píky s časy 860 s a 910 s, které ve směsi nebyly rovněž detekovány.



V závěru byla odzkoušena analýza s kyselinou galovou (technický produkt neznámého původu bez čistění), která by mohla dle literárních údajů tvořit komplex s PVP. Byly zaregistrovány 2 nesymetrické píky (pravděpodobně směsné) s časem maxima při 380 s a 420 s (*Obr. 14*). Čistění kyseliny galové nebylo realizováno z důvodu minimálního množství které bylo k dispozici a k analýzám směsi kyseliny galové s polyvinylpyrrolidonem již nebylo přistoupeno z časových důvodů.



ZÁVĚR

Tato bakalářské práce se zabývala studiem možností semikvantitativního stanovení polyvinylpyrrolidonu s Beryllonem II a Kongo červení pomocí metody CZE resp. ITP. Byly odzkoušeny nosné elektrolyty s kyselinou jantarovou, adipovou a morfolinethan sulfonovou. Jako nejlepší elektrolyt byl použit nosný elektrolyt F mající složení $7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny jantarové + $14 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ HIS + 0,2% MHEC s $\text{pH} = 4,9$. Separace nebyla optimální a reprodukovatelnost byla diskutabilní. Je pravděpodobné, že při $\text{pH}=4,9$ v případě Beryllonu II, dochází k jistému vzniku komplexu, což je vidět na CZE záznamu, avšak při $\text{pH}=6$ nikoliv, jak dokládá ITP záznam. V případě Kongo červeně je možné s jistou dávkou opatrnosti říci, že metodou CZE při $\text{pH}=4,9$ je možné registrovat pík KČ v nepřítomnosti PVP, který se v přítomnosti PVP neprojeví. Nelze ale vyloučit, že se jedná o nečistoty v těchto komerčních nepřečištěných preparátech.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Ashland Inc. | Specialty Chemical Company. *Ashland Inc. | Specialty Chemical Company* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://www.ashland.com/>
- [2] HARKE Group: Polyvinylpyrrolidone. *I Polyvinylpyrrolidone (PVP) for pharmaceutical applications* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://www.harke.com/products/synthetic-polymers/polyvinylpyrrolidone-pvp-for-pharmaceutical-applications.html>
- [3] Wikipedie. *Polyvinylpyrrolidon synthese* [online]. [cit. 2013-05-22]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Polyvinylpyrrolidon_synthese.svg
- [4] Červenáková, L., Předúprava polyvinylpyrrolidonu před biologickým rozkladem, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně (2010)
- [5] Bühler, V., *Polyvinylpyrrolidone Excipients for Pharmaceuticals Povidone, Crospovidone and Copovidone*, Springer Berlin Heidelberg New York (2005), ISBN 3 – 540 – 23412 – 8.
- [6] CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC., Santa. Polyvinylpyrrolidon. *Material Safety Data Sheet* [online]. Apr-5-2009, sc-203204, [cit. 2011-08-23]. Dostupný z WWW: <<http://datasheets.scbt.com/sc-203204.pdf>>.
- [7] Polyvinylpyrrolidon - PVP. *Polyvinylpyrrolidon - PVP* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://online1.ispcorp.com/Brochures/Performance%20Chemicals/PVP.pdf>
- [8] Multi Lingual Archive. *Polyvinylpyrrolidone (PVP)* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: http://www.multilingualarchive.com/ma/enwiki/nl/Poly_vinyl_pyrrolidone
- [9] Foltmann, H., Quadir, A., *Polyvinylpyrrolidone (PVP) – One of the Most Widely Used Excipients in Pharmaceuticals: An Overview*, *Delivery Technology* 8, 22-27, (2008).
- [10] PVP - technical applications - BASF Dispersions & Pigments. *PVP - technical applications - BASF Dispersions & Pigments* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: [ttp://www.luvitec.com/portal/basf/ien/dt.jsp?setCursor=1_286727](http://www.luvitec.com/portal/basf/ien/dt.jsp?setCursor=1_286727)

