

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ
Ústav organické chemie a technologie

Stabilita volných radikálů ve sterilizované oxycelulóze

Bc. Nikola Čapská

Diplomová práce

2018

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
Institute of Organic Chemistry and Technology

Stability of free radicals in sterilized oxycellulose

Bc. Nikola Čapská

Diploma Thesis

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikola Čapská**
Osobní číslo: **C16515**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Technologie organických specialit**
Název tématu: **Stabilita volných radikálů ve sterilizované oxycelulóze**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši o přírodních polymerech. Zaměřte se na materiály vhodné pro medicínální aplikace.
2. Pomocí EPR spektroskopie stanovte obsah volných radikálů ve vzorcích sterilní a nesterilní oxycelulózy.
3. Stabilitu těchto radikálů určete na základě reaktivity se stabilními radikály a vhodnými redoxními činidly.
4. Získaná experimentální data vyhodnoťte a zpracujte.
5. Sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Jan Honzíček, Ph.D.

Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek

Konzultant diplomové práce:

prof. Ing. Jaromír Vinklárek, Dr.

Katedra obecné a anorganické chemie

Datum zadání diplomové práce:

28. února 2018

Termín odevzdání diplomové práce:

11. května 2018



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně s využitím literárních pramenů a informací, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 11. 5. 2018

Bc. Nikola Čapská

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Ing. Janu Honzíčkovi, Ph.D. a také prof. Ing. Jaromíru Vinklárkovi, Dr. za odborné vedení, cenné rady, projevenou trpělivost a čas, který mi při vypracování diplomové práce věnovali. Katedře obecné a anorganické chemie Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice za zázemí pro vykonání práce.

Velké díky patří také mé rodině, příteli a přátelům za nepostradatelnou pomoc a podporu během celého studia.

ANOTACE

Tato diplomová práce pojednává o stabilitě volných radikálů ve sterilizované oxycelulóze. První část práce je věnována poznatkům o přírodních polymerech, jejich vlastnostech, izolaci a použití v průmyslu. Podstatná část je věnována celulóze a jejím derivátům se zaměřením na výrobu, vlastnosti a sterilizaci oxycelulózy. V druhé části je uvedeno studium přítomnosti a stability volných radikálů vznikajících při sterilizaci oxycelulózy γ zářením. Jednotlivé vzorky byly vyhodnocovány EPR spektroskopii.

KLÍČOVÁ SLOVA: biopolymery, celulóza, deriváty celulózy, oxycelulóza, volné radikály, EPR spektroskopie

TITLE

Stability of free radicals in sterilized oxycellulose.

ANNOTATION

This diploma thesis deals with the stability of free radicals in sterilized oxycellulose. The first part is devoted to the knowledge about natural polymers, their properties, isolation and use in industry. The main part is devoted to cellulose and its derivatives with a focus on the production, properties and sterilization of oxycellulose. In the second part there is a study of the presence and stability of free radicals produced by sterilization of oxycellulose with radiation. Individual samples were evaluated by EPR spectroscopy.

KEYWORDS: biopolymers, cellulose, derivatives of cellulose, oxycellulose, free radicals, EPR spectroscopy

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Molekula glukosy a) α -D-glukopyranosa, b) β -D-glukopyranosa.....	16
Obrázek 2. Strukturální jednotky ligninu	17
Obrázek 3. Izomery kaučuku a) <i>cis</i> -polyisopren (přírodní kaučuk) b) <i>trans</i> -polyisopren (gutaperča)	18
Obrázek 4. Molekula bílkovin.....	19
Obrázek 5. Molekula pektinu	22
Obrázek 6. Molekula amylosy.....	22
Obrázek 7. Molekula amylopektinu	23
Obrázek 8. 4-O-methyl-glukuronoxylan	24
Obrázek 9. Galaktoglukomannan	24
Obrázek 10. Molekula celobiózy.....	25
Obrázek 11. Intermolekulární a intramolekulární vodíkové vazby celulózy	25
Obrázek 12. Molekula nitrocelulózy	28
Obrázek 13. Molekula triacetát celulózy.....	29
Obrázek 14. Struktura karboxymethylcelulózy.....	30
Obrázek 15. Struktura methylcelulózy (R = CH ₃) a hydroxymethylcelulózy (R = CH ₂ OH)..	32
Obrázek 16. Molekula oxycelulózy.....	33
Obrázek 17. OKCEL® H-T.....	42
Obrázek 18. OKCEL® H-D	42
Obrázek 19. OKCEL® F	43
Obrázek 20. EPR spektrum nesterilního vzorku oxycelulózy Okcel F.....	49
Obrázek 21. EPR spektra sterilních vzorků oxycelulózy: a) vzorek Okcel F, b) vzorek Okcel H-D, c) vzorek Okcel H-T	50
Obrázek 22. Molekula TEMPOL	50
Obrázek 23. Stanovení integrální intenzity standardu TEMPOL.....	51
Obrázek 24. Stanovení integrální intenzity vzorku oxycelulózy.....	51
Obrázek 25. Oxidovaná forma kyseliny askorbové	55

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Dělení nitrocelulóz podle obsahu dusíku	28
Tabulka 2. Koncentrace volných radikálů v jednotlivých vzorcích OC	52

SEZNAM SCHÉMÁT

Schéma 1. Přeměna celulózy na xanthogenát a dále na regenerovanou celulózu.....	27
Schéma 2. Rovnice výroby acetátu celulózy.....	29
Schéma 3. Homolytické štěpení dibenzoylperoxidu na 2 volné radikály	37
Schéma 4. Oxidačně-redukční iniciace	37
Schéma 5. Fentonova reakce.....	37
Schéma 6. Vznik superoxidu a jeho oxidačně-redukční vlastnosti.....	38
Schéma 7. Vznik kyseliny chlorné.....	39
Schéma 8. Reakce kyseliny chlorné s peroxidem vodíku za vzniku singletového kyslíku	39
Schéma 9. Vznik singletového kyslíku excitací tripletového kyslíku.....	39
Schéma 10. Reakce oxidu dusnatého se superoxidem za vzniku peroxynitritu.....	40
Schéma 11. Rozklad peroxynitritu na hydroxylový radikál a oxid dusičitý	40

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1. EPR spektra a) sterilního vzorku Okcel F 1) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) promytý vodou ($\nu = 9,4126$ GHz), b) nesterilního vzorku Okcel F 1) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) promytý vodou ($\nu = 9,4126$ GHz)	53
Graf 2. Sterilní vzorky Okcel F modifikované roztokem TEMPOL o různé koncentraci: 1) neupravený sterilní vzorek ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4183$ GHz); 3) $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4156$ GHz); 4) $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4156$ GHz, upravený vzorek má 40x menší zesílení než neupravený vzorek)	54
Graf 3. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F 1) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) promytý kyselinou askorbovou ($\nu = 9,4199$ GHz)	55
Graf 4. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F 1) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) promytý thiosíranem sodným ($\nu = 9,4151$ GHz).....	56
Graf 5. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F 1) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), 2) regenerovaný ($\nu = 9,4199$ GHz)	57
Graf 6. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý vodou ($\nu = 9,4232$ GHz).....	63
Graf 7. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý vodou ($\nu = 9,4206$ GHz).....	63

Graf 8. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4157$ GHz).....	64
Graf 9. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4117$ GHz)	64
Graf 10. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4193$ GHz).....	65
Graf 11. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4162$ GHz).....	65
Graf 12. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4164$ GHz).....	66
Graf 13. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4162$ GHz).....	66
Graf 14. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý roztokem kyseliny askorbové ($\nu = 9,4204$ GHz).....	67
Graf 15. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem kyseliny askorbové ($\nu = 9,4198$ GHz).....	67
Graf 16. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4138$ GHz)	68
Graf 17. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4168$ GHz)	68
Graf 18. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D 1) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), 2) regenerovaný ($\nu = 9,4251$ GHz)	69
Graf 19. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) regenerovaný ($\nu = 9,4154$ GHz)	69
Graf 20. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý vodou ($\nu = 9,4154$ GHz)	70
Graf 21. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4154$ GHz).....	70
Graf 22. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4154$ GHz).....	71
Graf 23. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), 2) promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4154$ GHz).....	71
Graf 24. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T 1) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), 2) promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4159$ GHz).....	72

Seznam použitých zkratek

OC	oxidovaná celulóza
ORC	oxidovaná regenerovaná celulóza
EPR	elektronová paramagnetická rezonance
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl
TEMPOL	4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl
ROS	reaktivní formy kyslíku
RON	reaktivní formy dusíku
VR	volné radikály
AK	aminokyseliny
CN	nitrát celulózy
CA	acetát celulózy
CMC	karboxymethylcelulóza
MC	methylcelulóza
HPMC	hydroxymethylcelulóza
BC	bakteriální celulóza

OBSAH

ÚVOD	15
1 TEORETICKÁ ČÁST	16
1.1 Přírodní polymery	16
1.1.1 Polysacharidy	16
1.1.2 Lignin	16
1.1.3 Přírodní polyterpeny	17
1.1.4 Bílkoviny	19
1.1.5 Polynukleotidy.....	21
1.2 Modifikované přírodní polymery	21
1.2.1 Polyuronidy	21
1.2.2 Škrob.....	22
1.2.3 Hemicelulózy.....	23
1.2.4 Celulóza.....	24
1.3 Deriváty celulózy	27
1.3.1 Nitrát celulózy (CN)	27
1.3.2 Acetát celulózy (CA)	29
1.3.3 Karboxymethylcelulóza (CMC)	30
1.3.4 Bakteriální celulóza	31
1.3.5 Methylcelulóza (MC), hydroxymethylcelulóza (HPMC).....	32
1.3.6 Oxidovaná celulóza	32
1.4 Ozařování (sterilizace) materiálu	35
1.5 Volné radikály	36
1.5.1 Vznik a zdroje volného radikálu.....	37
1.5.2 Reaktivní formy kyslíku a dusíku.....	38
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	41
2.1 Použité chemikálie	41

2.1.1 Rozpouštědla a pomocné látky	41
2.1.2 Měřené vzorky	41
2.2 Použité zařízení a pomůcky	43
2.3 Elektronová paramagnetická rezonanční spektroskopie	43
2.4 Stanovení obsahu volných radikálů v modifikovaných vzorcích oxidované celulózy ...	46
2.4.1 Určení vlivu destilované vody na vzorek oxycelulózy.....	46
2.4.2 Určení vlivu kyseliny askorbové na vzorek oxycelulózy	46
2.4.3 Určení stability volných radikálů ve vzorku oxycelulózy pomocí roztoku Tempol	46
2.4.4. Určení vlivu redoxních činidel na vzorek oxycelulózy	47
2.4.5 Určení vlivu kyseliny askorbové při regeneraci vzorku oxycelulózy	47
3 VÝSLEDKY A DISKUZE	49
4 ZÁVĚR	58
5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58

ÚVOD

Přírodní polymery (biopolymery) jsou produkty získávané přirozenou cestou z rostlin či zvířat. Dělíme je na polysacharidy, bílkoviny, polynukleotidy, lignin a polypreny. Biopolymery mají široké spektrum využití a to např. při výrobě papíru, v dřevařském, textilním, farmaceutickém průmyslu, ale i v medicíně aj. Z polysacharidů má největší uplatnění v průmyslu celulóza.^[1]

Polysacharid celulóza je základní stavební jednotkou buněčných stěn u rostlin. Jde o makromolekulární látku s vysokou relativní molekulovou hmotností a elementárním vzorcem $C_6H_{10}O_5$. Základní stavební jednotkou celulózy je glukosa. Celulóza se řadí mezi nejrozšířenější polymer, je to snadno obnovitelný přírodní zdroj a další výhodou je nízká cena.^[1]

Celulóza reaguje jako vícemocný alkohol, jednotlivé -OH skupiny mohou poskytovat chemické reakce jako nitrace, esterifikace, etherifikace, oxidace, a proto poskytují celou řadu organických a anorganických derivátů.^[2,3] Deriváty se používají jako stělný prach, na výrobu celofánu a fólií, v medicíně jako obvazové materiály a bakteriální celulóza atd. Významným derivátem, který se používá ve zdravotnictví jako hemostatický materiál na zástavu krvácení, je oxycelulóza (OC) vzniklá oxidací celulózy. OC se vyznačuje vynikajícími vlastnostmi, které jsou biokompatibilní s lidským tělem. Mezi tyto vlastnosti se řadí snadná odbouratelnost a vstřebatelnost, dále baktericidní působení a také účinky podporující hojení a regeneraci tkáně a okamžitá zástava krve.^[4,5] OC je před použitím sterilizována γ záření, při tomto procesu dochází ke vzniku volných radikálů.

Volné radikály jsou podle definice částice (atom, molekula, iont) schopné samostatné existence, která obsahují jeden nebo více nepárových elektronů. Vyznačují se nestabilní konfigurací, a proto se snaží o získání nepárového elektronu, a tak o doplnění elektronového páru do stabilní konfigurace. Volné radikály mají omezenou dobu existence a vyznačují se poměrně vysokou reaktivitou. Mohou reagovat nejen s ostatními volnými radikály, ale i s intaktními molekulami, které okamžitě mění na radikál a formou řetězové reakce se propagují do okolí.^[6]

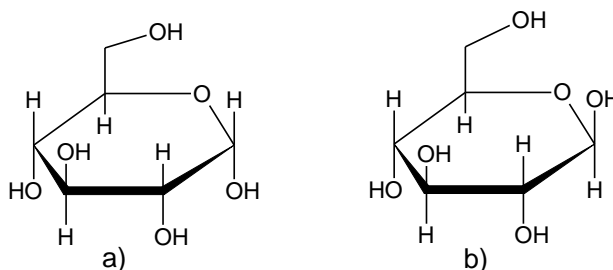
1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Přírodní polymery

Přírodní polymery (biopolymery) se získávají přirozenou cestou z rostlin či zvířat. Dělíme je podle stavebních jednotek na polysacharidy, bílkoviny, polynukleotidy, lignin a polypreny. Mechanismy vzniku a změn makromolekulárních látek v přírodě je velmi složitý, biochemické reakce jsou zvrátané a katalyzované enzymy. Oproti technickým reakcím probíhají pomaleji a v úzkém rozmezí teplot. Řetězce polymerů vznikají polykondenzací.^[1]

1.1.1 Polysacharidy

Jedná se o polymery, které se skládají z mnoha molekul monosacharidů spojených glykosidickými vazbami. Mohou být amorfní. Jsou nerozpustné ve vodě. V přírodě patří mezi látky velmi rozšířené. Mezi nejdůležitější se řadí polysacharidy odvozené od *D*-glukosy na **Obrázku 1**, tedy celulóza a škrob.^[1]



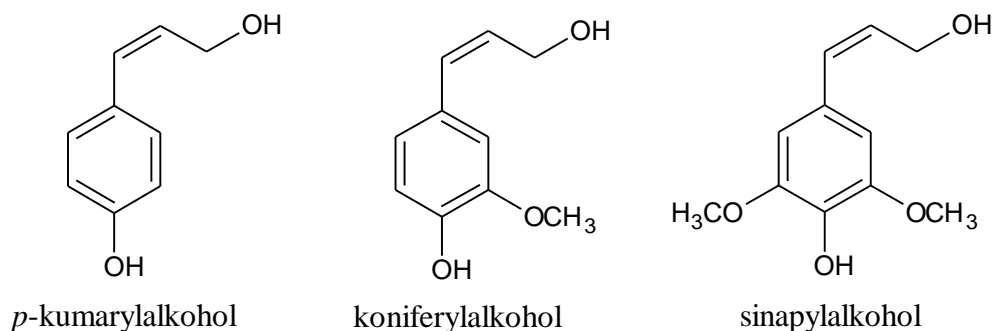
Obrázek 1. Molekula glukosy a) α -*D*-glukopyranosa, b) β -*D*-glukopyranosa ^[1]

1.1.2 Lignin

Amorfní aromatická látka, která je obsažena ve dřevě v množství 15 až 36 %. Zajímavostí je, že v listnatých stromech je obsah ligninu menší než u jehličnatých stromů. Nachází se v buněčných stěnách, kde plní důležité fyziologické funkce. Snižuje propustnost stěn, zlepšuje jejich tvrdost, pevnost, zvyšuje houževnatost a způsobuje dřevnatění buněčných stěn.^[1]

Ze dřeva se izoluje několika způsoby. Protože se snadno chemicky mění vlivem vyšší teploty a chemikálií, nebyla dosud vynalezena metoda, jak izolovat nezměněný lignin. Pravděpodobně je lignin v buněčné stěně spojen chemickými vazbami s polysacharidy. Pro jejich oddělení se využívají dvě metody. V prvním případě se odstraní polysacharidová část a

dále se zpracovává zbylý lignin. Druhá metoda spočívá v rozpuštění ligninu v alkáliích za tepla, kdy nám zbyde polysacharidový podíl.^[1] Tato metoda se v praxi využívá hlavně pro výrobu celulózy, tzv. nátronový a sulfátový způsob výroby. Molekuly ligninu se vyznačují mnohotvárností vazeb, které vznikají mezi strukturálními jednotkami a dále se vyznačují rozvětvenou až částečně zesítenou strukturou. Lignin se skládá z nenasycených alkoholů s *p*-hydroxyfenylpropenovou strukturou, kdy nejvíce se ve struktuře ligninu objevují *p*-kumarylalkohol, koniferylalkohol a sinapylalkohol, znázorněné na **Obrázku 2**.^[7] Podle jednotlivých složek lze rozlišit ligniny jehličnatých dřevin, trav a listnatých dřevin.^[7] Přibližně 25 % z rostlinné biomasy je tvořeno ligninem. Jen velmi nepatrné množství ligninu, který odpadá při výrobě buničiny, se zpracovává chemicky. Zbytek se stále spaluje, a proto je lignin nevyužitou perspektivní sloučeninou.^[1] Lignin se řadí mezi vlákninu spolu s celulózou a hemicelulózou. Napomáhají regulovat tělesnou hmotnost a hladinu energie a dále napomáhají trávení, protože nejsou rozkládány enzymy lidského trávicího systému a jsou v nezměněné formě vylučovány stolicí.^[8]

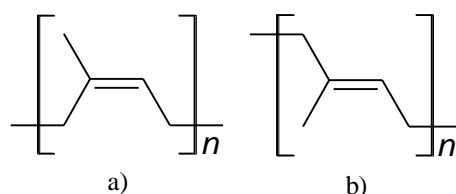


Obrázek 2. Strukturální jednotky ligninu

1.1.3 Přírodní polyterpeny

Mezi přírodní polypreny se řadí kaučuk, gutaperča a balata. Jejich základním stavebním monomerem je polyisopren. Ten se vyskytuje ve dvou konfiguracích, *cis*-polyisopren, který je elastičtější a *trans*-polyisopren, který snáze tvoří lineární řetězce a je méně elastický. Jednotlivé konfigurace jsou zobrazené na **Obrázku 3**.^[9] Přírodní polyisopreny se nachází u některých vyšších rostlin v podobě latexu-mléčné šťávy. Latex je obsažen v trubkových buňkách, které jsou uložené v kůře vně kambia. Latex je bílá kapalina, která je tvořená suspenzí kaučukových částic o velikosti do 3 μm ve vodném prostředí. Sušina latexu obsahuje

cca 90 % kaučukového polymeru. pH přírodního latexu je obvykle kolem 7, ale expozicí na vzduchu se pH mění na 5 a dochází k samovolné koagulaci. Proti ní se latex stabilizuje amoniakem či jinými činidly. Přírodní kaučuk se izoluje z kaučukovníku brazilského (*Hevea brasiliensis*). Nejpoužívanější metodou izolace kaučuku je srážení kyselinou mravenčí nebo octovou.^[1] Jednotlivé sražené bloky se nejprve vyperou vodou, dále se ždímají pomocí válců a zpracovávají se vícedenním uzením při teplotě 40 až 50 °C na tzv. uzený kaučuk. Kaučuk získaný samovolnou koagulací je hlavně poly(1,4-*cis*-isopren), který je smíšený s malým množstvím lipidů, proteinů a jiných složek. Jednotlivé polypreny se liší fyzikálními vlastnostmi. Řetězec vlastního kaučuku-poly(1,4-*cis*-isoprenu) se skládá z 4 500 až 7 400 stavebních jednotek. Nejvýznamnější vlastností kaučuku je jeho elasticita. V amorfním stavu jsou molekuly neuspořádané, ale natahováním se orientují podle směru deformace a vytvářejí krystalické oblasti. Jakmile přestane působit deformační síla, kaučuk se navrátí zpět do amorfního stavu. Poly(1,4-*trans*-isopren) se nazývá gutaperča nebo balata, tyto isomery jsou méně elastické. Gutaperča ve své struktuře obsahuje cca 80 % poly(1,4-*trans*-isoprenu), zbytek je tvořen pryskyřicí. Gutaperča je izolována z perčovníku pravého (*Palaquium gutta*). Dříve se využívala k výrobě izolací pro podmořské kabely. Naopak balata se vyznačuje tím, že se v její struktuře nachází pouze 50-60 % poly(1,4-*trans*-isoprenu) a zbytek je tvořen pryskyřicí. Balata se izoluje z manilkary dvojzubé (*Manilkara bidentata*). Jde tedy o levnější variantu, která nemá tak dobré vlastnosti jako kaučuk či gutaperča. Dříve se balata užívala k výrobě golfových míčků. Krystalický poly(1,4-*trans*-isoprenu) se může nacházet ve formě α , která je planární. Vyznačuje se tím, že je termodynamicky stabilní a její bod tání je 74 °C. Jejím zahřátím nad teplotu 68 °C a rychlým ochlazením dojde k přechodu na formu β (neplanární), jejíž bod tání je 64 °C. Polyisopreny jsou s dalšími látkami součástí produktu chicle gum ze stromu *Achros sapota* a používají se na výrobu žvýkacích gum. Jednou z nejvýznamnějších reakcí kaučuku je jeho vulkanizace, kdy dochází k zesíťování řetězců.^[7]



