MASARYKOVA
UNIVERZITA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

ANALÝZA PLASTŮ PRO HODNOCENÍ KVALITY S VYUŽITÍM PRO FARMACEUTICKÉ OBALY

Diplomová práce

ADÉLA SYNKOVÁ

Vedoucí práce: Mgr. Michaela Kuchynka, Ph.D.

Ústav chemických léčiv
Program Farmacie

Brno 2026

MUNI
PHARM

Bibliografický záznam

Autor: Adéla SYNKOVÁ
Farmaceutická fakulta
Masarykova univerzita
Ústav chemických léčiv

Název práce: ANALÝZA PLASTŮ PRO HODNOCENÍ KVALITY S VYUŽITÍM PRO FARMACEUTICKÉ OBALY

Studijní program: Farmacie

Vedoucí práce: Mgr. Michaela Kuchynka, Ph.D.

Rok: 2026

Počet stran: 88

Klíčová slova: recyklovaný PET, polymerní materiály, LA-ICP-MS, těžké kovy, ICP-MS, migrace prvků, farmaceutické obaly, legislativní limity

Bibliographic record

Author: Adéla SYNKOVÁ
Faculty of Pharmacy
Masaryk University
Department of Chemical Drugs

Title of Thesis: ANALYSIS OF PLASTICS FOR QUALITY EVALUATION IN PHARMACEUTICAL PACKAGING APPLICATIONS

Degree Programme: Pharmacy

Supervisor: Mgr. Michaela Kuchynka, Ph.D.

Year: 2026

Number of Pages: 88

Keywords: recycled PET, polymeric materials, LA-ICP-MS, heavy metals, ICP-MS, element migration, pharmaceutical packaging, regulatory limits

Anotace

Práce se zabývá analýzou polymerních materiálů, včetně recyklovaného PET. Obsah těžkých kovů byl stanoven metodou LA-ICP-MS a ve výluzích pomocí ICP-MS. Naměřené koncentrace byly porovnány s požadavky Evropského lékopisu a legislativními limity. Výsledky ukazují nízkou migraci prvků a naznačují bezpečnost hodnocených materiálů.

Abstract

This thesis focuses on the analysis of polymeric materials, including recycled PET, for pharmaceutical packaging. Heavy metal content was determined using LA-ICP-MS and in extracts by ICP-MS. The results were compared with European Pharmacopoeia requirements and regulatory limits. The findings indicate low element migration and suggest the safety of the evaluated materials.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **ANALÝZA PLASTŮ PRO HODNOCENÍ KVALITY S VYUŽITÍM PRO FARMACEUTICKÉ OBALY** zpracovala sama**.** Veškeré prameny a zdroje informací, které jsem použila k sepsání této práce, byly citovány v textu a jsou uvedeny v seznamu použitých pramenů a literatury.

V Brně 16. dubna 2026

.....
Adéla SYNKOVÁ

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Mg. Michaele Kuchynce, Ph.D., za odborné vedení, čas věnovaný konzultacím a cenné rady při zpracování diplomové práce. Děkuji také za její pečlivou kontrolu textu, která významně přispěla k finální podobě této práce.

Velké poděkování patří také Mgr. Janu Biskupičovi za jeho ochotu, trpělivost a odbornou pomoc v laboratoři. Děkuji mu také za pomoc při realizaci experimentální části práce, vysvětlení metodiky a následnou pomoc se zpracováním výsledků.

Tato práce vznikla za podpory projektu MUNI/A/1450/2024 „Detekce mikroplastů v organismu: od chemické charakteristiky po 3D zobrazení“.