- [11] Najafi, R. B., Samani, S. M., Pishva, N., Moheimani, F., *Formulation and Clinical Evaluation of Povidone-Iodine Ophthalmic Drop*, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 157-160, (2003).
- [12] Berkelman, R. L., Holland, B. W., Anderson, R. L., *Increased Bactericidal Activity of Dilute Preparations of Povidone-Iodine Solutions*, Journal of Clinical Mikrobiology, 635-639, (1982).
- [13] Oblast použití PVP (E1201) a PVPP (E1202) a jeho osud v ŽP. DOLEŽALOVÁ, Veronika. *Oblast použití PVP (E1201) a PVPP (E1202) a jeho osud v ŽP* [online]. 2011 [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: http://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/14900/dole%C5%BEalov%C3%A1_2011_bp.pdf?sequence=1
- [14] Polyvinylpyrrolidone(PVP) - ATP Chemicals Ltd.Sti. - Products. *Polyvinylpyrrolidone(PVP) - ATP Chemicals Ltd.Sti. - Products*[online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: http://atpchems.com/atpchemis/index.php?categoryid=4&m17_sectionid=8&m17_imageid=43
- [15] Chemické listy. KAŠIČKA, Václav. *TEORETICKÉ ZÁKLADY A SEPARAČNÍ PRINCIPY KAPILÁRNÍCH ELEKTROMIGRAČNÍCH METOD* [online]. Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6. 1997 [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1997_05_320-329.pdf
- [16] Chempoint. *Kapilární zónová elektroforéza (CZE)* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/kapilarni-zonova-elektroforeza-cze>
- [17] Lékařská chemie a biochemie. *Výzkumné zaměření oddělení lékařské chemie a biochemie* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/vyzkum.htm>
- [18] Elektroforéza. *Kapilární zónová elektroforéza* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/cze/CZE.pdf
- [19] Izotachoforetický analyzátor. *Izotachoforéza, Katedra analytické chemie a zkoušení materiálu, FMMI, VŠB-TU Ostrava* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://katedry.fmmi.vsb.cz/615/izotachoforeza.htm>

- [20] Universitat de València. Characterization and determination of poly(vinylpyrrolidone) by complexation with an anionic azo-dye and nonequilibrium capillary electrophoresis. *Departament de Química Analítica*. 2009, 1216, s. 9014–9021.
- [21] Villa Labeco. *Elektroforetický analyzátor EA 202A* [online]. [cit. 2013-05-20]. Dostupné z: <http://www.villalabeco.sk/>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Kyselina adipová
BII	Beryllon II
CE	Kapilární elektroforéza
CZE	Kapilární zónové elektroforéza
EA	Elektroforetický analyzátor
GA	Kyselina galová
HEC	Hydroxymethylcelulósa
HIS	Histidin
ITP	Izotachoforéza
KČ	Kongo červen
MES	Kyselina morfolinethan sulfonová
MHEC	Methylhydroxyethylcelulósa
PVC	Polyvinylchlorid
PVP	Polyvinylpyrrolidon
SA	Kyselina jantarová
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Polyvinylpyrrolidon [2].....</i>	13
<i>Obr. 2 Vznik PVP [3]</i>	13
<i>Obr. 3 Polymerace PVP ve vodném prostředí [4]</i>	15
<i>Obr. 4: Elektroforetický analyzátor EA 100.....</i>	25
<i>Obr. 5 Elektroforetický analyzátor EA 202 A.....</i>	26
<i>Obr. 6 Záznam křivek Beryllonu II a směsi 1 ml Beryllon II + 5 ml PVP</i>	32
<i>Obr. 7 Záznam křivek Kongo červeně a směsi 1 ml Kongo červeně + 5 ml PVP</i>	33
<i>Obr. 8 Záznam křivek izotachoforetického stanovení pomocí Kongo červeně.....</i>	34
<i>Obr. 9 Záznam křivek izotachoforetického stanovení pomocí Beryllon II</i>	34
<i>Obr. 10 Závislost času vrcholu píku na hnacím proudu I</i>	35
<i>Obr. 11 Záznam separace chloridů při proudu 80 μA</i>	36
<i>Obr. 12 Záznam separace Beryllonu II a směsi 1 ml Beryllonu II + 1 ml PVP při proudu 80 μA</i>	37
<i>Obr. 13 Záznam separace Kongo červeně a směsi 1 ml Kongo červeně + 1 ml PVP při proudu 80 μA</i>	37
<i>Obr. 14 Záznam separace kyseliny galové při proudu 80 μA</i>	38

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. I Rozmezí molekulové hmotnosti jednotlivých specifických kódů [6]</i>	14
<i>Tab. II Příprava směsi PVP + Beryllon II.</i>	32
<i>Tab. III Příprava směsi PVP + Kongo červeně.....</i>	33