Obrázek 3. Izomery kaučuku a) *cis*-polyisopren (přírodní kaučuk) b) *trans*-polyisopren (gutaperča)

1.1.4 Bílkoviny

Makromolekulární látky, které jsou složené z aminokyselin (AK) spojených amidovými vazbami.^[1] Bílkoviny jsou jednou ze základních složek živých organismů a jsou velmi důležité pro většinu životních dějů. Téměř polovina sušiny živých organismů je tvořena bílkovinami a každý druh obsahuje své určité typy bílkovin. Jejich vlastnosti jsou ovlivněny nejen chemickým složením, ale i prostorovým uspořádáním. Bílkoviny se mohou v živých organismech vyskytovat i ve spojení s dalšími složkami.^[7] Bílkoviny se na rozdíl od ostatních přírodních polymerů neskládají pouze z jedné nebo několika základních složek, ale jsou složené z více než 20 různých α -aminokyselin, které mají vždy konfiguraci *L*. Jako peptidy se označují ty kopolymery, jejichž obsah aminokyselin je méně než 50, jako bílkoviny jsou označovány kopolymery s vyšším polymeračním stupněm. Molekulová hmotnost bílkovin má tedy široký rozsah od spodní hranice $5 \cdot 10^{-3}$ až po milióny. Díky obrovské strukturní variabilitě mohou bílkoviny plnit různé funkce v organismech. Strukturu bílkovin dělíme podle jejich organizovanosti.^[1]

Primární struktura nám říká o vazbách, které spojují jednotlivé aminokyseliny. Z primární struktury získáme informace o složení a pořadí jednotlivých AK v řetězci, o počtu řetězců v jedné molekule a dále informace o počtu a povaze příčných vazeb, které spojují jednotlivé řetězce. Kyselou hydrolyzou se pak zjistí celkové složení aminokyselin bílkoviny. Postupným enzymatickým štěpením proteolytickými enzymy se určuje pořadí, v jakém jsou jednotlivé AK vázány v řetězci.^[1] V každém řetězci se nachází jedna volná koncová α -aminoskupina a jedna volná karboxylová skupina, znázorněno na **Obrázku 4**.^[1]



Obrázek 4. Molekula bílkovin

Sekundární struktura popisuje prostorové uspořádání několika peptidických vazeb v řetězci. Popisuje také ostatní vazby-vodíkové, kovalentní či iontové, které jsou součástí jednotlivých částí makromolekuly a které pomáhají udržet sekundární strukturu. Elektrostatické přitažlivé síly-solné můstky také pomáhají udržet sekundární strukturu bílkovin a zároveň způsobují stáčení jednotlivých řetězců do spirálového uspořádání (do pravotočivé šroubovice- α -helix) a do uspořádání tzv. složených listů. Terciární struktura vyjadřuje prostorové uspořádání a kvartérní struktura vyjadřuje uspořádání makromolekul do větších celků. Bílkoviny mění se vlastnosti působením chemických činidel nebo působením vyšší teploty-denaturace bílkovin.

Bílkoviny můžeme dělit např. podle tvaru molekuly na vláknité a kulové. Vlákňité (fibrilární) bílkoviny zaujímají různou strukturu. Strukturu α -helix je možné natáhnout až na dvojnásobek její délky a je elastická. Mezi fibrilární proteiny se strukturou šroubovice můžeme zařadit kreatiny vlny, kolagen, fibrinogen a svalový protein myosin. Naopak struktury skládaného listu jsou velmi pevné a málo tažné a peptidické vazby u nich leží v jedné rovině. Mezi proteiny se zřasenou strukturou patří hedvábí či keratin ptačího peří.^[1] Mezi kulové (globulární) bílkoviny můžeme zařadit insulin, bílkoviny krevní plasmy, vaječné a mléčné bílkoviny.^[1]

Dále můžeme bílkoviny dělit z chemického hlediska na jednoduché a složené bílkoviny. Složené bílkoviny obsahují kromě bílkovinné složky i další jiné např. cukry, nukleové kyseliny, lipidy aj.^[1]

Jednoduché proteiny lze rozštěpit hydrolyzou na základní AK. Tyto bílkoviny se dále dělí podle rozpustnosti ve vodě a v roztocích solí na rozpustné (sferoproteiny) a na nerozpustné (skleroproteiny). Rozpustné bílkoviny mají většinou tvar kulový nebo kotoučovitý a řadí se mezi ně např. albuminy z bílku, mléka či krevního séra. Nerozpustné bílkoviny se vyznačují řídké zesítenou strukturou. Mezi tuto skupinu se řadí technicky významné bílkoviny, sloužící jako podpůrné látky v přírodních materiálech. Jedná se o kolageny a dále kreatiny, které rozdělujeme na α a β formu. Mezi α -keratiny patří např. vlasy a vlna. Mezi β -keratiny se řadí např. hedvábný fibroin. Technicky využívanými bílkovinami jsou keratiny, které tvoří základ pro vlasy, srst, vlnu, peří, nehty, hedvábí atd. Keratiny se liší sekundární strukturou, α -keratinu odpovídá konformace šroubovice, naopak β -keratin má strukturu složených listů. Nejvíce se keratin využívá v textilním průmyslu a pro výrobu plstí. Nejvýznamnější z keratinových bílkovin je vlna, která ve své struktuře obsahuje cystin. Cystin je AK, která ale nepatří mezi základní AK. Vyznačuje se další funkční skupinou. Jedná se tedy o dvě molekuly cysteinu spojené vazbou S-S, což umožní větvení řetězce a jednotlivé můstky pak způsobí, že vlněné vlákno je nerozpustné. Dále stojí za zmínku fibroin, jež je důležitou složkou přírodního hedvábí. Fibroin ve své molekule nemá cystin, a proto nemá příčné vazby.^[1]

Další technicky významnou bílkovinou je kasein. Kasein je obsažen v mléce, získává se vysrážením kyselinami nebo enzymaticky z mléka. V technické praxi se využívá převážně pro výrobu lepidel na dřevo a papír a dále pro výrobu vláken a plastů.^[1]

Kolageny, které patří mezi živočišné bílkoviny, se také využívají v technické praxi. Kolageny jsou velmi pevné, ale mají malou schopnost deformace. Mezi významnou technickou

surovinu se řadí kolagen zvířecích kůží, který se používá v kožedělném a obuvnickém průmyslu.^[7]

1.1.5 Polynukleotidy

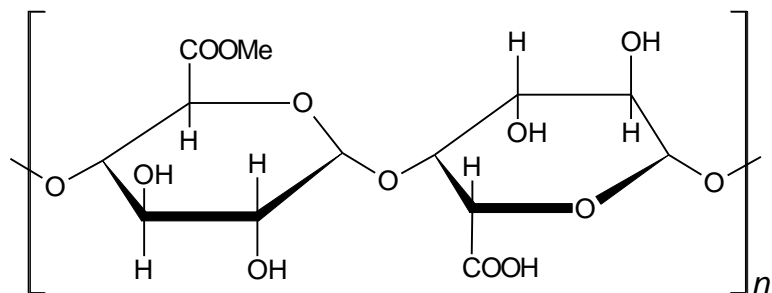
Polynukleotidy neboli nukleové kyseliny se skládají z kyseliny fosforečné, z cukerné části, kterou tvoří deoxyribóza (DNA) a ribóza (RNA) a z bází. Polynukleotidy se vyskytují v různých biologických materiálech. Relativní molekulová hmotnost u DNA se pohybuje v řádech milionu, naopak u RNA leží v rozmezí 20 000-100 000. Nukleobáze, které jsou navázané na cukernou složku, jsou purinové (adenin, guanin) a pyrimidinové (uracil, thymin, cytosin). Jako nukleosidy se označují sloučeniny vzniklé spojením bází s cukry. Jako nukleotidy označujeme estery nukleosidů s kyselinou fosforečnou. Jednotlivé nukleotidy jsou v molekule nukleových kyselin spojeny přes C₃ a C₅ uhlíky cukerných zbytků. Pro biologickou funkci je důležité pořadí jednotlivých nukleotidů v řetězci. DNA je v živých organismech nosič genetické informace. RNA je důležitá pro syntézu proteinů.^[1]

1.2 Modifikované přírodní polymery

1.2.1 Polyuronidy

Molekuly polysacharidu, které ve své struktuře obsahují jednu nebo více uronových kyselin např. *D*-galakturonová kyselina, *D*-glukuronová kyselina aj. Tyto látky se nacházejí v rostlinných tkáních, tvoří mezibuněčná adheziva. Díky existenci karboxylových skupin v molekule získaly polyuronidy vlastnosti polyelektrolytů. Do této skupiny se řadí pektiny, algináty a dřevné gumy.^[1]

Pektiny se vyznačují tím, že jejich základní složkou je kyselina *D*-galakturonová a jednotlivé jednotky jsou spojeny α -1,4-glykosidickou vazbou, což je znázorněno na **Obrázku 5**.^[1] V průmyslu se získávají z nezralého ovoce a slouží k výrobě zahušťovadel a želatinačních přísad v potravinářství či farmacii.^[1]

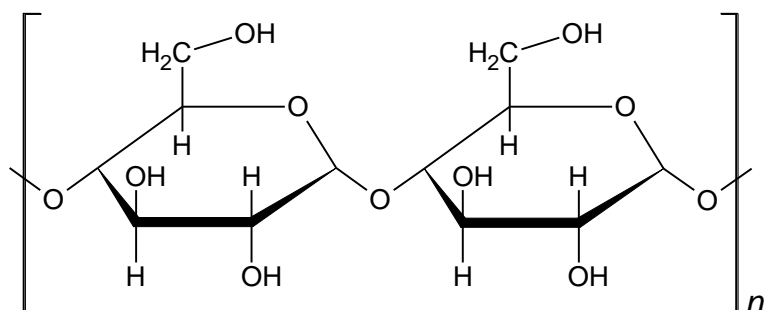


Obrázek 5. Molekula pektinu

Algináty jsou hojně obsaženy v řasách a jedná se o soli alginové kyseliny. Samotná alginová kyselina je složena z α -L-guluronové a β -D-mannuronové kyseliny, které jsou spojené 1,4-glykosidickou vazbou. V podobě alginátu sodného se využívají jako stabilizátor a zahušťovadlo vodných disperzí.^[1]

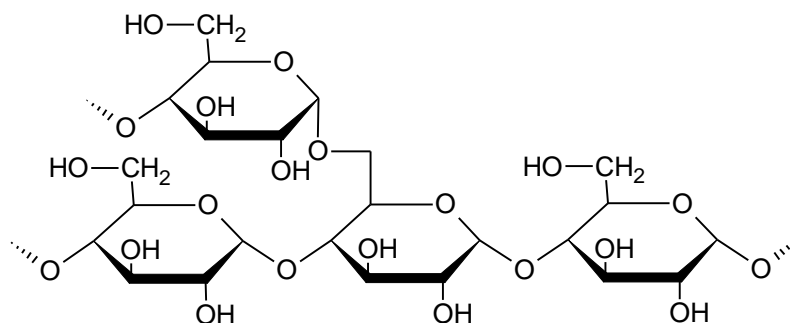
1.2.2 Škrob

Škrob je polysacharid, který slouží jako rezervní látka a hromadí se v některých orgánech rostlin. Amylosa, na **Obrázku 6**,^[7] a amylopektin, na **Obrázku 7**,^[7] jsou dva strukturně odlišné polysacharidy, které se liší rozpustností, a dohromady tvoří základní stavební jednotku škrobových zrn. Amylosa se vyznačuje lineární strukturou a je rozpustná v horké vodě, naopak amylopektin je rozvětvený a nerozpustný v horké vodě. Na rozdíl od celulózy se jedná o poly(α -D-glukosy). Obsah amylosy je cca 20 % a zbytek je tvořen amylopektinem. Relativní molekulová hmotnost amylosy závisí na typu škrobu a pohybuje se v širokém rozmezí $M_r = 150\,000$ až $1\,100\,100$.^[1]



Obrázek 6. Molekula amylosy

Amylopektin se štěpí převážně na maltosu, glukosu a dextriny. V molekule amylopektinu připadá na jedno rozvětvení 18 až 26 glukosových jednotek. Amylopektin má větší relativní molekulovou hmotnost než amylosa a to řádově 10^5 až 10^6 .^[1]



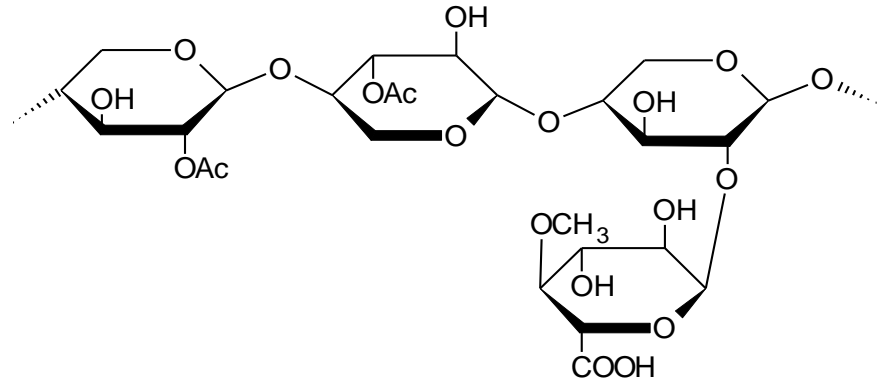
Obrázek 7. Molekula amylopektinu

Molekuly amylopektinu i amylosy se shlukují a vytvářejí klubíčkové útvary. Škrob ve vodě a za tepla bobtná. Naopak ve studené vodě jsou nativní škroby nerozpustné. Zahříváním vodného roztoku dojde k bobtnání škrobových zrn, která přecházejí po delším zahřívání při teplotě 56-72 °C do koloidního roztoku zvaném škrobový maz. Ochlazením tohoto mazu vznikne gel, který se chová jako neneutonská kapalina s vysokou viskozitou. Mezi chemické reakce, kterým škrob podléhá, patří hydrolýza, oxidace, termické a mechanické odbourávání. Výsledkem neúplné hydrolýzy škrobu jsou dextriny, které jsou rozpustné ve studené vodě a v průmyslu se nejvíce používají při výrobě lepidel, papíru, textilu a dále ve farmacii.^[1,7]

1.2.3 Hemicelulózy

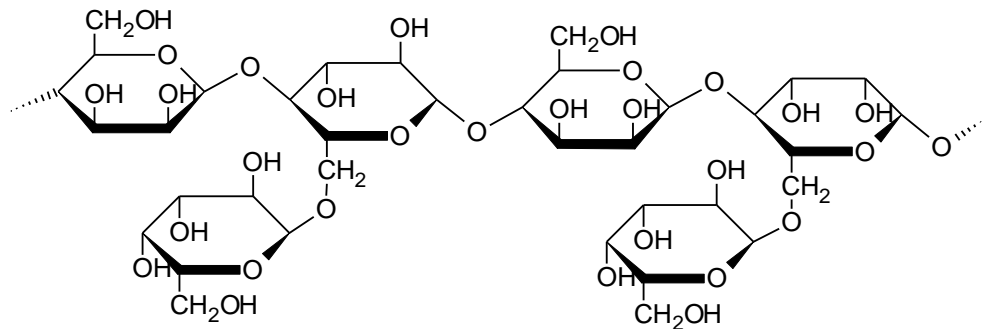
Jako hemicelulózy se označují polysacharidy, které společně s celulózou tvoří polysacharidickou část dřeva. Tyto polysacharidy mají oproti celulóze menší relativní molekulovou hmotnost a mají nižší polymerační stupeň (100-200). Od celulózy se liší dále tím, že jsou lépe rozpustné v roztocích zředěných alkalických hydroxidů a jsou lépe hydrolyzovatelné kyselinami. Vyznačují se lineární strukturou s kratšími postranními řetězci. Jejich molekuly jsou sestaveny z několika různých základních stavebních jednotek, zejména z hexóz, pentóz, uronových kyselin a dalších stavebních látek. Ve dřevu je obsah hemicelulóz přibližně 17 až 41 % hmotnosti sušiny, obsah jednotlivých hemicelulóz závisí na typu dřevin. Lignin s hemicelulózu jsou v dřevinách vázány etherovými vazbami. Hemicelulózy můžeme dělit podle stavebních jednotek na xylany, mannany a galaktany.^[1]

Xylany patří mezi hlavní hemicelulózy listnatých stromů, ale jsou také součástí dřev jehličnanů. Ve dřevě se nachází více druhů různých xylanů např. 4-O-methyl-glukuronoxylan zobrazený na **Obrázku 8**.^[1]



Obrázek 8. 4-O-methyl-glukuronoxylan

Glukomannany a galaktomannany (**Obrázek 9**) jsou nejvíce rozšířenými zástupci mannanů. Nachází se hlavně v hemicelulózách jehličnanů, ale také je můžeme najít v menším zastoupení u listnatých stromů.^[1]

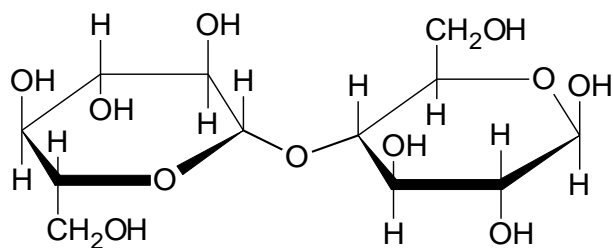


Obrázek 9. Galaktoglukomannan

1.2.4 Celulóza

Polysacharid celulóza je základní stavební jednotkou buněčných stěn u rostlin. Jde o makromolekulární látku s vysokou relativní molekulovou hmotností a sumárním vzorcem $C_6H_{10}O_5$. Základní stavební jednotkou celulózy je glukosa. Ta se spojuje do celulózových řetězců lineárně přes β -1,4-glykosidickou vazbu. Za základní strukturní jednotku je považován disacharid celobióza, který je složený ze dvou glukózových jednotek spojených β -

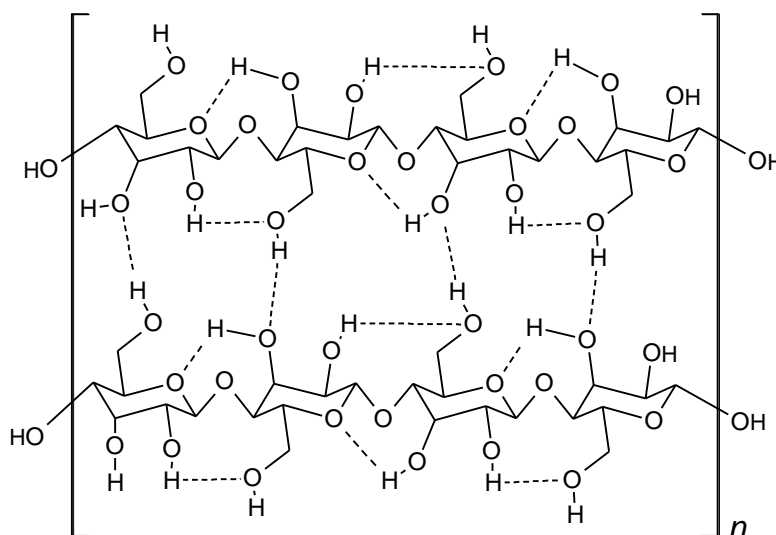
1,4-glykosidickou vazbou. Celobióza je znázorněna na **Obrázku 10** a získává se jako produkt hydrolytického štěpení celulózy.^[1]



Obrázek 10. Molekula celobiózy

Molekulová hmotnost celulózy není jednotná. To je dáno způsobem izolace a původem jednotlivé celulózy, např. sulfitová buničina má molekulovou hmotnost $0,6 \cdot 10^6$ g/mol, viskózní vlákna mají molekulovou hmotnost $0,23 \cdot 10^6$ g/mol a bavlna 1,78 až $2,43 \cdot 10^6$ g/mol.^[1]

Z energetického hlediska celulóza upřednostňuje židličkovou konformaci před vaničkovou. Jednotlivé řetězce jsou v molekule celulózy spojeny intermolekulárními a intramolekulárními vodíkovými vazbami, které jsou zobrazeny na **Obrázku 11**. Tyto vazby způsobují tuhost a nerozpustnost celulózy ve vodě a v běžných rozpouštědlech.^[1]



Obrázek 11. Intermolekulární a intramolekulární vodíkové vazby celulózy^[11]

Delignifikační dřev a rostlinných materiálů se získává produkt zvaný buničina. Ta obsahuje kromě celulózy malé množství hemicelulóz a zbytky ligninu. Podle obsahu celulózy

v buničině se dělí na: α -celulózu, která není rozpustná v roztoku NaOH o koncentraci 17,5-18 %, β -celulózu, která je naopak rozpustná v roztoku NaOH o koncentraci 17,5-18 % a dále na γ -celulózu, která také není rozpustná v roztoku NaOH o koncentraci 17,5-18 % a navíc obsahuje největší podíl hemicelulóz.^[1,7]

Celulóza je nerozpustná ve vodě a v běžných rozpouštědlech, což je způsobeno silnými mezimolekulárními vazbami a vysokou krystalinitou. Mezi rozpouštědla, v nichž je celulóza rozpustná, můžeme zařadit roztoky mědi s amoniakem nebo s aminy, dále tzv. Schweizerovo činidlo neboli hydroxid tetraaminměďnatý. Dále mezi látky rozpouštějící celulózu patří vodné roztoky komplexních sloučenin Zn, Co, Ni a Cd s amoniakem nebo amidy. Celulóza se také rozpouští v roztoku NaOH podle jeho koncentrace. Jestliže je roztok NaOH o koncentraci 10 %, pak se v něm rozpouští pouze regenerovaná celulóza. Nativní celulóza je nerozpustná, pouze nabobtná a přechází v hydrát celulózy.^[1]

Uspořádání molekul ve vláknech je pravděpodobně rovnoběžné s osou vláken, ale zčásti i volné. Vytvářejí se jednotlivé mikrofibrily, jejichž průměr je 3,5 až 4 μm . Tyto mikrofibrily se dále spojují do fibril a vytvářejí buněčnou stěnu. Celulóza se tedy vyskytuje jak v amorfni, tak v krystalické podobě, což ovlivňuje její reaktivitu. Reakce v krystalické oblasti probíhají pomaleji než v amorfni. Navíc je celulóza netavitelná, protože dochází k tepelné degradaci dřívě, než začne celulóza tát.^[1]

Řetězec obsahuje na jednom konci redukující aldehydickou skupinu na C_1 a na druhém konci neredukující glukopyranózovou jednotku, která obsahuje 4 skupiny-OH. Skupina OH na C_6 uhlíku a další jiné OH skupiny v molekule celulózy mohou mít vliv na fyzikální, chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti celulózy. Navíc nedochází k hydrolyze celulózy, ale k jejímu bobtnání ve vodě.^[11]

Kromě nativní celulózy, která se vyznačuje tím, že je co nejméně chemicky upravená, se v praxi hojně využívá regenerovaná celulóza. Ta se vyrábí z nativní celulózy takovým způsobem, kdy se nejprve celulóza převede na rozpustnou formu, roztok je dále regenerován na vlákno nebo na fólii. Tato regenerovaná celulóza se vyznačuje nižší molekulovou hmotností, jiným polymeračním stupněm a nadmolekulární stavbou, než má nativní celulóza. Chemické složení obou celulóz ale zůstává stejné. Ze speciálních rozpouštědel, které převedou celulózu na roztok se v praxi nejvíce využívá hydroxid tetraaminměďnatý, dále se využívá přeměněná celulóza v xanthogenát, která je zobrazena ve **Schématu 1**.^[1,7]

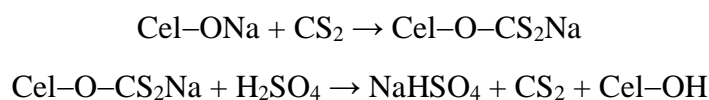


Schéma 1. Přeměna celulózy na xanthogenát a dále na regenerovanou celulózu

Při této reakci reaguje alkaliceľulóza se sirouhľíkem za vzniku xanthogenátu. Získaný produkt je rozpustný ve zředěném roztoku hydroxidu sodného, následně vznikne roztok nazývaný viskóza. Tento roztok je homogenní a koloidní. Poté dochází k tzv. zrání roztoku, to znamená, že se z molekuly uvolní některé thiolthiokarbonátové skupiny. Následuje reakce vyzrálého roztoku s vodným roztokem H_2SO_4 a Na_2SO_4 . Dochází k regeneraci celulózy v podobě vlákn, které se jmenuje viskóзовé vlákno.^[1]

Celulóza má hojně zastoupení v řadě průmyslových odvětví. Nejvíce se celulóza využívá v papírenském a textilním průmyslu. Její deriváty se využívají jako umělá vlákna a viskóza se využívá k výrobě celofánu a umělého hedvábí. Derivát nitrocelulóza se nejčastěji využívá pro výrobu výbušnin a třaskavin a je znám také pod názvem střelná bavlna.^[12] V současnosti je celulóza a její derivát oxidovaná celulóza využíván jako obvazový materiál a vata. Celulóza je pro většinu živočichů nestravitelná, neboť nemají enzymy, které by rozštěpili β -1,4-glykosidickou vazbu. Proto vytváří vlákninu, která se dostane až do tlustého střeva zcela neporušena a společně se střevními bakteriemi mechanicky pročistí střevo.^[13] Celulóza se dále využívá ve farmaceutickém průmyslu jako pojivo a plnidlo léčiv a v lékařství jako bakteriální mikrokrystalická celulóza.^[1,7]

1.3 Deriváty celulózy

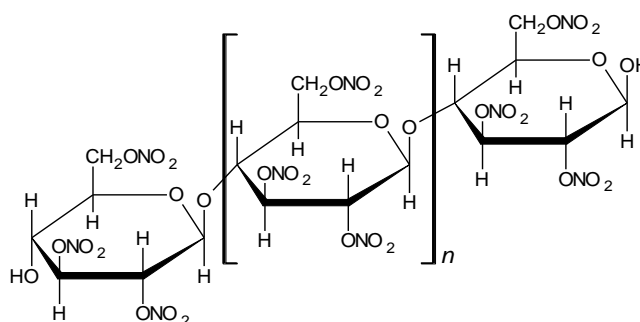
Celulóza reaguje jako vícefunkční alkohol, jednotlivé -OH skupiny mohou poskytovat chemické reakce jako nitrace, esterifikace, etherifikace, oxidace, a proto poskytují celou řadu organických a anorganických derivátů.^[2,3] Estery celulózy se vyznačují charakteristickými vlastnostmi, díky nimž jsou velmi využívanou surovinou v řadě průmyslových odvětví. Mezi tyto vlastnosti se například řadí vysoká houževnatost, odolnost proti vzniku trhlin, rychlá ztráta elektrostatického náboje atd. Estery se snadno kombinují s různými přísadami. Nejvýznamnější z esterů jsou nitrát a acetát celulózy.

1.3.1 Nitrát celulózy (CN)

Jedná se o ester celulózy a kyseliny dusičné, známý pod názvem nitrocelulóza, zobrazen na **Obrázku 12**. Pro její výrobu se využívá směs zředěné kyseliny dusičné a kyseliny sírové.

Esterifikace probíhá v heterogenní fázi jako rovnovážná reakce. Vznikající ester se nerozpouští, a proto získáme produkt, který si zachoval vláknitou strukturu celulózy. Vlastní esterifikace probíhá přibližně půl hodiny při teplotách 30 až 45 °C. Produkt nitrace se odstředí, promyje se vodou, nakonec se stabilizuje povařením s vodou. Nakonec je produkt znovu odstředěn a lisuje se.^[14]

Při úplné esterifikaci, tedy za podmínek, kdy dojde k esterifikaci všech hydroxylových skupin celulózy, by měl být obsah dusíku v produktu 14,14 %. V praxi ale vznikají produkty, jejichž obsah dusíku je nižší cca 10,5 až 12,5 %. Ve výbušninách se obsah dusíku pohybuje kolem 13,5 %.^[15]



Obrázek 12. Molekula nitrocelulózy

Podle obsahu dusíku rozlišujeme různé typy nitrocelulózy, jejich rozdílné vlastnosti jsou také dané molekulovou hmotností. V **Tabulce 1** je znázorněno rozdělení jednotlivých nitrocelulóz.

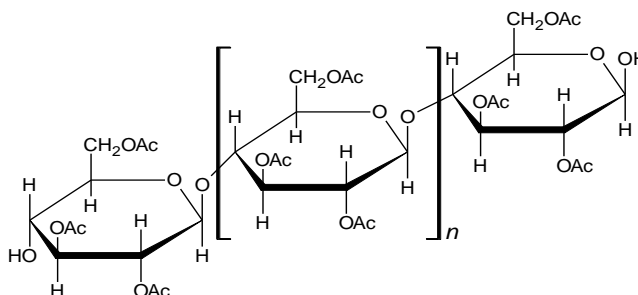
Tabulka 1. Dělení nitrocelulóz podle obsahu dusíku ^[14]

Typ CN	Obsah dusíku %	Rozpouštědlo	Použití
A	10,5 – 11,5	ethanol	celuloid, nátěrové hmoty
M	11,2 – 11,7	ethanol, estery, ketony,	-
E	11,8 – 12,5	Dtto	nátěrové hmoty, lepidla
	12,0 – 13,5	-	bezdýmé prachy

Nitrát celulózy se používá k výrobě celuloidu. Jedná se o termoplast tvořený nitrátem celulózy a změkčovadlem. Jako změkčovadlo se převážně používá kafr. Celuloid lze snadno opracovat, velmi dobře se barví. Bohužel je celuloid vysoce hořlavý a jeho výroba je velmi náročná a pracná. Využívá se například k výrobě obrouček brýlí, toaletních potřeb, míčků na stolní tenis atd.^[14,15]

1.3.2 Acetát celulózy (CA)

Acetát celulózy je ester celulózy a kyseliny octové a je zobrazen na **Obrázku 13**.^[14]



Obrázek 13. Molekula triacetát celulózy

Přímá esterifikace celulózy do třetího stupně je možná pouze kyselinou mravenčí. Vznikne derivát, který je nestabilní. Pokud je použita pro esterifikaci silná anorganická kyselina, tak dochází k rozrušení celulóзовého řetězce. Stejný případ nastane, pokud provádíme esterifikaci za zvýšené teploty. Pokud se použijí pro esterifikaci jiné karboxylové kyseliny, je produktem acetát s nízkým esterifikačním stupněm. V praxi se pro esterifikaci využívá směs kyseliny octové a acetanhydridu za katalýzy kyselinou sírovou.^[16]

V prvním kroku reaguje celulóza s kyselinou sírovou. Vznikne sulfát, který je nestabilní a podléhá reesterifikaci kyselinou octovou nebo acetanhydridem. Vše je naznačeno ve **Schématu 2**.^[14]

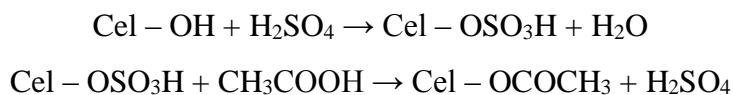


Schéma 2. Rovnice výroby acetátu celulózy

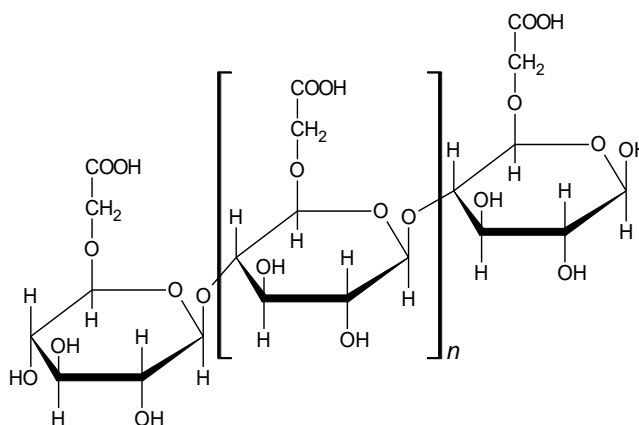
Během reakce dochází k porušení vláknité struktury a je tedy potřeba CA převést do roztoku. To se nejčastěji provádí bezvodou kyselinou octovou a hlavně methylenchloridem. V praxi se velmi často postupuje tak, že se celulóza nejprve nechá nabobtnat v kyselině octové. Tím dojde k její aktivaci. K takto připravené celulóze se postupně přidává kyselina octová, acetanhydrid, methylenchlorid a katalytické množství kyseliny sírové. Esterifikace probíhá za pokojové teploty do doby, než se rozpustí všechna celulózová vlákna.^[14] Jednotlivé CA se od sebe liší nejen molekulovou hmotností, ale také obsahem vázané

kyseliny octové. Obsah kyseliny octové také ovlivňuje rozpustnost CA, dále její vodovzdornost a zpracovatelnost.^[14]

Acetáty jsou látky bezbarvé, s dobrou tepelnou vodivostí, jsou samozhášivé, stálé na světle a transparentní. Díky vysoké tepelné odolnosti a vysoké elektrické pevnosti se triacetáty využívají pro výrobu elektroizolačních fólií. Dále se acetáty používají k výrobě hraček, telefonních přístrojů, kartáčků atd.^[14]

1.3.3 Karboxymethylcelulóza (CMC)

Karboxymethylcelulóza se řadí mezi ethery celulózy. Je zobrazena na **Obrázku 14**. Je jedním z nejpoužívanějších etherů. Vznikne navázáním karboxymethyl skupiny na jednu z volných hydroxylových skupin, které se nacházejí v molekule celulózy. Výroba tohoto derivátu spočívá v rozpuštění celulózy ve směsi ethanol, voda, aceton. Následně je celulóza vysrážena roztokem hydroxidu sodného. V dalším kroku dojde k reakci připraveného substrátu s kyselinou chloroctovou za vzniku derivátu.^[17] Podle množství substituovaných hydroxylových skupin se určují fyzikální vlastnosti CMC. Tím, že se do struktury vnesou karboxylové skupiny, které se vyznačují polárním charakterem, se změní některé vlastnosti celulózy a následný derivát je pak rozpustný ve vodě a zároveň se zvýší jeho chemická reaktivita. Technická karboxymethylcelulóza se používá při výrobě čistících prostředků a také papíru. Jejím čištěním se získává čistá CMC. Ta je netoxická, nezpůsobuje alergie a vyznačuje se značnou viskozitou. Díky těmto vlastnostem se využívá v potravinářském průmyslu k zahuštění a ke stabilizaci emulzí. Označuje se jako E 466.^[18] Přidává se také do léčiv a zubních past.



Obrázek 14. Struktura karboxymethylcelulózy

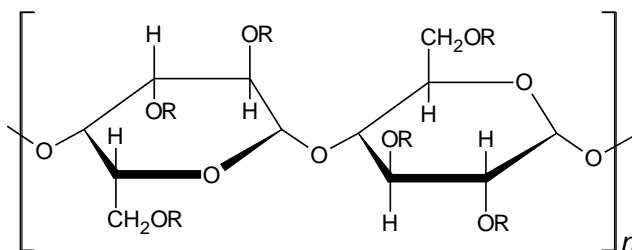
1.3.4 Bakteriální celulóza

Významným derivátem využívaným také v medicíně je bakteriální celulóza. Poprvé byla bakteriální celulóza syntetizována pomocí bakterie *Acetobacter xylinum* panem Brownem roku 1886. Jednalo se o bakterie octového kvašení, které v bohaté 3D struktuře celulózových vláken používali za aerobních podmínek jako zdroj uhlíku jednotky glukosy. *Acetobacter xylinum* byl nejúčinnějším a nejvíce zkoumaným producentem, který byl následně v rámci rodu reklasifikován na *Glukonacetobakter xylinus*.^[19]

Z hlediska kompozice je bakteriální celulóza polymer, který je podobný celulóze rostlin, navíc se vyznačuje vynikajícími fyzikálně-chemickými vlastnostmi. BC má dobře uspořádanou 3D síť vláken s průměrem v rozmezí od 3,0 do 3,5 μm. Tyto vlákna jsou dále sestaveny do tenčích svazků celulózových vláken o průměru mikro a nanometru. Oproti rostlinné celulóze neobsahuje BC ve své molekule lignin a hemicelulózy. I přes silnou interakci hydroxylových skupin mají BC vlákna silnou tendenci se samovolně sestavovat. Rozšířená síť je vidět jak přes intermolekulární, tak i přes intramolekulární vodíkové vazby a umožňuje výrobu fólií s velkým povrchem a pórovitostí. BC se vyznačuje vysokou čistotou a vysokou krystalinitou. Mezi další vlastnosti BC patří dobrá chemická stabilita, schopnost zadržovat vodu a vynikající mechanické vlastnosti, mezi které se řadí i schopnost tvarovatelnosti během výroby. Díky této vlastnosti může být vyrobena téměř v jakémkoli tvaru a využívá se tedy jako zcela biokompatibilní polymer. Jako biopolymer se používá hlavně proto, že struktura BC má mnohem lepší aspekt než rostlinná celulóza a tento biomateriál má své využití v různých oblastech. Využívá se proto například jako biomateriál pro umělé kůže, pro umělé krevní cévy a mikrováčky, dále jako obvaz na rány nebo na popáleniny třetího stupně a zubní implantáty. Používá se nejen jako matice, ale i v modifikovaných stavech. Mezi materiály využívající také BC se řadí např. kolagen, želatina, fibroin, propolis, chitosan, stříbro, alginát, hydroxyapatit, BC nanowiskery pro zpevnění materiálů, BC se také využívá v kompositech a nanomateriálech. Dále se mohou využívat kromě obvazů na rány jako tzv. lešení, nebo jako matrice pro dodávání léků, jako kardiovaskulární implantáty, pro opravu kostních a pojivových tkání, dále jako implantáty chrupavky a menisku a také zubní implantáty či neurální implantáty. Využívají se také jako náhrada močových trubíc a jako tympanická membrána. Další využití má BC při výrobě kontaktních čoček nebo jako umělá náhrada rohovky.^[19]

1.3.5 Methylcelulóza (MC), hydroxymethylcelulóza (HPMC)

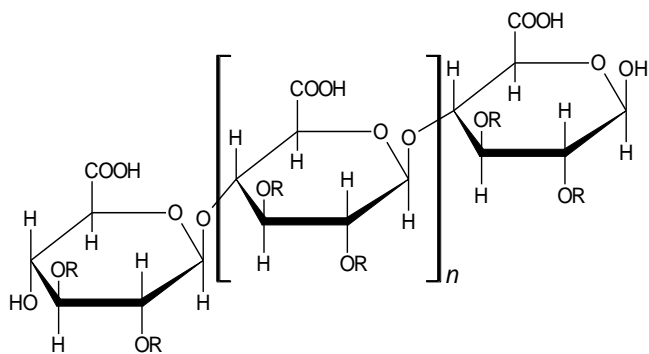
Stejně jako u CMC dojde během substituce hydroxylových skupin celulózy ke změně vlastností a výsledný produkt je rozpustný ve vodě. Vyrábí se zahříváním celulózy s hydroxidem sodným a následně reakcí s methylchloridem. Jde o bílý prášek. Stejně jako CMC je nealergenní a netoxická. Využívá se také v potravinářském průmyslu jako zahušťovadlo a emulgátor. Využití má také v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu k léčbě zácpy. Také se využívá jako lubrikant, umělé sliny či slzy, pro výrobu lepidel a pojiv. Využití nachází také v papírenském průmyslu.^[20] MC a HPMC jsou zobrazeny na **Obrázku 15**.^[21]



Obrázek 15. Struktura methylcelulózy (R = CH₃) a hydroxymethylcelulózy (R = CH₂OH)

1.3.6 Oxidovaná celulóza

Zajímavým derivátem celulózy je oxidovaná celulóza (OC). Ta vzniká oxidací celulózy za různých podmínek a pomocí různých oxidačních činidel jako 6-karboxycelulóza, zobrazená na **Obrázku 16**. OC vzniká pouze částečnou oxidací, neboť úplnou oxidací celulózy dojde k jejímu rozkladu na CO₂ a H₂O. Pro oxidaci se nejčastěji používají viskózová vlákna nebo bavlna, která obsahuje vysoké zastoupení α -celulózy.^[22] Mezi oxidační činidla, která se používají při výrobě OC, se řadí oxidy dusíku jak v nepolárním rozpouštědle, tak i v polárním kyselinovém rozpouštědle, a také v plynné fázi. Dále je možné provádět oxidaci pomocí kyslíku v plynné fázi, peroxidu vodíku, kyseliny chloritě a chromové a speciálního činidla Tempo, což je označení pro volné nitroxylové radikály, aj. Každé činidlo působí jiným reakčním mechanismem a vznikají rozdílné technické produkty.^[23]



Obrázek 16. Molekula oxycelulózy

Základem mechanismu oxidace je reakce celulóзовých vláken s oxidem dusičitým. Ten může být jak v plynné formě, tak v kapalně formě. Nejprve dochází k oxidaci primární hydroxylové skupiny anhydroglukózové jednotky, kdy dochází k fyzikální adsorpci N_2O_4 . Následně dojde k přeměně dusitanových meziproductů na karboxylové skupiny. V kapalně fázi probíhá oxidace hydroxyly na karboxylovou skupinu v homogenní fázi a uvnitř adsorbovaného komplexu.^[24] K oxidaci se využívá řada rozpouštědel a pomocných činidel či katalyzátorů. Podle použitého rozpouštědla se pak jednotlivé oxycelulózy liší počtem karboxylových skupin. Při oxidaci celulózy vznikají kromě karboxylové skupiny také aldehydy a ketony. Pokud použijeme silné oxidační činidlo, může dojít k degradaci a k snížení mechanické odolnosti materiálu. V některých případech také dochází k otevření kruhu za vzniku 2,3-dialdehydcelulózy, může také dojít až k úplnému rozložení celulózy na oxidy uhlíku a vodu.^[21]

V praxi nalezneme řadu patentů a procesů pro výrobu OC, které se liší nejen oxidačními činidly, ale i rozpouštědly, pracovními podmínkami a způsobem oxidace. Jedním z nejstarších procesů výroby je tzv. Eastman Kodak proces z roku 1940. Jako oxidační činidlo byly použity páry NO_2 a roztok N_2O_4 v CCl_4 . V roce 1945 byl tento proces použit pro průmyslovou výrobu oxidované celulózy pod obchodním názvem Oxycel.^[25] Další proces, který je nutné zmínit je tzv. Johnson & Johnson proces z roku 1960. Jedná se o oxidaci v roztoku, při níž byl jako oxidační činidlo použit roztok oxidu dusičitého v perfluorokarbonovém rozpouštědle. Produktem je oxidovaná regenerovaná celulóza, která se prodává pod obchodním názvem Surgicel jako pletená tkanina ve formě sítě.^[26,27]

První český proces výroby využívá jako oxidační činidlo směs 54–65 % kyseliny dusičné a flegmatizovaného dusitanu sodného.^[22]

Mezi největší české výrobce se v současnosti řadí Synthesia a.s., která vyrábí 160 km obvazů z oxidované celulózy ročně. Obchodní název tohoto produktu je Okcel® a výroba zahrnuje

nejen pletenou formu, ale i práškovou. Výroba podléhá patentu č. CZ 298 350 B6. Jako oxidační činidlo je zde také použit oxid dusičitý v organickém rozpouštědle. Rozpouštědlem je buď perfluoréther nebo perfluoropolyéter. Tyto rozpouštědla se vyznačují nízkou toxicitou, jsou nehořlavá a ekologicky nezávadná a oxidace probíhá rychleji než v běžných organických rozpouštědlech. Díky nim je možné oxidovat nejen regenerovanou celulózu, ale i materiál z přírodní celulózy. Výsledný produkt obsahuje až 25 hmot. % karboxylových skupin. Navíc je materiál více odolný vůči degradaci a stárnutí a vyznačuje se lepšími fyzikálními a aplikačními vlastnostmi. Vlastní oxidace probíhá na speciálních cívkách po dobu 17 hodin. Následují další úkony jako praní, sušení, sterilizace.^[23]

Novějším způsobem výroby je tzv. TEMPO metoda. Tato metoda se liší od ostatních, neboť produktem je pouze 6-monokarboxycelulóza. Metoda je složena ze dvou oxidačních postupů. V prvním postupu oxidací oxidem dusičitým vzniká řetězec tvořený anhydroglukuronovými a anhydroglukózovými jednotkami. Ve druhém postupu se využívá katalýzy 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy-radikálu (TEMPO). Jako oxidační činidlo je zde použit chlornanový a chloritanový aniont. Tyto anionty oxidují v anhydroglukózové jednotce celulózy pouze primární hydroxylovou skupinu.^[28]

Oxycelulóza, jako biokompatibilní polymer, se nejčastěji využívá ve zdravotnictví. Jde o biologicky odbouratelný a organismem zcela vstřebatelný polymer. Díky vysoké schopnosti adsorbovat tekutiny se využívá jako hemostatikum k zástavě krvácení. OC podporuje hojení a regeneraci tkáně a nenarušuje biologické hojivé procesy, má také baktericidní účinky, čehož se využívá při chirurgických zákrocích.^[4,5] Oxycelulóza se pomocí chemických a enzymatických reakcí rozkládá na netoxické produkty, proto se využívá převážně v medicíně. Při biodegradaci nejprve dochází k postupnému rozkladu tím, že se zkracují řetězce a přes jednotlivé meziprodukty jako jsou oligomery, dojde k rozštěpení na menší fragmenty jako je glukóza a kyselina glukuronová. Biodegradace se odehrává v přítomnosti séra nebo plasmy a dochází k postupné změně ve struktuře oxycelulózy.^[5] Proces biodegradace ve fyziologickém pH (~ 7,4) je takový, že dojde k postupnému nabobtnání OC, tak se začne vlnit a začne ztrácet vláknitý charakter. Postupně začíná gelovatět. Cca do 8 hodin po její aplikaci se zcela změní na žlutohnědý gel. Ten je dále postupně rozkládán pomocí enzymů tzv. β -eliminací na menší fragmenty, které jsou rozpustné v okolní tekutině, nakonec vláknitý charakter zcela vymizí. Přibližně za 20 dní je zhruba 80-90 % materiálu zcela absorbováno.^[21,29,30]

Při styku OC s krví dojde ke změně barvy z bílé na hnědo-černou. Podporuje zástavu krvácení tím, že dojde k nespecifické agregaci krevních destiček a následně se vytvoří umělá sraženina, v podstatě umělá zátka. Po tuto vlastnost se OC používá jako hemostatické činidlo

ve všech možných druzích chirurgie a téměř při všech druzích operací, hlavně ke krytí ran. OC se dále využívá jako gáza na popáleniny, neboť urychluje buněčný růst a hojení tím, že vytvoří izolovanou vrstvu. Další využití má OC jako obvaz či náplast pro zástavu krvácení z menších ran. Také se využívá jako bionosiče léčiv, kde OC slouží jako matrice pro léčiva s postupným uvolňováním. OC se používá také v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu jako plnidlo, k plnění polštářků či pro výrobu chirurgických rukavic. Využití nachází i při čištění vody a vzduchu, neboť na sebe váže toxiny a kovy. V praxi se využívá OC v podobě textilie, buď pletená OC nebo plátňovka. Používá se také v podobě prášku, který se prodává ve spreji. V praxi se využívají pouze produkty s obsahem 16-24 % COOH, nebo jejich sodné, vápenaté, zinečnaté a stříbrné soli. OC obsahuje stejně jako celulóza hydroxylové skupiny, a proto vykazuje podobné reakce s celulózou jako jsou esterifikace, nitrace atd.^[21]

1.4 Sterilizace materiálu OC

OC jako materiál využívaný ve zdravotnictví by měla být před použitím sterilizována. Z literatury je známo, že nejvíce využívanou metodou sterilizace je sterilizace radiační. Při sterilizaci se využívá hlavně ionizačního záření. Toto záření nemění vlastnosti většiny sterilizovaných látek, penetruje, ale nezahřívá sterilizovaný předmět. Z ionizačního záření se nejvíce využívá gama záření. Jako jeho zdroj je používán radioizotop ^{60}Co . Mezinárodně stanovená sterilizační dávka je 27 kGy, ale nejčastěji se využívá dávky 25 kGy. Tato dávka se nazývá tzv. minimální sterilizační dávka. Je to dávka, která poskytuje stupeň bezpečnosti a nezpůsobuje degradaci materiálu. Využívá se tedy hlavně ionizující záření, neboť má oproti ostatním způsobům řadu výhod např. radiačním zářením lze sterilizovat i teplotně labilní materiály, výrobky mohou být sterilizovány v konečném obalu, toho se využívá v průmyslu, neboť je možné ozařovat materiál po celých paletách, další výhodou je použití výrobků ihned po sterilizaci, protože radiační proces nevyvolává sekundární radiaci.

Pokud použijeme při ozařování vyšší dávkové rychlosti, je odolnost polymeru větší. Naopak při dlouhodobém ozařování malými dávkovými rychlostmi je polymer náchylnější ke změnám mechanických vlastností. Proces probíhá bez zvýšené teploty, to umožní sterilizaci předmětů ze syntetických materiálů, které se používají jako jednorázové pomůcky ve zdravotnické praxi. Proces sterilizace je nezávislý na tepelné vodivosti materiálů, tlaku, teplotě a vlhkost prostředí. Radiačně sterilizované materiály, které jsou uzavřené ve vhodných obalových materiálech, zaručují sterilitu na neomezeně dlouhou dobu, pokud nedojde k mechanickému poškození obalu. Na předmětech se během sterilizačního procesu

nezachytávají toxická residua, sterilizované výrobky nevyvolávají zbytkové sekundární záření a radiační sterilizace nezpůsobuje radioaktivitu materiálů. Pomocí dozimetřů (mechanických, fyzikálních, chemických a biologických) se kontroluje vlastní sterilizační proces. Výsledek sterilizačního procesu je závislý na absorbované dávce záření. Čím vyšší dávka, tím se mění kvalita jednotlivých materiálů. Ionizační záření má destruktivní vliv na mikroorganismy. Také však může způsobit změny podložního materiálu, což je nežádoucí.

Ionizující záření, které se používá ke sterilizaci zdravotnických výrobků, může vyvolat svým účinkem změny v organických polymerech a následně může dojít k ovlivnění fyzikálních, mechanických a chemických vlastností.

Při ozařování organických polymerů mohou v jejich struktuře vznikat např. dvojně vazby, příčné vazby či volné radikály. Také může dojít ke štěpení vazeb v hlavním, ale i vedlejším řetězci a může dojít k vývoji plynných produktů.

V celulóze se nachází vysoká koncentrace volných radikálů. Tyto radikály mají relativně dlouhou dobu života a jsou stabilní. Volné radikály mohou být příčinou síťujících a degradačních procesů v ozářených polymerech. K jejich detekci je nejvhodnější metodou elektronová paramagnetická rezonance.^[31,32]

1.5 Volné radikály

Volné radikály (VR) jsou podle definice částice (atom, molekula, iont) schopné samostatné existence, které obsahují jeden nebo více nepárových elektronů. Vyznačují se nestabilní konfigurací, a proto se snaží o získání nepárového elektronu, a tak o doplnění elektronového páru do stabilní konfigurace. Volné radikály mají omezenou dobu existence a vyznačují se poměrně vysokou reaktivitou. Mohou reagovat nejen s ostatními volnými radikály, ale i s intaktními molekulami, které okamžitě mění na radikál a formou řetězové reakce se propaguje do okolí. Řetězová reakce probíhá, dokud se volný radikál neseťká s tzv. antioxidantem, ten reakci může zpomalit nebo zastavit. VR může dále reagovat i s jiným volným radikálem, s kterým vytvoří elektronový pár.^[33]

1.5.1 Vznik a zdroje volného radikálu

Z chemického hlediska volné radikály vznikají jednak homolyticky, kdy dochází ke štěpení kovalentní vazby. Vzniknou jednotlivé fragmenty obsahující nepárový elektron. K homolytickému štěpení je zapotřebí energie, která může být vyvolána různými vlivy např. vysokou teplotou, ionizačním zářením, UV zářením či radiací. Nejběžnějšími iniciátory radikálové polymerace jsou peroxidy. Všechny tyto látky jsou nebezpečné, neboť může dojít k jejich nekontrolovatelnému rozkladu. Příkladem homolytického štěpení na dva volné radikály může být štěpení dibenzoylperoxidu, které je zobrazené ve **Schématu 3**.^[1]

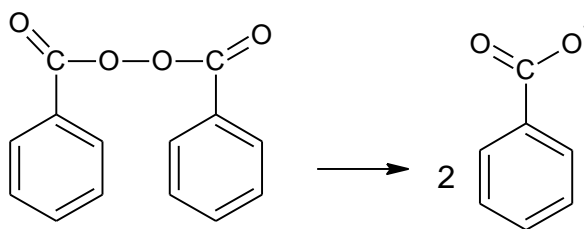


Schéma 3. Homolytické štěpení dibenzoylperoxidu na 2 volné radikály

Dále mohou volné radikály vznikat pomocí oxidačně-redukčních reakcí. Radikály vznikají reakcí, při které se redukují peroxysloučeniny pomocí přidávaných redukujících látek. Jako redukující látku můžeme použít soli kovů, které se mohou vyskytovat v několika oxidačních stavech, např. soli železa, chromu, kobaltu, vanadu. Mezi redukující komponenty se také řadí např. siřičitany, thiosířany atd. Tyto činidla rozkládají všechny peroxidické sloučeniny. Redoxní iniciátory jsou relativně bezpečné a iniciují polymerace za nízkých teplot. Příkladem oxidačně-redukčního vzniku radikálu je reakce Ce^{4+} s primárními alkoholy. Tímto způsobem lze modifikovat řadu polymerů, např. celulózu. Reakce je uvedena ve **Schématu 4**.^[1]

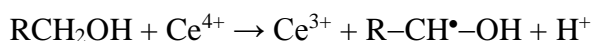


Schéma 4. Oxidačně-redukční iniciace

Příkladem redukčního činidla je Fentonova reakce, která je zobrazena ve **Schématu 5**.



Schéma 5. Fentonova reakce

Do organismu se volné radikály dostávají v průběhu metabolismu, i z vnějšího prostředí např. z cigaretového kouře, chemoterapií, radiací a ozařováním UV světlem, ze znečištěného životního prostředí, z některých léků a také z psychického stresu.^[34]

1.5.2 Reaktivní formy kyslíku a dusíku

Sledovanými radikály jsou volné radikály kyslíku a dusíku, jejich přeměnou vznikají další reaktivní sloučeniny, ty nemají nepárový elektron př. kyselina chlorná, peroxid vodíku aj. Společně s volnými radikály se nazývají reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species-ROS) a dusíku (reactive nitrogen species-RSN).^[33] Volné radikály se účastní celé řady různých procesů probíhajících v organismu. Některé z těchto procesů jsou škodlivé, naopak některé procesy jsou běžné. Jednotlivé formy vznikají v organismu jako důsledek přirozených pochodů. Ve vyšších koncentracích jsou ale pro organismus nebezpečné, neboť způsobují hlavně oxidační poškození lipidů.^[6]

Mezi tyto reaktivní formy se řadí superoxid, který vzniká redukcí kyslíku, který přijme jeden volný elektron za vzniku monoradikálu. Superoxid se vyznačuje redukčními i oxidačními schopnostmi, tedy se oxiduje i redukuje zároveň a produkty reakce jsou peroxid vodíku a kyslík. Poločas jeho trvání je 10^{-6} s.^[6] Vznik superoxidu a jeho oxidačně-redukční vlastnosti jsou zobrazeny ve **Schématu 6**.

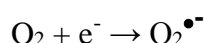


Schéma 6. Vznik superoxidu a jeho oxidačně-redukční vlastnosti

Dalším příkladem ROS může být peroxid vodíku, sám není radikálem, ale podílí se aktivně na vzniku volného radikálu. Samotný peroxid vodíku reaguje pomalu s biomolekulami, ale v přítomnosti dvojmocného železa Fe^{2+} či jednomocné mědi Cu^+ (přechodných kovů) se snadno redukuje.^[6] Touto Fentonovou reakcí (**Schéma 5**) vzniká hydroxylový radikál, který se vyznačuje tím, že je velmi reaktivní a toxický. Řadí se mezi extrémně silná oxidační činidla. Poločas jeho trvání je velmi krátký, cca 10^{-9} s, a proto není schopen migrace mimo buňku. Rychle reaguje s okolními molekulami, vytrhuje elektron z nenasycených mastných kyselin, atakuje nukleové báze a aminokyseliny, dochází k peroxidaci lipidů, inaktivaci enzymů, důsledkem je pak poškození tkáně.^[6] Stejně jako hydroxylový radikál reaguje

v organismu peroxylový radikál (ROO•). Ten vzniká v přítomnosti kyslíku, kdy dochází k navázání kyslíku na nepárový elektron molekuly.^[35] Dále se mezi reaktivní formy kyslíku řadí kyselina chlorná, která ale není volným radikálem. Kyselina chlorná je syntetizována neutrofilními granulocyty pomocí myeloperoxidázy. Reakce, při níž vzniká kyselina chlorná je zobrazena ve **Schématu 7**. Patří mezi silné oxidanty a granulocyty ji používají jako baktericidní prostředek.

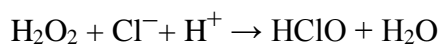


Schéma 7. Vznik kyseliny chlorné

Nadměrná tvorba kyseliny chlorné způsobí, že dochází k chloraci bílkovin i enzymů energetického metabolismu. Kyselina chlorná může dále reagovat s peroxidem vodíku za vzniku nebezpečného singletového kyslíku, to je zobrazeno ve **Schématu 8**.^[35]

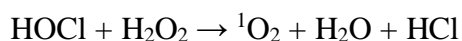


Schéma 8. Reakce kyseliny chlorné s peroxidem vodíku za vzniku singletového kyslíku

Singletový kyslík má poločas rozpadu 10^{-6} s. Jedná se o energeticky bohatší a velmi reaktivní formu molekulárního kyslíku, který také vzniká excitací tripletového kyslíku při některých fotochemických reakcích, **Schéma 9**. Nejedná se o volný radikál, ale velmi často iniciuje vznik radikálové reakce.^[36]

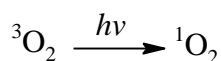


Schéma 9. Vznik singletového kyslíku excitací tripletového kyslíku

Ozón je plyn, který je ve vysoké koncentraci jedovatý a pro člověka karcinogenní. Patří mezi silná oxidační činidla a může reagovat s řadou biomolekul, což v těle způsobuje tvorbu volných radikálů.^[6]

Mezi reaktivní formy dusíku patří oxidy dusíku. Oxid dusnatý (NO•) i oxid dusičitý (NO₂•) jsou volnými radikály. Oxid dusnatý se vyznačuje velmi malou molekulou, v těle se syntetizuje složitým mechanismem za použití nitroxidsynthasy, která metabolizuje arginin na citrulin s tvorbou NO• přes pěti-elektronové oxidační reakce.^[37] Jeho biologický poločas je pouze několik sekund, neboť je průběžně vylučován erytrocyty, kde reaguje se železem oxyhemoglobinu. Tímto způsobem dochází k inaktivaci NO•, přesto jsou oxid dusnatý a jeho

metabolity v organismu prudce jedovatými látkami.^[6] Reakcí oxidu dusnatého se superoxidem vzniká peroxynitrit, reakce je zobrazena ve **Schématu 10**.

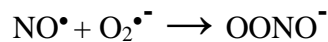


Schéma 10. Reakce oxidu dusnatého se superoxidem za vzniku peroxynitritu

Peroxynitrit je velmi toxický produkt oxidu dusnatého. Jedná se o oxidační činidlo. Předpokládá se, že protonovaný peroxynitrit, tedy kyselina peroxydusitá, se rozkládá při fyziologickém pH na hydroxylový radikál a oxid dusičitý radikál. Rozklad peroxynitritu je zobrazen ve **Schématu 11**.^[6]



Schéma 11. Rozklad peroxynitritu na hydroxylový radikál a oxid dusičitý

Reaktivní formy dusíku snadno v molekule reagují s fenoly, thioly a aminokyselinami, kde způsobují nitraci a hydroxylaci.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie

2.1.1 Rozpouštědla a pomocné látky

	Čistota	Výrobce
Hydroxid sodný	≥98,00 %, p. a.	Penta
Voda	redestilovaná, destilovaná	Univerzita Pardubice
Kyselina octová	p. a.	Penta
Kyselina askorbová	p. a.	Penta
Thiosíran sodný	p. a.	Penta
4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPOL)	97 %	Sigma Aldrich

2.1.2 Měření vzorky

V diplomové práci byly použity vzorky vstřebatelného hemostatického materiálu (oxycelulózy) Okcel F, Okcel HD a Okcel HT, které vyrábí společnost Synthesia a. s. Od každého typu byl analyzován sterilní a nesterilní vzorek.

- **OKCEL® H-T**

Jedná se o textilní formu OC, zobrazenou na **Obrázku 17**. Vyznačuje se nažloutlou barvou a běžnou hustotou, jde o klasickou pletenou formu. Používá se převážně k zastavení krvácení z kapilár, ale také k zastavené krvácení z menších žil a tepének při chirurgických zákrocích.^[4]



Obrázek 17. OKCEL® H-T^[4]

- **OKCEL® H-D**

Tato textilní pletená forma OC se vyznačuje vyšší nasákavostí a je zobrazena na **Obrázku 18**. Dalšími vlastnostmi tohoto typu jsou vysoká hustota, vylepšená účinnost a větší tloušťka materiálu. Používá se k zastavení krvácení ze žil nebo tepének v průběhu chirurgických zákroků a také pro zastavení a kontrolu difuze většího objemu krve.^[4]



Obrázek 18. OKCEL® H-D^[4]

- **OKCEL® F**

Netkaná verze OC, která se používá ve formě vaty. Je zobrazena na **Obrázku 19**. Vyznačuje se sníženou hmotností. Důležitá je její velmi vysoká flexibilita, díky které se dosahuje hemostázy na povrchu velkých ploch. Dále se používá v povrchových aplikacích a v obtížně přístupných místech.^[4]



Obrázek 19. OKCEL® F^[4]

2.2 Použité zařízení a pomůcky

- analytické váhy Kern ABJ 220-4M:
rozsah vážení: 200 g-10 mg
přesnost vážení: 0,1 mg
- EPR spektrometr MiniScope MS 300:
mikrovlnná energie: 100 μ W-50 mW
mikrovlnná frekvence: 9,3-9,55 GHz
rozsah magnetického pole: 50-450 mT
- křemenná kyveta s teflonovým nástavcem-5 mm
- vakuová pumpa KiF lab:
typ: membránová
mezní tlak: 4-147 kPa
čerpací rychlost: 40 l/min
- centrifuga EBA 21 HETTICH:
kapacita: 6 \times 50 ml
max. rychlost: 600 rpm
max. RCF: 3461

2.3 Elektronová paramagnetická rezonanční spektroskopie

Elektronová paramagnetická rezonance (EPR) se velmi často označuje také jako elektronová spinová rezonanční spektroskopie (ESR) a řadí se mezi přímé metody detekce. Tato metoda se spolu s nukleární magnetickou rezonancí řadí mezi metody rezonančně magnetické. EPR není chemiky příliš využívanou metodou, neboť touto metodou lze měřit pouze omezený počet některých známých molekul. Jedná se o molekuly s paramagnetickým

charakterem, tedy o molekuly, které obsahují jeden nebo více nepárových valenčních elektronů a mají proto nevykompenzovaný elektronový spin.^[38]

Touto metodou se tedy dají měřit např. volné radikály (v biologických materiálech, stabilní organické, ale také nestabilní vzniklé účinkem záření), ionty a komplexy nejen přechodných kovů ale také kovů vzácných zemin. Dále látky, které se vyznačují poruchami v krystalových mřížkách, biradikály (sloučeniny, které mají dva nepárové elektrony, tyto elektrony spolu velmi slabě interagují, protože jsou od sebe příliš vzdálené), tripletové stavy a také excitované stavy.^[38,39]

Každý nepárový elektron se vyznačuje vlastním spinem, tedy vnitřním momentem hybnosti. Spinové kvantové číslo nabývá hodnoty $s = \frac{1}{2}$. Volný elektron může interagovat s magnetickým polem, kde zaujímá určité orientace. Díky tomu získáme magnetické spinové kvantové číslo M_s , které může nabývat určitých hodnot (orientací) podle vztahu $M_s = (2s + 1)$. U volného elektronu dojde k rozštěpení původního energetického stavu na dvě energetické hladiny, které se liší energií a nabývají hodnot $M_s = \frac{1}{2}$ nebo $M_s = -\frac{1}{2}$. Toto štěpení se jmenuje Zeemanovo a jednotlivé energetické hladiny vzniklé tímto štěpením se označují jako Zeemanovy hladiny. Jednotlivé hladiny mají mezi sebou určitou vzdálenost. Tato vzdálenost je závislá na indukci magnetického pole (B), vzdálenost se s rostoucí hodnotou indukce zvyšuje.^[38,40,41]

Elektron se může chovat jako magnet a může reagovat s vnějším magnetickým polem. Tato vlastnost se označuje jako magnetický moment elektronu a vyjadřuje se vztahem (1):

$$\mu_z = -g_e \cdot \beta_e \cdot M_s, \text{ kde} \tag{1}$$

g_e -g-faktor volného elektronu ($g_e = 2,002319304386$);

β_e -Bohrův magneton ($\beta_e = 9,2732 \times 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$);

M_s -magnetické spinové číslo.

Jestliže vložíme volný nepárový elektron do vnějšího magnetického pole s indukcí B , pak se energie interakce vyjádří vztahem (2):

$$E = -\mu \times B \tag{2}$$

Pro výpočet rozdílu energie jednotlivých energetických hladin se využívá vztah (3), ten je současně rezonanční podmínkou v EPR spektroskopii.^[38,40]

$$\Delta E = E_1 - E_2 = (1/2) g_e \beta_e B - (-1/2) g_e \beta_e B = g_e \beta_e B = h \nu \quad (3)$$

Pro splnění rezonanční podmínky se využívají dvě metody. V prvním případě probíhá měření za konstantní frekvence ν . Indukce magnetického pole se pomalu mění až po dosažení rezonance. V druhém případě naopak probíhá měření za konstantní hodnoty indukce magnetického pole a dochází ke změně frekvence. Nejčastěji se využívá první případ, kdy rezonanční podmínka je splněna při hodnotách frekvence $\nu = 9,5$ GHz a při hodnotách indukce magnetického pole kolem 0,35T.^[38,40]

Z EPR spektra získáme následující informace: polohu, intenzitu a šířku linie. Intenzitu můžeme za určitých podmínek považovat za koncentraci radikálu. Intenzita se měří jako první derivace absorpčního signálu, a proto je nutné k určení koncentrace linii dvakrát integrovat. Šířka linie nám udává vzdálenost maxima od minima na křivce první derivace absorpčního signálu ("peak to peak"). Poloha signálu je charakterizována g-faktorem. Kromě vnějšího magnetického pole se u vzorku nachází lokální magnetické pole. Součtem těchto polí se získá celkové magnetické pole. Všechny paramagnetické látky mají svou hodnotu g-faktoru, pomocí této hodnoty se určuje poloha signálu. U některých látek je hodnota g téměř stejná jako hodnota g_e , např. tomu je u volných radikálů a některých přechodných prvků. Naopak mnoho látek se vyznačuje značnou odchylkou od hodnoty g_e .^[38]

Pokud se v molekule objevují spin-spinové interakce, dochází ke vzniku hyperjemné struktury EPR spekter. Tyto spin-spinové interakce vznikají, jestliže se v molekule v blízkosti nepárového elektronu nacházejí atomová jádra s nenulovým spinem. Jedná se o interakce mezi magnetickými momenty elektronu a jader. Při této interakci dochází k rozštěpení energetických hladin spinů na $(2I + 1)$ podhladin. Např. jestliže se v okolí nepárového elektronu nachází vodíkový atom se spinem $I = 1/2$, pak existují pouze dvě orientace. První orientace je po směru siločar magnetického pole, takto bude orientováno cca 50 % jader. Druhá orientace bude proti směru siločar magnetického pole, kdy takto je orientováno zbylých 50 % jader. Pokud je nepárový elektron ovlivněn n ekvivalentními jádry se spinem I , vzniká spektrum, které se skládá z $2nI + 1$ linií.^[40,42]

EPR spektra připravených vzorků byla měřena v pevné fázi v křemenných kyvetách o průměru 5 mm. Spektra byla získána pomocí spektrometru typu Mini Scope MS 300. Frekvence zdroje mikrovlnného záření byla kolem 9,5 GHz. Citlivost (zesílení) přístroje byla měněna dle potřeby, čas měření 120 s. Přístroj byl kalibrován na 1,1-bifenyl-2-pikrylhydrazyl (DPPH) s přesností na tři desetinná místa. EPR spektra byla zaznamenávána jako první

derivace absorpce. Pro kvantitativní stanovení koncentrace volných radikálů byla použita stabilní spinová značka TEMPOL. Všechna měření probíhala za laboratorní teploty.

2.4 Stanovení obsahu volných radikálů v modifikovaných vzorcích oxidované celulózy

2.4.1 Určení vlivu destilované vody na vzorek oxycelulózy

Na analytických vahách bylo naváženo cca 0,2391 g vzorku Okcel HT, 0,2760 g vzorku Okcel HD a 0,1020 g vzorku Okcel F. Vzorek byl vložen do 5 ml destilované vody a byl takto nechán po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách došlo k nasátí vody do struktury, a proto byl vzorek dále částečně zbaven vody pomocí odstředivky a následně byl vzorek vložen do 250 ml baňky a 1 hodinu při teplotě 50 °C v olejové lázni sušen pomocí vakuové pumpy. Následně bylo naváženo 0,055g vzorku, který byl vložen do křemenné kyvety a poté byl změřen pomocí EPR spektroskopie. Vše probíhalo za laboratorní teploty.

2.4.2 Určení vlivu kyseliny askorbové na vzorek oxycelulózy

Nejprve byl připraven pracovní roztok kyseliny askorbové o koncentraci $c = 0,041 \text{ mol/l}$ ($M = 176,12 \text{ g/mol}$, $V = 15 \text{ ml}$, $m = 0,1090 \text{ g}$). Na analytických vahách bylo naváženo cca 0,2307 g vzorku Okcel HT, 0,3012g vzorku Okcel HD a 0,1179 g vzorku Okcel F. V lékovce byl vzorek vnesen do 5 ml kyseliny askorbové a byl takto nechán po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách došlo k nasátí kyseliny askorbové do struktury, a proto byl vzorek dále částečně zbaven kys. askorbové pomocí odstředivky, dále byl promyt 3 ml destilované vody a znovu dán na odstředivku. Následně byl vzorek vložen do 250 ml baňky a 1 hodinu při teplotě 50 °C v olejové lázni sušen pomocí vakuové pumpy. Pak bylo naváženo 0,055g vzorku, který byl vložen do křemenné kyvety a poté byl změřen pomocí EPR spektroskopie. Vše probíhalo za laboratorní teploty.

2.4.3 Určení stability volných radikálů ve vzorku oxycelulózy pomocí roztoku Tempol

Byla připravena koncentrační řada roztoku Tempol o koncentracích:

$c_1 = 9,08 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$, $M = 172,24 \text{ g/mol}$, $V = 50 \text{ ml}$, $m = 0,0782 \text{ g}$,

$c_2 = 1 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$, $M = 172,24 \text{ g/mol}$, $V = 50 \text{ ml}$, $m = 0,0086 \text{ g}$,

$c_3 = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$, $M = 172,24 \text{ g/mol}$, $V = 50 \text{ ml}$, $m = 0,0032 \text{ g}$.

Na analytických vahách bylo naváženo cca 0,2307 g vzorku Okcel HT, 0,3012g vzorku Okcel HD a 0,1179 g vzorku Okcel F. Vzorek byl vložen do 5 ml roztoku Tempolu a byl takto nechán po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byl vzorek dále částečně zbaven roztoku Tempol pomocí odstředivky, dále byl promyt 3 ml destilované vody a znovu dán na odstředivku. Následně byl vzorek vložen do 250 ml baňky a 1 hodinu při teplotě 50 °C v olejové lázni sušen pomocí vakuové pumpy. Pak bylo naváženo 0,055g vzorku, který byl vložen do křemenné kyvety a poté byl změřen pomocí EPR spektroskopie. Vše probíhalo za laboratorní teploty.

2.4.4. Určení vlivu redoxních činidel na vzorek oxycelulózy

Roztok thiosíranu sodného byl připraven z pentahydrátu thiosíranu sodného a destilované vody, kdy 0,35 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ bylo rozpuštěno v 60 ml destilované vody a vznikl roztok o koncentraci $c = 0,02 \text{ mol/l}$ ($M = 248,18\text{g/mol}$). Následně byl navážený vzorek oxycelulózy vnesen do 5 ml roztoku a takto byl ponechán 24 hodin. Během 24 hod. se bezbarvý roztok změnil na mléčně bílý roztok. Po 24 hodinách byl vzorek dále částečně zbaven roztoku thiosíranu sodného pomocí odstředivky, dále byl promyt 3 ml destilované vody a znovu dán na odstředivku. Následně byl vzorek vložen do 250 ml baňky a 1 hodinu při teplotě 50 °C v olejové lázni sušen pomocí vakuové pumpy. Pak bylo naváženo 0,055g vzorku, který byl vložen do křemenné kyvety a poté byl změřen pomocí EPR spektroskopie. Vše probíhalo za laboratorní teploty.

2.4.5 Určení vlivu kyseliny askorbové při regeneraci vzorku oxycelulózy

Nejprve byl připraven roztok hydroxidu sodného o koncentraci $c = 2,5 \text{ g/mol}$. K naváženému vzorku oxycelulózy v lékovce bylo přidáno 5 ml roztoku NaOH. Okamžitě došlo k rozrušení struktury, vzorek Okcel F se okamžitě rozpadl a vznikla olejovitá kapalina. Vzorky Okcel HT a Okcel HD se rozkládaly postupně a následně vznikl koloidní roztok s částicemi. Současně s rozkladem došlo ke změně barvy jak bezbarvého roztoku NaOH na žluto – oranžový, tak vzorků OC z bílé barvy na oranžovou. Během reakce OC s hydroxidem sodným byl připraven roztok kyseliny askorbové o koncentraci $c = 2,5 \text{ g/mol}$ a následně byl tento roztok přidán k reakční směsi. Přidáním kyseliny askorbové došlo ke změně pH ze silně zásaditého na slabě zásadité pH a současně došlo ke zesvětlení reakční směsi. Pro zpětné vysrážení oxycelulózy z roztoku bylo použito malé množství (cca 1 ml) koncentrované

kyseliny octové. Takto připravený vzorek byl ponechán v lékovce 24 hodin. Po 24 hodinách byl vzorek dále částečně zbaven reakční směs pomocí odstředivky, následně byl promyt 3 ml destilované vody a znovu dán na odstředivku. Vzorek byl vložen do 250 ml baňky a 1 hodinu při teplotě 50 °C v olejové lázni sušen pomocí vakuové pumpy. Pak bylo naváženo 0,055g vzorku, který byl vložen do křemenné kyvety a poté byl změřen pomocí EPR spektroskopie. Vše probíhalo za laboratorní teploty.

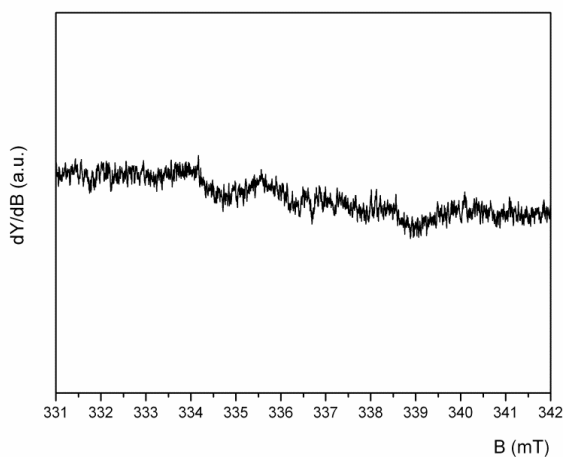
3 VÝSLEDKY A DISKUZE

V předkládané diplomové práci byly pomocí EPR spektroskopie měřeny a analyzovány vzorky oxycelulózy Okcel F, Okcel H-T a Okcel H-D. Jednotlivé vzorky se od sebe liší strukturou a také barvou. Okcel F se vyrábí jako vatová forma na rozdíl od Okcel H-T a Okcel H-D, jež se vyrábí jako pletená tkanina. Okcel F a Okcel H-D se vyznačují bílou barvou, Okcel H-T je nažloutlý.

Byly měřeny a analyzovány sterilní a nesterilní vzorky oxycelulózy. Sterilní vzorky byly sterilizovány γ -zářením, které je podle literatury nejvhodnější pro sterilizaci biologického materiálu. To ovšem může způsobit ve struktuře vznik radikálů.^[43] Z literatury je také známo, že po ozáření vzniká radikál pravděpodobně na uhlíku C5.^[43]

Přítomnost a koncentrace volných radikálů je v předkládané diplomové práci měřena pomocí přímé metody. Touto metodou je EPR spektroskopie. Pevné vzorky byly měřeny na přístroji MiniScope MS 300. Měření probíhalo v křemenných kyvetách a bylo prováděno za laboratorní teploty.

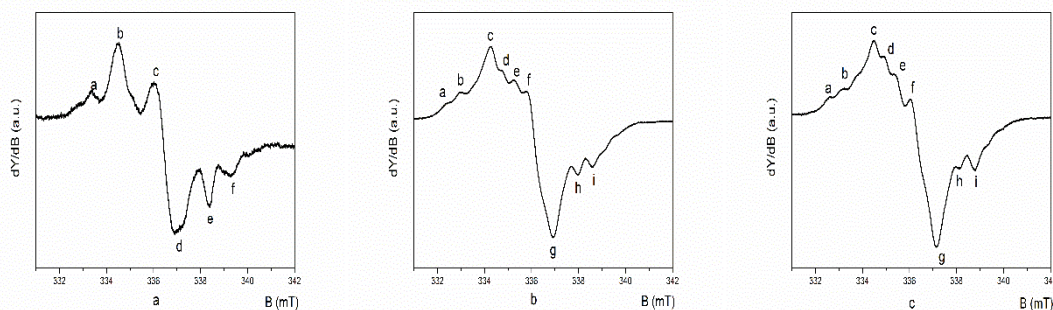
U všech nesterilních vzorků (**Obrázek 20**) nebyla nalezena přítomnost volných radikálů. Signál, měřený při nejvyšší možné citlivosti přístroje, odpovídá pouze odezvě samotného přístroje a typu měření (rezonátor s prázdnou kyvetou).



Obrázek 20. EPR spektrum nesterilního vzorku oxycelulózy Okcel F

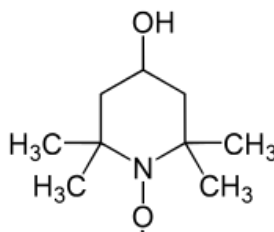
U všech vzorků sterilizovaných γ -zářením byl přítomen intenzivní signál, který značí přítomnost volných radikálů. Sterilní vzorky Okcel H-T a Okcel H-D mají téměř stejný charakter spekter, naopak sterilní vzorek Okcel F se od nich výrazně liší. Jednotlivá spektra jsou zobrazena na **Obrázku 21**. Ve všech případech nebyl signál jednoduchý, ale jednalo se o

složené spektrum. Radikál je tedy pravděpodobně zachycen uvnitř struktury oxidované celulózy a složené spektrum je pravděpodobně výsledkem jeho interakce s okolím. Zřejmě se jedná o směs radikálů a nejsme schopni je rozložit na jednoduchá spektra. V EPR spektru vzorku Okcel F jsou patrná 3 absorpční maxima (**a**, **b**, **c**) a 3 absorpční minima (**d**, **e**, **f**). Vzorky Okcel H-D a Okcel H-T mají složitější EPR spektra, která obsahují 6 absorpčních maxim (**a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f**) a 3 absorpční minima (**g**, **h**, **i**).



Obrázek 21. EPR spektra sterilních vzorků oxycelulózy: a) vzorek Okcel F, b) vzorek Okcel H-D, c) vzorek Okcel H-T

EPR spektroskopie nám umožňuje stanovit koncentraci volných radikálů ve vzorcích oxycelulózy. Jako standard byl použit roztok TEMPOLU (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl), zobrazený na **Obrázku 22**. Využívá se proto, že se jedná o stabilní radikál. TEMPOL je také rozpustný ve vodě.



Obrázek 22. Molekula TEMPOL^[44]

Nejprve bylo připraveno 10 ml zásobního vodného roztoku standardu o koncentraci $c_1 = 1,74 \cdot 10^{-3}$ mol/l. Z tohoto zásobního roztoku bylo odebráno k měření EPR spektra 0,1 ml a následně bylo vypočítáno látkové množství v měřícím prostoru podle vzorce:

$$n_T = c_T \times V_T = 1,74 \cdot 10^{-3} \times 1,00 \cdot 10^{-4} = 1,74 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l.}$$

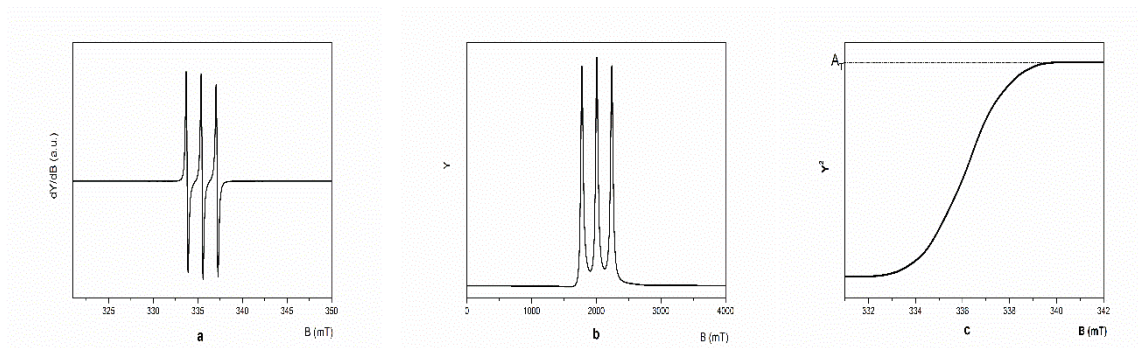
Počet spinů (N_T) v měřícím prostoru byl vypočítán podle vztahu:

$$N_T = n_T \times N_A = 1,74 \cdot 10^{-7} \times 6,022 \cdot 10^{23} = 1,05 \cdot 10^{17}, \text{ kde}$$

n_T – látkové množství v měřícím prostoru,

N_A -Avogadrova konstanta.

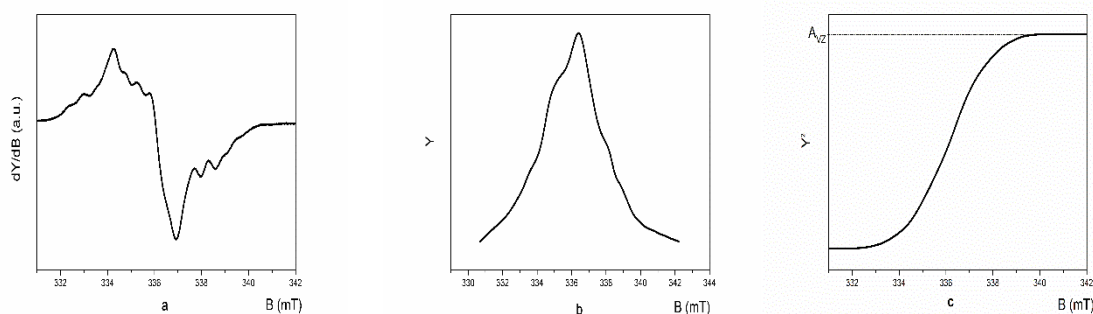
EPR spektroskopie neposkytuje klasická spektra, ale spektra v první derivaci. Abychom získali integrální plochu absorpčního pásu roztoku TEMPOL, je potřeba spektrum dvakrát zintegrovat, **Obrázek 23**. Následně je možné odečíst velikost integrální plochy píku absorpčního pásu (A_T).



Obrázek 23. Stanovení integrální intenzity standardu TEMPOL

a-naměřené EPR spektrum, b-integrované EPR spektrum, c-druhá integrace EPR spektra

Naměřená spektra vzorků oxycelulózy byla zpracována obdobným způsobem. Na **Obrázku 24** je uvedeno naměřené EPR spektrum (první derivace absorpčního spektra), jeho první a druhá integrace. Z takto upravených spekter byla odečtena velikost plochy píku absorpčního pásu (A_{VZ}), ta byla následně porovnána s velikostí integrální plochy píku standardu TEMPOL.



Obrázek 24. Stanovení integrální intenzity vzorku oxycelulózy

a-naměřené EPR spektrum, b-integrované EPR spektrum, c-druhá integrace EPR spektra

Pro stanovení počtů spinů v měřícím prostoru není důležitá jen integrální plocha absorpčního pásu standardu a vzorku, ale také je nutné znát zesílení TEMPOLU (Z_T) a vzorku (Z_{VZ}). Z porovnání velikostí integrální plochy píku byl vypočítán počet spinů v měřícím prostoru podle vztahu:

$$N_{VZ} = N_T \times (A_{VZ}/Z_{VZ}) \times (Z_T/A_T), \text{ kde}$$

N_{vz} -počet spinů v měřícím prostoru u vzorku;
 N_T -počet spinů v měřícím prostoru u roztoku TEMPOL;
 A_{vz} -integrální plocha absorpčního pásu vzorku;
 A_T -integrální plocha absorpčního pásu roztoku TEMPOL;
 z_{vz} -zesílení vzorku;
 z_T -zesílení roztoku TEMPOL.

Koncentrace volných radikálů je vždy uváděna jako počet spinů v jednom gramu vzorku. Byla vypočítána podle vztahu:

$$C_{VR} = N_{vz}/m_{vz}, \text{ kde}$$

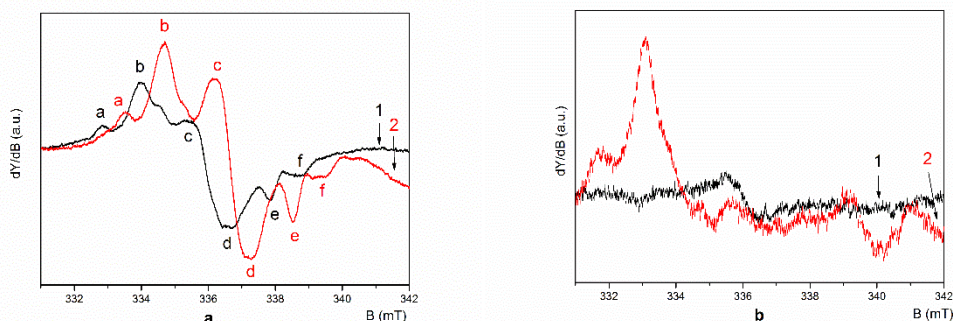
N_{vz} -počet spinů v měřícím prostoru u vzorku;
 m_{vz} -navážka vzorku (g);
 C_{VR} -koncentrace volných radikálů v 1 g vzorku.

Koncentrace volných radikálů v základních a modifikovaných vzorcích oxycelulózy jsou uvedeny v **Tabulce 2**.

Tabulka 2. Koncentrace volných radikálů v jednotlivých vzorcích OC

Modifikace vzorku	Koncentrace VR u vzorků oxycelulózy [g ⁻¹]		
	Okcel F	Okcel H-D	Okcel H-T
nemodifikovaný	$4,6 \times 10^{16}$	$2,4 \times 10^{16}$	$5,4 \times 10^{16}$
promytý dest. vodou	$1,6 \times 10^{17}$	$2,5 \times 10^{17}$	$1,5 \times 10^{17}$
promytý roztokem TEMPOL $c_1 = 2,55 \cdot 10^{-4}$ g/mol	$4,3 \times 10^{16}$	$2,0 \times 10^{16}$	$6,5 \times 10^{16}$
promytý roztokem TEMPOL $c_2 = 1 \cdot 10^{-3}$ g/mol	$5,4 \times 10^{16}$	$2,6 \times 10^{16}$	$5,5 \times 10^{16}$
promytý roztokem TEMPOL $c_3 = 9,08 \cdot 10^{-3}$ g/mol	$4,5 \times 10^{17}$	$3,2 \times 10^{17}$	$2,3 \times 10^{17}$
promytý kyselinou askorbovou	$1,1 \times 10^{17}$	$8,5 \times 10^{16}$	$9,5 \times 10^{16}$
promytý thiosíranem sodným	$4,7 \times 10^{16}$	$2,3 \times 10^{16}$	$6,4 \times 10^{16}$
regenerovaný hydroxidem sodným	$6,0 \times 10^{16}$	$8,7 \times 10^{16}$	$8,0 \times 10^{16}$

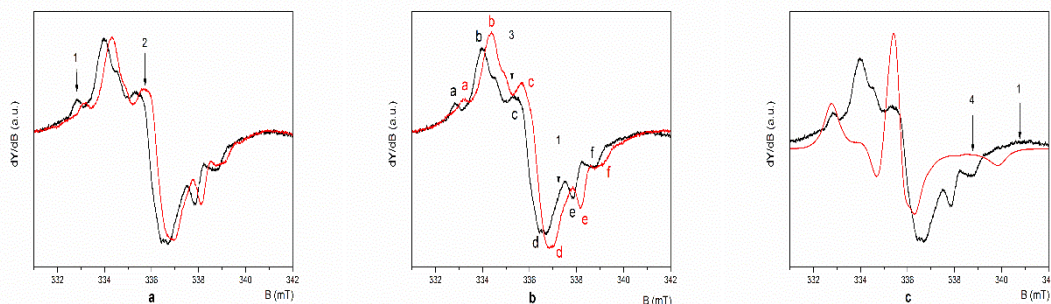
Předkládaná diplomová práce se zabývá převážně stabilitou volných radikálů, které se nacházejí ve vzorku sterilizované oxycelulózy. Nejprve byl studován vliv prostředí na vzorek OC. Všechny sterilní a nesterilní vzorky byly po dobu 24 hodin ponořeny v destilované vodě. Po úpravě byly změřeny a bylo zjištěno, že se koncentrace volných radikálů ve vzorcích sterilní OC zvýšila, což je zřejmé z hodnot uvedených v **Tabulce 2**. Z EPR spekter, uvedených na **Grafu 1**, je patrné, že došlo ke zvýšení intenzity absorpčních pásů **b–e**, zatímco intenzita pásů **a, f** zůstala nezměněna. Tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny vychytáváním volných radikálů z destilované vody. Ve vzorcích použité vody jsme sice žádné VR nepozorovali, EPR spektroskopii však v tomto případě nelze použít jako jednoznačný důkaz, že vzorek žádné VR neobsahuje, protože předpokládané $\bullet\text{OH}$ a $\bullet\text{OOH}$ mají velmi krátkou dobu života. Tento závěr naznačují i výsledky získané měření nesterilních vzorků OC vnesených do používané destilované vody. Ve všech případech došlo k zvýšení koncentrace volných radikálů (**Graf 1b**).



Graf 1. EPR spektra **a**) sterilního vzorku Okcel **F 1** neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) promytý vodou ($\nu = 9,4126$ GHz), **b**) nesterilního vzorku Okcel **F 1** neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) promytý vodou ($\nu = 9,4126$ GHz)

Další možnou příčinou vzniku VR je narušení struktury OC během sterilizace γ -zářením. Může totiž dojít k narušení a poškození některých vazeb uvnitř struktury a po nasátí destilované vody je možné, že dojde k úplnému rozrušení těchto poškozených vazeb. V EPR spektru toto poškození pak zaznamenáme nárůstem koncentrace VR.

Stabilita volných radikálů v OC byla dále studována pomocí chemických činidel. Jednou z metod bylo přidání volného radikálu za účelem rekombinace jednotlivých radikálů, kdy by mělo dojít ke snížení koncentrace volných radikálů. V našem případě byl použit roztok TEMPOLU o třech různých koncentracích, to je zobrazeno na **Grafu 2**.

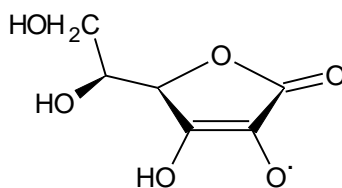


Graf 2. Sterilní vzorky Okcel F modifikované roztokem TEMPOL o různé koncentraci: **1**) neupravený sterilní vzorek ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4183$ GHz); **3**) $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4156$ GHz); **4**) $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4156$ GHz, upravený vzorek má 40x menší zesílení než neupravený vzorek)

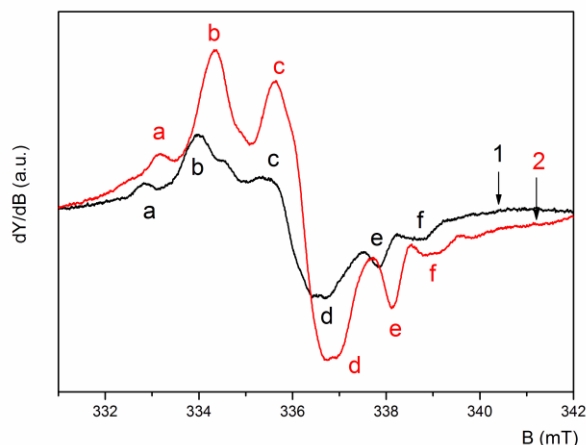
Při koncentraci $c_1 = 2,55 \times 10^{-4}$ mol/l roztoku TEMPOLU nedochází u vzorku Okcel F ke změně koncentrace VR oproti nemodifikovanému vzorku (**Tabulka 2**). Roztok TEMPOLU zřejmě reaguje s vodou, kde je schopen vycíhat volné radikály. Se zvyšující se koncentrací roztoku TEMPOLU dochází k nárůstu koncentrace VR ve vzorku, kdy nejdříve pozorujeme nárůst absorpčních pásů **b**, **c**, **d**, což je způsobeno zachycením TEMPOLU na povrchu oxycelulózy. Při koncentraci $c_3 = 9,08 \times 10^{-3}$ mol/l pozorujeme pouze signál absorbovaného roztoku TEMPOL. Intenzita jeho signálu je zde řádově vyšší než intenzita signálu OC (**Graf 2c**). U vzorku Okcel H-D roztok TEMPOLU o koncentraci $c_1 = 2,55 \times 10^{-4}$ mol/l pravděpodobně vycíhat více radikálů, než vzniklo po reakci s vodou. Získané EPR spektrum má nižší intenzitu než v případě nemodifikovaného vzorku. Došlo tedy k nepatrnému snížení koncentrace VR ve vzorku (**Tabulka 2**). Při vyšších koncentracích roztoku TEMPOL dochází k absorpci TEMPOLU na povrchu OC stejně jako u vzorku Okcel F. U vzorku Okcel H-T dochází i při nízké koncentraci roztoku TEMPOL $c_1 = 2,55 \times 10^{-4}$ mol/l ke zvýšení intenzity EPR spektra, v tomto případě zřejmě převážil efekt vody nad efektem roztoku TEMPOL. Došlo tedy k nárůstu VR (**Tabulka 2**). Při vyšších koncentracích opět dochází ke stejnému jevu jako u vzorku Okcel F. Kdy nejprve dochází k drobnému nárůstu intenzity a při koncentraci $c_3 = 9,08 \times 10^{-3}$ mol/l pozorujeme pouze spektrum naabsorbovaného roztoku TEMPOL. Spektra vzorků Okcel H-D a Okcel H-T modifikovaných roztokem TEMPOL jsou uvedena v příloze, **Graf 8-13**.

Další metodou je použití antioxidantů a redukčních činidel. Jako antioxidant a slabé redukční činidlo byla použita kyselina askorbová. Tato kyselina (vitamín C) působí v organismu jako antioxidant a jejím úkolem je vycíhat volné radikály. Nejprve byly všechny sterilní vzorky OC po dobu 24 hodin namočený do roztoku kyseliny askorbové.

Avšak po reakci se sterilním vzorkem OC opět došlo ke zvýšení koncentrace volných radikálů (**Tabulka 2**). Z EPR spekter uvedených na **Grafu 3** je zřejmé, že po úpravě dojde ke změně spektra vzorku, kdy vidíme nárůst intenzity pásů **b, c, d, e**, ostatní pásy zůstaly stejné, jejich intenzita se nezměnila. Spolu s vlivem vody působí i vliv kyseliny askorbové, kdy zřejmě dojde pomocí redukce ke vzniku VR ve struktuře OC a následně dojde ke změně vnitřní struktury. Další možnou příčinou vzniku VR ve vzorku oxycelulózy je znečištění vzorku oxidovanou formou kyseliny askorbové (**Obrázek 25**). Tento radikál vzniká po reakci s RONS a je pro buňky neškodný, působí jako antioxidant. Je snadno detekovatelný pomocí EPR spektroskopie. Obdobný trend byl pozorován i u vzorků Okcel H-D a Okcel H-T.



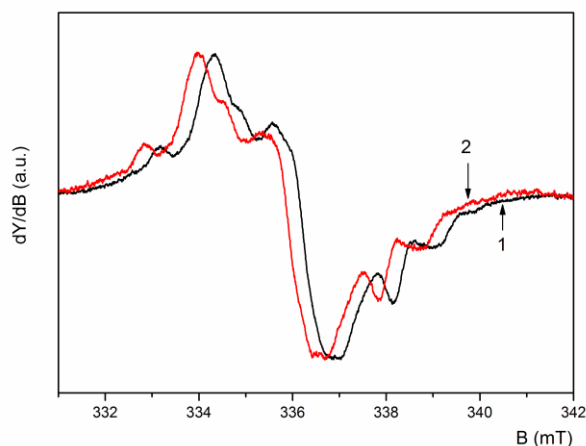
Obrázek 25. Oxidovaná forma kyseliny askorbové^[45]



Graf 3. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F **1**) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) promytý kyselinou askorbovou ($\nu = 9,4199$ GHz)

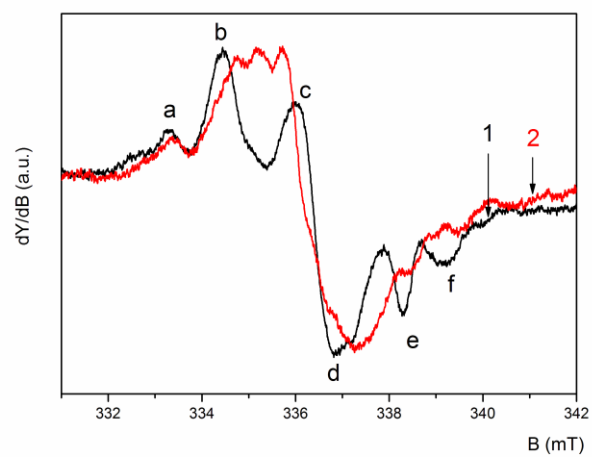
Jako silnější redukční činidlo byl použit roztok thiosíranu sodného. Jednotlivá EPR spektra mají podobnou intenzitu (**Graf 4**). Nepatrné posunutí spektra v ose x je způsobeno jinou

frekvencí. Thiosíran nejspíše vychytá volné radikály ve vodě. Následně ale nedochází ke snížení ani ke zvýšení VR zachycených ve vzorcích OC. Přítomná voda může vytvářet volné radikály jen na povrchu a tyto VR dokáže thiosíran vychytat, volné radikály zachycené uvnitř struktury OC ale zachytit nedokáže. Výsledkem je stejná koncentrace volných radikálů ve vzorku modifikované OC jako u nemodifikovaného vzorku (**Tabulka 2**). Obdobný trend byl pozorován i u vzorků Okcel H-D a Okcel H-T.



Graf 4. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F **1**) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) promytý thiosíranem sodným ($\nu = 9,4151$ GHz)

Poslední metodou, která byla využita pro studium stability volných radikálů ve sterilních vzorcích OC, je vliv kyseliny askorbové na roztok regenerovaného vzorku OC. Sterilní vzorek OC byl nejprve rozpuštěn v roztoku NaOH, následně byla k takto připravenému vzorku přidána kyselina askorbová, tu jsme nechali působit. Koncentrovanou kyselinou octovou byl pak zpětně vysrážen pevný vzorek OC. Z **Grafu 5** pozorujeme, že vzorek po regeneraci má srovnatelnou intenzitu jako nemodifikovaný vzorek. Nicméně změnou terciární struktury OC pozorujeme výraznou změnu EPR signálu. Místo rozlišených pásů (**a**, **b**, **c**) vidíme široký pás. Přídavek kyseliny askorbové měl snížit koncentraci volných radikálů ve vzorku. Pravděpodobně se zde také uplatnil efekt vody a kyseliny askorbové. Regenerací vzorku OC nedošlo ke snížení VR ve vzorku, ale k nepatrnému zvýšení VR vlivem výše zmíněných efektů. Obdobný trend byl pozorován i u vzorků Okcel H-D a Okcel H-T.



Graf 5. EPR spektra sterilního vzorku Okcel F **1**) neupravený ($\nu = 9,4156$ GHz), **2**) regenerovaný ($\nu = 9,4199$ GHz)

4 ZÁVĚR

V předkládané diplomové práci byla studována stabilita volných radikálů ve sterilních vzorcích oxidované celulózy Okcel F, Okcel H-D, Okcel H-T. OC má největší uplatnění jako zdravotnický materiál, a proto je nutné OC před použitím sterilizovat. Nejčastější metodou sterilizace je použití záření, to ale vyvolává ve struktuře oxycelulózy vznik volného radikálu na uhlíku C5.^[43] Na základě vyhodnocení EPR spekter bylo zjištěno, že koncentrace volných radikálů se ve sterilních vzorcích OC pohybuje v rozmezí $2,4-5,4 \times 10^{16} \text{ g}^{-1}$.

Byla studována stabilita přítomných radikálů po vnesení vzorku OC do vodného prostředí. Oproti předpokladu došlo k nárůstu koncentrace VR. Pravděpodobným důvodem je narušení struktury vlivem gama záření, kdy po kontaktu s destilovanou vodou došlo k úplnému rozrušení těchto poškozených vazeb, což se projevilo nárůstem VR ve struktuře OC.

Dále byla sledována možnost rekombinace radikálů přítomných ve vzorcích OC se stabilním radikálem TEMPOL. Při obou nejnižších koncentracích roztoku TEMPOL nedošlo k znatelnému snížení volných radikálů ve vzorcích OC. Koncentrace volných radikálů řádově odpovídá koncentraci v původních vzorcích. Při vysoké koncentraci roztoku TEMPOL dojde u všech vzorků k nárůstu koncentrace VR, která je způsobena zachycením stabilního radikálu TEMPOL na povrchu OC.

Při použití kyseliny askorbové, jako přirozeného antioxidantu a slabého redukčního činidla, nedošlo k očekávanému snížení koncentrace VR ve všech třech typech OC. Zvýšení koncentrace volných radikálů však odpovídá přítomnosti volného radikálu kyseliny askorbové vzniklého příslušnými redukčními procesy.

Dále byl použit thiosíran sodný jako silnější redukční činidlo. I v tomto případě bylo jednoznačně prokázáno, že u všech typů měřené OC nedochází ke snížení koncentrace přítomných volných radikálů.

Posledním pokusem bylo rozpuštění OC hydroxidem sodným a studium interakce s roztokem kyseliny askorbové. Bylo zjištěno, že oproti předpokladu naopak došlo k menšímu zvýšení koncentrace volných radikálů způsobené již dříve diskutovanými procesy.

Na základě zjištěných výsledků můžeme přepokládat, že radikály vzniklé sterilizací oxycelulózy jsou vysoce stabilní a nejsou uvolňovány do vodného prostředí. Dále nereagují s přítomnými antioxidanty nebo redukčními činidly. K jejich uvolnění nebo interakci nedochází ani v případě rozrušení struktury oxycelulózy.

Na základě toho můžeme soudit, že nedochází k uvolnění volných radikálů do biologického prostředí. Pro potvrzení předpokladu je však potřeba dalších biologických studií.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

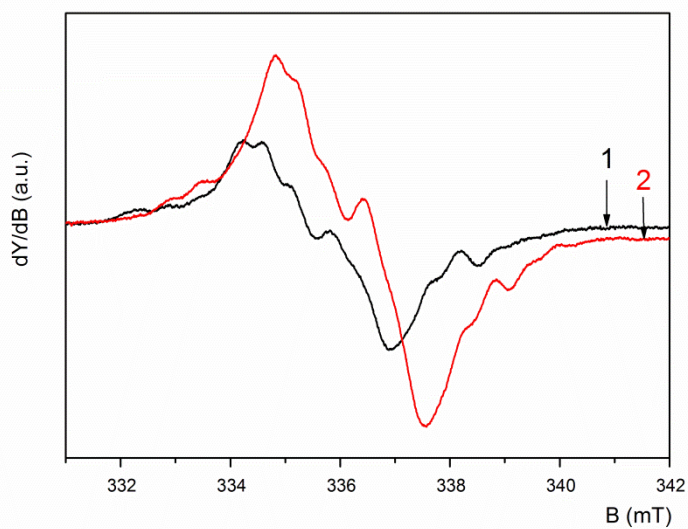
- [1] MLEZIVA, J., KÁLAL, J., *Základy Makromolekulární chemie*, SNTL, Praha, 1986, 225-230s. ISBN 04-621-86.
- [2] BOGAN, R. T., KUO, C. M., BREWER, R. J. *Celulose derivatives, ethers*. Ed. Grayson, vol. 5., Wiley – Interscience, New York, 1979, s. 118-143.
- [3] GREMINGER, G. K. jr. *Cellulose derivatives, ethers – Encyklopedia of chemical technology*. Ed. Grayson, vol. 5., Wiley - Interscience, New York, 1979, s. 144-163.
- [4] Oxycellulose Product Range. *Synthesia* [online]. Synthesia, a.s. © 2011 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: http://www.medtechnik.cz/katalog/synthesia/okcel_produktovy_letak_cz_final.pdf
- [5] ŠEFR, R., Souhrnná zpráva z testování účinnosti lokálního hemostatika Traumastem Taf v onkologické chirurgii, 2007, Masarykův onkologický ústav. Dostupné z: www.traumacel.cz/files/51_BIOSTER_MOU_souhrnna%20zpravaDocSefr_mensi.pdf
- [6] ŠTÍPEK, S. et al. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. Praha: Grada Publishing, Avicenum, 2000. ISBN 08-7169-704-4.
- [7] ŠŇUPÁREK, J. *Makromolekulární chemie. Úvod do chemie a technologie polymerů*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2009. ISBN 978-80-7395-166-5.
- [8] ARNDT T. Lignin. *Celostnimediceina.cz* [online]. ©2004-2018 [cit.2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.celostnimediceina.cz/lignin.htm>
- [9] Přehled nejdůležitějších dienů. *Eluc.kr-olomoucky.cz* [online]. ©2015 [cit.2018-04-23]. Dostupné z: <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/2400>
- [10] Obrázek [online, cit.2018-04-23]. Dostupné z: <https://parkslibrarypreservation.wordpress.com/2011/07/18/a-celebration-of-cellulose>
- [11] MIERTUS, S., BERTOCCHI, C., KREMPASKA, R., PAOLETTI, S. Conformational analysis of segments of oxidized cellulose. Part I: Molecular modelling of glucuronic acid dimers considering the effect of counter-ions and a polar environment. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1995**, 17 (3-4), 183-188.
- [12] VOTRUBOVÁ, O.: *Anatomie rostlin*, skriptum, Karolinum, Praha **1996**
- [13] Polysacharidy. *Biotox.cz* [online]. Pavel Krmenčík, ©2001-2007 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-sach-poly.html>

- [14] MLEZVIVA, J. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Praha: Sobotáles, 1993. ISBN 80-901570-4-1.
- [15] KAMIDE, K. *Cellulose and cellulose derivatives: molecular characterization and its applications*. Amsterdam: Elsevier, 2005. ISBN 0-444-82254-2.
- [16] SOVA, M., DASHOFER, V. Deriváty celulózy. TECHportal.cz [online]. Dashofer Holding s.r.o., ©1997-2018 [cit. 2018-04-23].
Dostupnéz:<https://www.techportal.cz/33/derivaty-celulozy-uniqueidmRRWSbk196FNf8jVUh4EqQUkSFod1GxiWg1SjfvX08/?query=celul%F3za&serp=1>
- [17] VANDAMME, E. J., De BAETS, S., STEINBÜCHEL, A.: Biopolymers – Volume 6 – Polysaccharides II – Polysaccharides from Eukaryotes. Weinheim: Wiley-VCH, **2002**. ISBN 3-527-30227-1.
- [18] BAKER, C. Methylcellulose & Sodium Carboxymethylcellulose: Uses in Paper Conservation. The American Institute for Conservation, **1982**.
- [19] OLIVIERA, H. G., SILVA, R. R., SILVA, H., TERCJAK A., GUTIERREZ, J., LUSTRI, W. R., OLIVIERA, O. B., RIBEIRO, S. J. L. A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. *Carbohydrate polymers*, **2016**, 153, 406-420.
- [20] BAKER, C. Methylcellulose & Sodium Carboxymethylcellulose: An Evaluation for Use in Paper Conservation through Accelerated Aging. Preprints of the Contributions to the Paris Congress, 2-8 September 1984: Adhesives and Consolidants, pp. 55-59. International Institute of Conservation.
- [21] BAJEROVÁ, M., KREJČOVÁ, K., RABIŠKOVÁ, M., GAJZIOK, J., MASTEIKOVÁ, R. Oxycellulose: Significant Characteristics in Relation to Its Pharmaceutical and Medical Applications. *Advances in Polymer Technology*, **2009**, 28 (3), 199 – 208
- [22] BAŘINKA, L., BLAŽÍČEK, I., ČERNÝ, P., LANGR, S., UHLÍŘ, J. Způsob výroby práškové oxidované celulózy. Inventors: BAŘINKA, L., BLAŽÍČEK, I., ČERNÝ, P., LANGR, S., UHLÍŘ, J. Int. Cl.: A61L 15/00, C08B 15/00. CZ 185366. 15. 09. 1980.
- [23] SYNTHESIA, a.s., Pardubice. Způsob přípravy bioresorbovatelné oxidované celulózy. Inventors: HAVELKA, P., SOPUCH, T., VÍŠEK, L., ŠTĚPÁN, J., VANĚRKOVÁ, D., MILICHOVSKÝ, M. Int. Cl.: C08B 15/04, C08B 15/02, C08L 1/02, C08L 1/04, A61L 15/28. A61L 17/00. CZ 298350 B6. 05. 09. 2007.

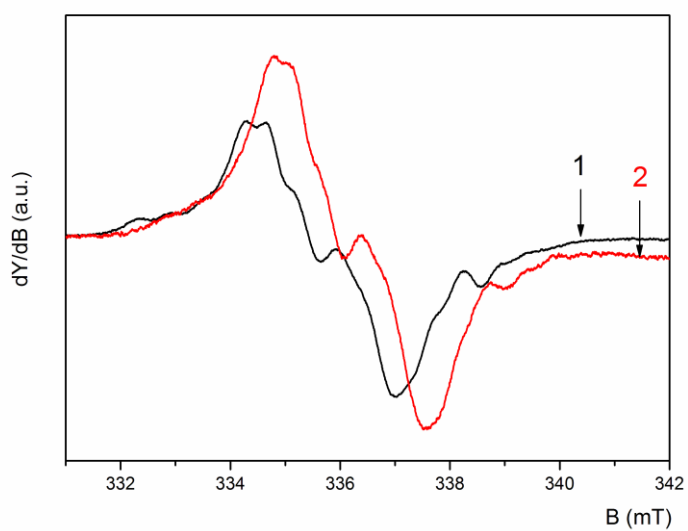
- [24] KAPUTSKI, F. N., BASCHMAKOV, I. A., BALABAEVA, M.D.: Nature of nitrogen in monocarboxylcellulose, *Vetsi akkad navuk BSSR Ser Khim*, **1975**, 4, 115-118.
- [25] McGEE, P. A., FOWLER, W. J. jr., TAILOR, E. W., UNRUH, C. C., KENYON, W. O. Investigation of the properties of cellulose oxidized by nitrogen dioxide V, Study of mechanism of oxidation in presence of karbon tetrachloride. *J. Am. Chem. Soc.*, **1947** b, 355-361.
- [26] JOHNSON & JOHNSON. Oxidized cellulose product and methods for preparing the same. Inventors: ASHTON, W. H., MOSER, C. E. Int. Cl.: A61L15/28, A61L15/64, C08B15/04, D01F11/02. US 3 364 200. 16. 01. 1968.
- [27] JOHNSON & JOHNSON MEDICAL, Inc. Cellulose oxidation by a perfluorinated hydrocarbon solution of nitrogen dioxide. Inventors: BOARDMAN, Franklin, SAFERSTEIN, Lowell. Int. Cl.: D06M 13/322. US 5 180 398. 19. 01. 1993.
- [28] ATSUHIKO, Z. A simple and highly partial oxidation of primary alcohol to acids mediated by 2,2,6,6 – tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO). *Chem. Pharm. Bull*, **2003**, 51 (7), 8888-8889.
- [29] DIMITRIJEVICH, S. D., TATARKO, M., GRACY, R. W. Biodegradation of oxidized regenerated cellulose. *Carbohydr. Res.*, **1990** a, 247-256.
- [30] DIMITRIJEVICH, S. D., TATARKO, M., GRACY, R. W., WISE, G. E., OAKFORD, L. X. In vivo degradation of oxidized regenerated cellulose. *Carbohydr. Res.*, **1990** b, 331-341.
- [31] Radiační sterilizace. Bioster. cz [online]. Bioster a. s., © 2009-2016 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://www.bioster.cz/radiacni-sterilizace>
- [32] NEUSCHLOVÁ, Kateřina. *Vliv radiační sterilizace na polymerní obalové materiály*. Brno, 2009. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=15696
- [33] RACEK, J., HOLEČEK, V. Enzymy a volné radikály. *Chemické listy*, **1999**, 93, 774-780.
- [34] KIMÁKOVÁ, T., PAVLÍK, V. *Antioxidanty a ich význam v prevencii chronických ochorení*. Košice 2017. vědecká monografie. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košicích. Lékařská fakulta. Ústav veřejného zdravotníctví.

- [35] HOLEČEK, V. Volné radikály a antioxidanty. *Celostnimedica.cz* [online]. ©2004-2018 [cit.2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.celostnimedica.cz/volne-radikaly-a-antioxidanty-mudr-vaclav-holecek-csc.htm>.
- [36] LANG, K., MOSINGER, J., WAGNEROVA, D. M. Singletový kyslík v praxi – současnost a perspektiva. *Chemické Listy*, **2006**, 100, 169–177.
- [37] VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M., MAZUR, M., TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **2007**, 39, 44-84.
- [38] WERTZ, J. E., BOLTON, J. R. *Electron Spin Resonance Elementary Theory and Practical Applications*, New York: McGraw-Hill Book Company, **1972**, 500 s. ISBN 978-94-010-8307-2.
- [39] ZEMAN, M., STOPKA, P., VECKA, M. et al. *Stanovení hydroxylových a nitroxidových radikálů u deprese a hyperlipidémie elektronovou paramagnetickou rezonancí*. In: *Chemické Listy* [online]. ©2009 [2018-04-23]. Dostupné na internetu: <http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2009_08_667-671.pdf>.
- [40] RIEGER, P. H. *Electron Spin Resonance – Analysis and Interpretation*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, **2007**, 173s. ISBN 978-0-85404-355-2.
- [41] PELIKÁN, P., STAŠKO, A. *EPR spektroskopie*. Bratislava: SVŠT, 1989. ISBN 80-657-1278-2.
- [42] JANDERA, P. Atomová a molekulová spektroskopie se zaměřením na stopovou analýzu kontaminantů. Díl B, Molekulová spektroskopie v organické analýze. Pardubice: Univerzita Pardubice, **2011**, 288 s. ISBN 978-80-7395-392-8.
- [43] KAMEYA, H., NAKAMURA H., UKAI, M., SHIMOYAMA, Y. Electron Spin Resonance Spectroscopy of Gamma – Irradiated Glucose Polymers. *Applied Magnetic resonance*, **2011**, 40, 395-404.
- [44] ČAPSKÁ, Nikola. *Identifikace volných radikálů v oxycelulóze EPR spektroskopii*. Pardubice, 2016. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice. Fakulta chemicko-technologická. Ústav organické chemie a technologie.
- [45] SATIS, B., N., DILIPKUMAR, P. Free radical, natural antioxidants, and their reaction mechanism. *Royal Society of Chemistry*, **2015**, 5, 27986.

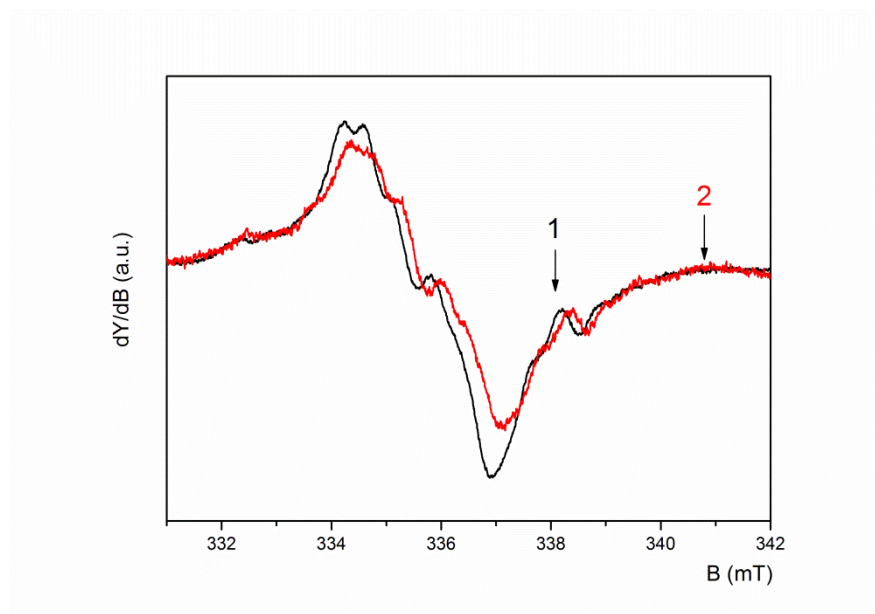
PŘÍLOHA



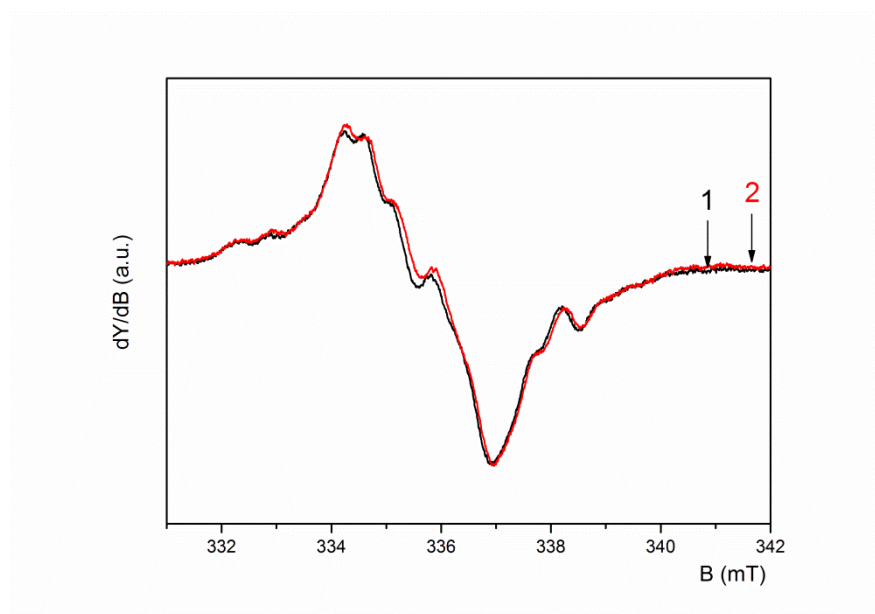
Graf 6. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1**) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2**) promytý vodou ($\nu = 9,4232$ GHz)



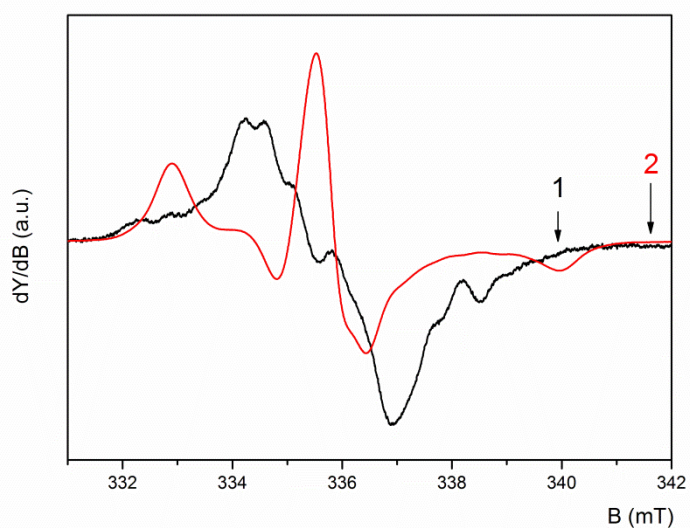
Graf 7. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2**) promytý vodou ($\nu = 9,4206$ GHz)



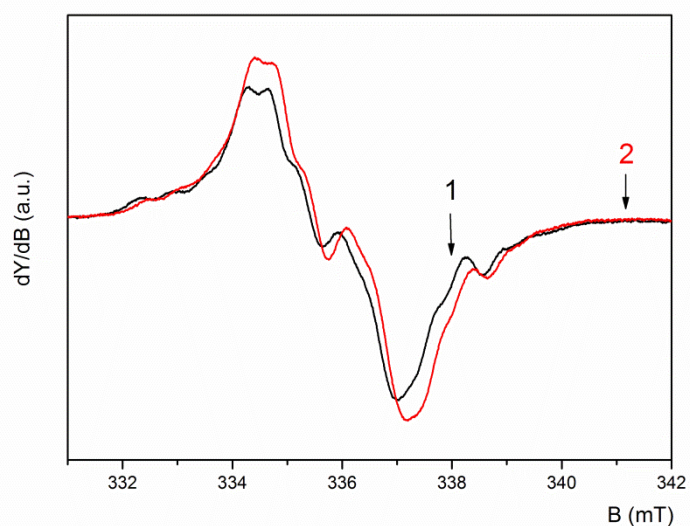
Graf 8. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1**) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2**) promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4157$ GHz)



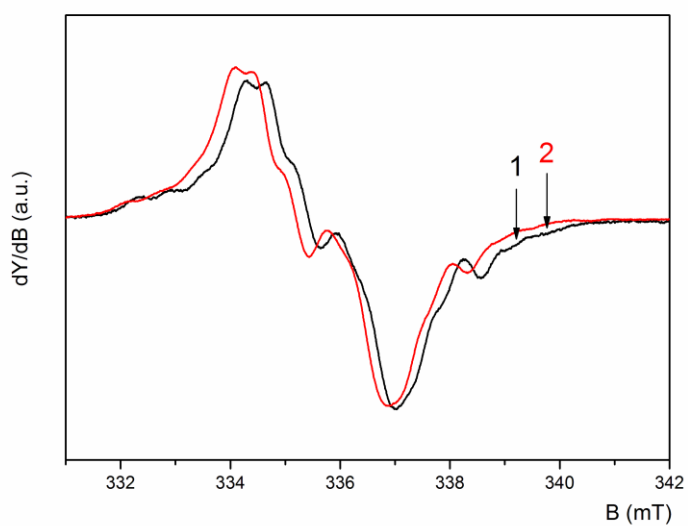
Graf 9. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1**) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2**) promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4117$ GHz)



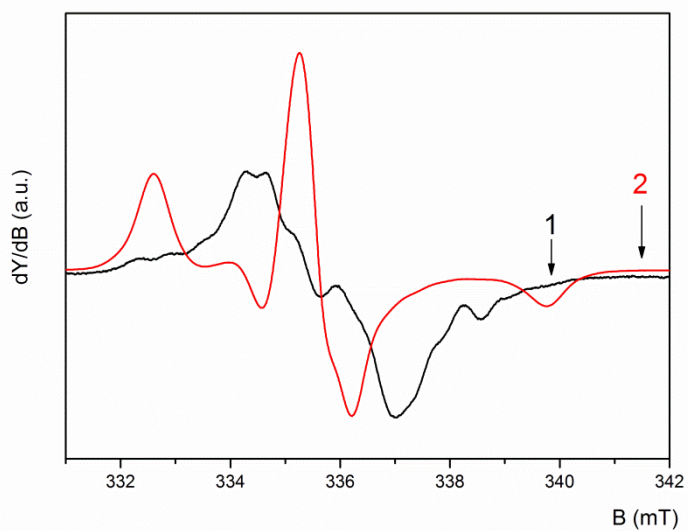
Graf 10. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1)** neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2)** promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4193$ GHz)



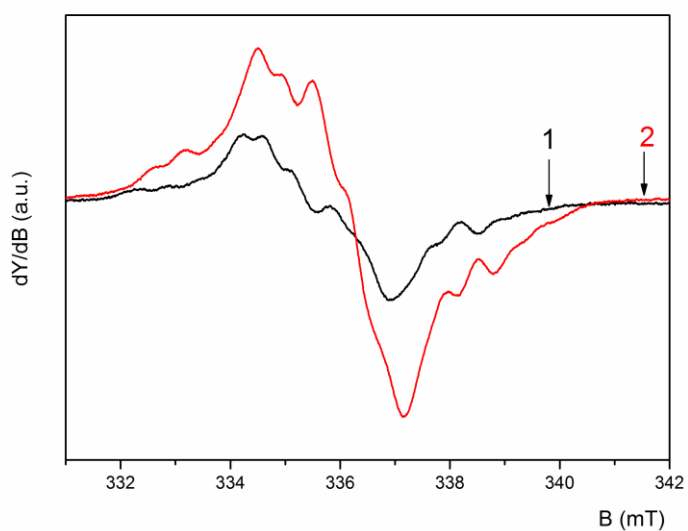
Graf 11. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1)** neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2)** promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4162$ GHz)



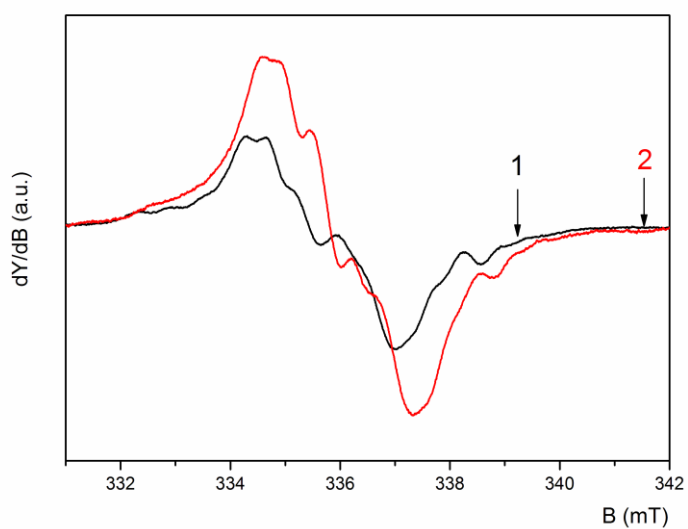
Graf 12. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1)** neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2)** promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4164$ GHz)



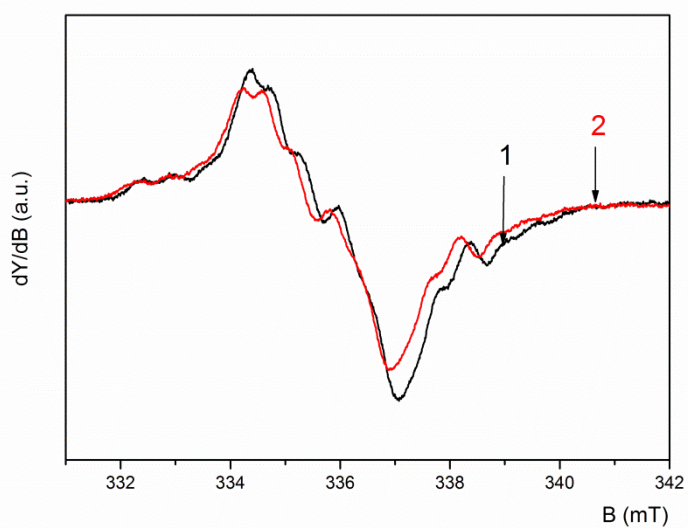
Graf 13. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1)** neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2)** promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4162$ GHz)



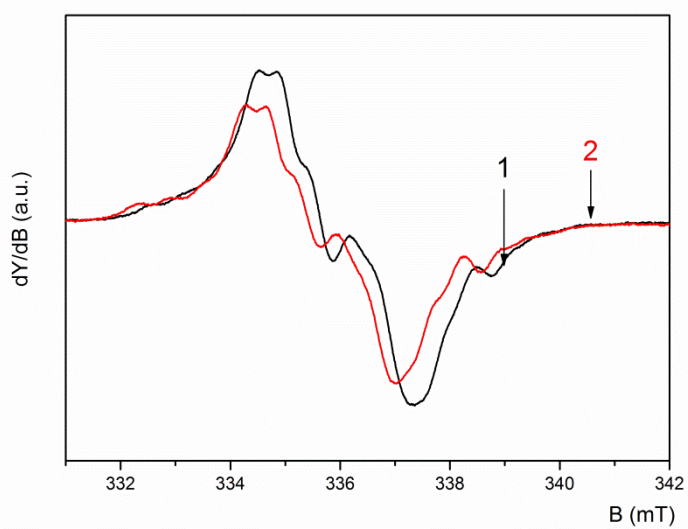
Graf 14. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1**) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2**) promytý roztokem kyseliny askorbové ($\nu = 9,4204$ GHz)



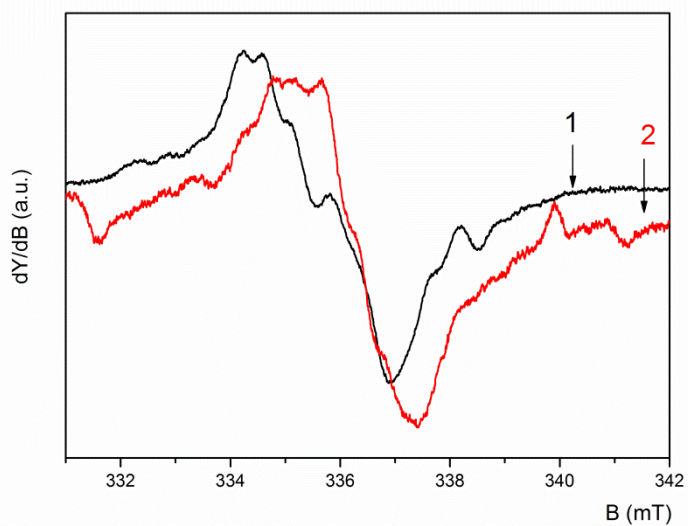
Graf 15. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2**) promytý roztokem kyseliny askorbové ($\nu = 9,4198$ GHz)



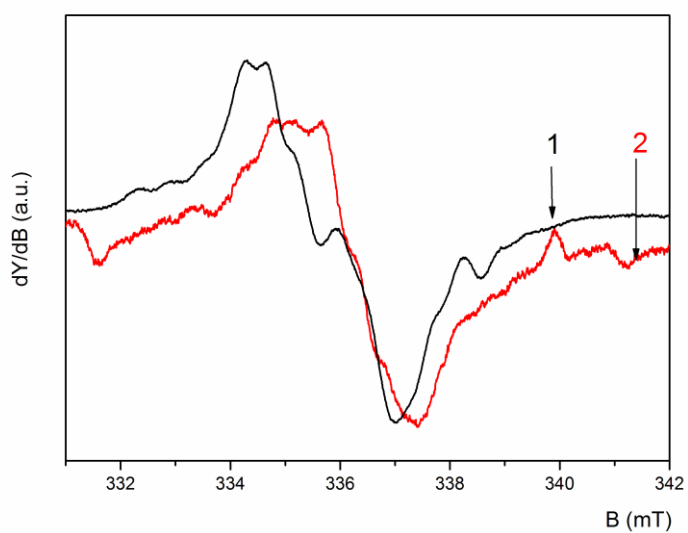
Graf 16. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1)** neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2)** promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4138$ GHz)



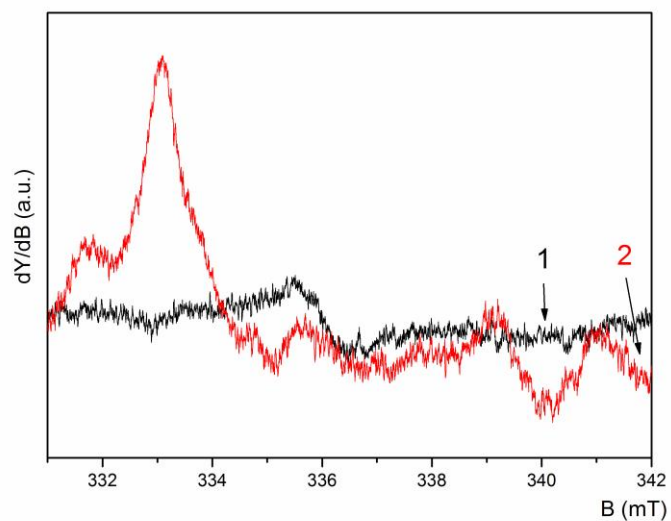
Graf 17. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1)** neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2)** promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4168$ GHz)



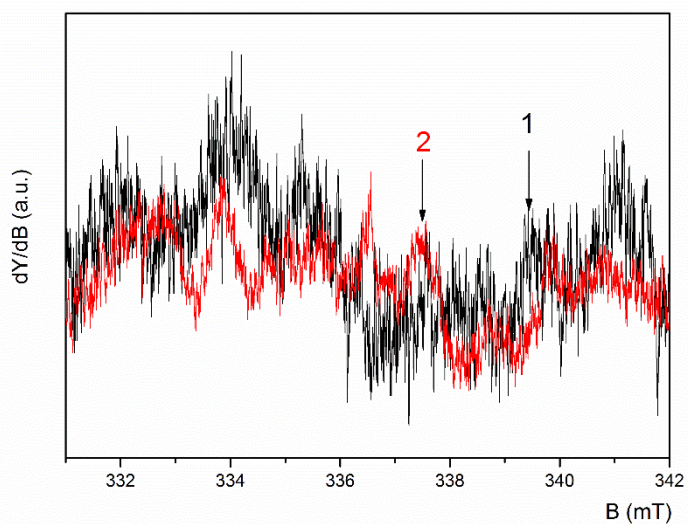
Graf 18. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-D **1**) neupravený ($\nu = 9,4198$ GHz), **2**) regenerovaný ($\nu = 9,4251$ GHz)



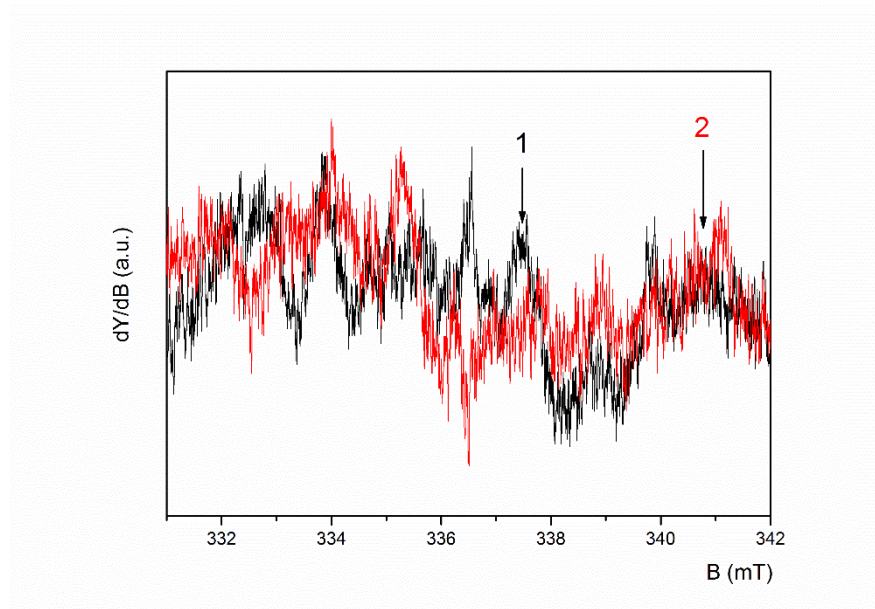
Graf 19. EPR spektra sterilního vzorku Okcel H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4119$ GHz), **2**) regenerovaný ($\nu = 9,4154$ GHz)



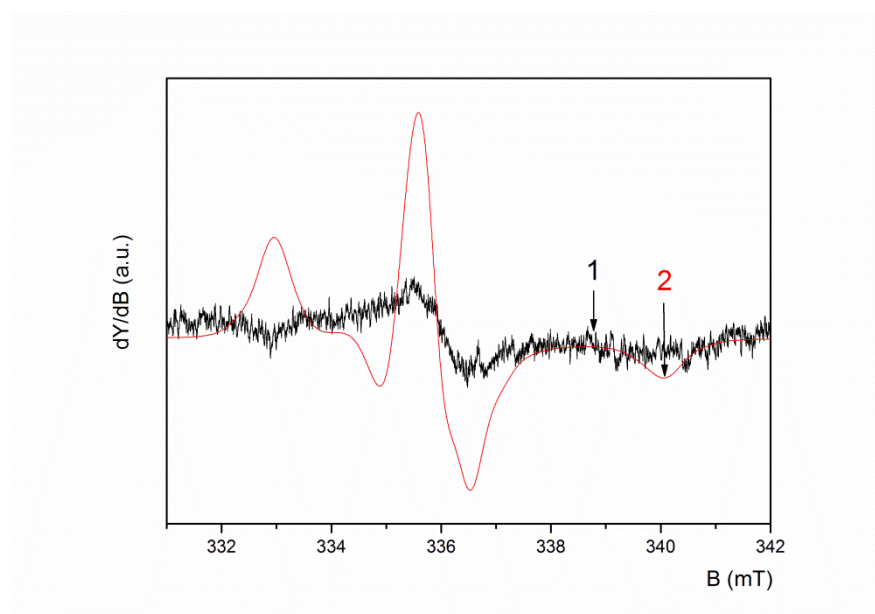
Graf 20. EPR spektra nesterilných vzorků Okcel F, H-D, H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), **2**) promytý vodou ($\nu = 9,4163$ GHz)



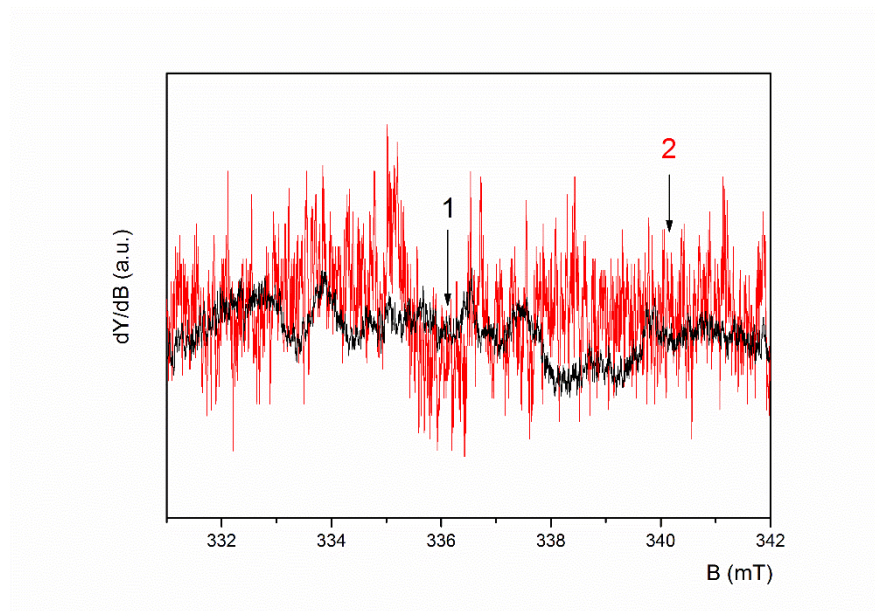
Graf 21. EPR spektra nesterilných vzorků Okcel F, H-D, H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), **2**) promytý roztokem TEMPOL o $c = 2,55 \cdot 10^{-4}$ mol/l ($\nu = 9,4129$ GHz)



Graf 22. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), **2**) promytý roztokem TEMPOL o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4181$ GHz)



Graf 23. EPR spektra nesterilních vzorků Okcel F, H-D, H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), **2**) promytý roztokem TEMPOL o $c = 9,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ($\nu = 9,4154$ GHz)



Graf 24. EPR spektra nesterilných vzorků Okcel F, H-D, H-T **1**) neupravený ($\nu = 9,4128$ GHz), **2**) promytý roztokem thiosíranu sodného ($\nu = 9,4159$ GHz)

ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	Stabilita volných radikálů ve sterilizované oxycelulóze
Autor práce	Bc. Nikola Čapská
Obor	Technologie organických specialit
Rok obhajoby	2018
Vedoucí práce	Ing. Jan Honzíček, Ph.D.
Anotace	Tato diplomová práce pojednává o stabilitě volných radikálů ve sterilizované oxycelulóze. První část práce je věnována poznatkům o přírodních polymerech, jejich vlastnostech, izolaci a použití v průmyslu. Podstatná část je věnována celulóze a jejím derivátům se zaměřením na výrobu, vlastnosti a sterilizaci oxycelulózy. V druhé části je uvedeno studium přítomnosti a stability volných radikálů vznikajících při sterilizaci oxycelulózy γ zářením. Jednotlivé vzorky byly vyhodnocovány EPR spektroskopii.
Klíčová slova	biopolymery, celulóza, deriváty celulózy, oxycelulóza, volné radikály, EPR spektroskopie