Obsah

Seznam obrázků ... **13**

Seznam tabulek ... **14**

Seznam pojmů a zkratek ... **15**

Seznam příloh ... **17**

Úvod ... **18**

1 Teoretická část ... **19**

1.1 Plasty ... *19*

1.2 Farmaceutické obaly ... *23*

1.3 Životní cyklus plastu, recyklace a rPET ... *25*

1.4 Mikroplasty ... *28*

1.5 Těžké kovy v plastech a mikroplastech ... *30*

1.6 Legislativní limity těžkých kovů ... *31*

1.7 Analýza plastů ... *35*

2 Experimentální část ... **40**

2.1 Použité materiály a chemikálie ... *41*

2.2 Přístrojové vybavení ... *41*

2.3 Optimalizace a vývoj metody ... *42*

2.4 Metoda externí kalibrace ... *45*

2.5 Metoda přídavku standardu ... *47*

2.6 Stanovení extrahovatelných kovů ... *50*

2.7 Podmínky laserové ablace ... *54*

3 Výsledky a diskuse ... **55**

3.1 Výsledky optimalizace laserové ablace ... *55*

3.2 Výsledky externí kalibrace ... *57*

3.3 Výsledky metody přídavku standardu ... *60*

3.4 Analýza extraktů metodou ICP-MS ... *63*

3.5 Porovnání výsledků a hodnocení kvality a bezpečnosti analyzovaných materiálů ... *66*

5 Závěr ... **72**

Použité zdroje ... **75**

Příloha A Doplňující grafy optimalizace laserové ablace 81

A.1 Grafy homogenity standardních kapek PS 81

A.2 Test lineární regrese – kalibrační křivka Sb ve standardu PS 83

Příloha B Doplňující výsledky a porovnání 84

B.1 Koncentrace prvků v extraktech (mg/L) 84

B.2 Porovnání se specifickými migračními limity (mg/kg) 84

B.3 Porovnání obsahu prvků v materiálech a jejich extraktech (μg/g) a podíl extrahovaného množství (%) 85

B.4 Doplněk stravy z Číny – obsah prvků v PET obalu, jeho výluhu, výluhu tablety (μg/g) a podíl extrahovaných látek (%) 86

Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma výroby PET (upraveno podle [11]) 22
Obrázek 2: Schéma metody LA-ICP-MS 37
Obrázek 3: Souhrnné schéma experimentální části 40
Obrázek 4: Rozpouštění PETu v NMP – A), B) větší granule PET; C), D) nerozpuštěný jemný prach PET 42
Obrázek 5: Příprava standardů PS – A) STD roztoky; B) STD nanesené na podložním skle 43
Obrázek 6: Teplota rozpouštění TFA [42] 44
Obrázek 7: Linie ablace kapky PS 44
Obrázek 8: Příprava standardů PET – A) rozpouštění PET v TFA; B) homogenní STD roztoky PET C) kapky STD PET nanesené na podložním skle 46
Obrázek 9: Příprava vzorků rPET – A) vzorky rPET; B) rozpuštěný vzorek rPET v TFA; C) nerozpuštěný vzorek blistru LP Ibalgin; D) PET STD a vzorky připravené k analýze 46
Obrázek 10: Příprava PET vzorku obalu doplňku stravy z Číny – A) doplněk stravy; B) mechanická úprava PET obalu; C) rozpouštění PET obalu v TFA 48
Obrázek 11: PET vzorky připravené metodou přídavku STD – A) PET vzorky; B) kapky vzorků nanesené na podložním skle; C) linie ablace kapek 48
Obrázek 12: Příprava PVC vzorku – A) PVC blistry LP; B) nerozpuštěné koncentrace; C) maximální rozpuštěná koncentrace 60 mg/L; D) kapky vzorku nanesené na podložním skle 50
Obrázek 13: Příprava extraktu z tablet doplňku stravy z Číny – A) výluh tablety; B) drcení tablet 52
Obrázek 14: Příprava polymerních extraktů – A) analyzované materiály; B) zahřívání extraktů 53
Obrázek 15: Test energie laseru – A) šedá C, modrá Si; B) modrá Co, šedá Sb. 55
Obrázek 16: Test homogenity a distribuce prvků 56
Obrázek 17: Test lineární regrese Co ve standardní kapce PS 56
Obrázek 18: Kalibrační křivka pro stanovení Co metodou externí kalibrace 57
Obrázek 19: Kalibrační křivka pro stanovení Sb metodou externí kalibrace 58
Obrázek 20: Grafické znázornění obsahu Co a Sb ve vzorcích 58
Obrázek 21: Snímky všech kapek – Co, Sb 60
Obrázek 22: Grafické zobrazení výsledných koncentrací prvků v PET vzorcích 61
Obrázek 23: Grafické zobrazení výsledků metody přídavku STD u PVC vzorku 62
Obrázek 24: Kalibrační křivky pro stanovení Sb a Zn v extraktech vzorků 64
Obrázek 25 Obsah prvků v extraktech analyzovaných vzorků (ICP-MS) 65

Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled polymerů, jejich zdroje, použití a rizika [6] 20
Tabulka 2: Plastová aditiva; inspirováno [2] 21
Tabulka 3: Příklady polymerů ve farmaceutických obalech [12] 24
Tabulka 4: Specifické migrační limity vybraných prvků [34] 32
Tabulka 5: Limitní hodnoty dle Ph. Eur pro polyvinylchlorid (PVC) [36] 33
Tabulka 6 Limitní hodnoty dle Ph. Eur. pro polyethylentereftalát (PET) [36] 34
Tabulka 7: Přípustná denní expozice (PDE) vybraných prvků [37] 35
Tabulka 8: Hodnoty RED pro vybraná rozpouštědla PET [43] 43
Tabulka 9: Schéma přípravy PET vzorků (externí kalibrace) 45
Tabulka 10: Schéma přípravy kalibrační řady STD roztoků pro PET (metoda přídavku STD) 47
Tabulka 11: Příprava vzorků PET pro metodu přídavku STD 48
Tabulka 12: Schéma přípravy kalibrační řady STD roztoků pro PVC (metoda přídavku STD) 49
Tabulka 13: Příprava vzorku PVC pro metodu přídavku STD 49
Tabulka 14: Schéma přípravy kalibrační řady pro extrakty vzorků 51
Tabulka 15: Příprava extraktů PET vzorků 52
Tabulka 16: Příprava extraktu PVC blistru léčivého přípravku Magnesii lactici 53
Tabulka 17: Podmínky laserové ablace 54
Tabulka 18: Hodnoty LOD/LOQ pro Co a Sb stanovené při optimalizaci metody 57
Tabulka 19: Obsah Co a Sb ve vzorcích stanovený metodou externí kalibrace 59
Tabulka 20: Výsledné koncentrace prvků u PET vzorků získaných metodou přídavku STD 61
Tabulka 21: Výsledky metody přídavku STD u PVC vzorku 62
Tabulka 22: Porovnání rozsahu koncentrací prvků u PVC vzorku 63
Tabulka 23 Koncentrace extrahovatelných kovů ve vzorcích stanovené metodou ICP-MS (μg/g) 65
Tabulka 24 Porovnání výsledků metod LA-ICP-MS (μg/g) 67
Tabulka 25 Porovnání obsahu prvků v polymerech a jejich extraktech 68
Tabulka 26 Porovnání obsahu prvků v obalu doplňku stravy z Číny, jeho extraktu a v tabletě 69
Tabulka 27 Porovnání výsledků s limity Evropského lékopisu [36] 70
Tabulka 28 Porovnání výsledků se specifickými migračními limity [34] 71

Seznam pojmů a zkratek

BHET	–	bis(2-hydroxyethyl)tereftalát
BPA	–	bisfenol A
CO_2	–	oxid uhličitý
CRM	–	certifikovaný referenční materiál
DMT	–	dimethyltereftalát
DS	–	doplněk stravy
EFSA	–	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
FDA	–	Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv
HCl	–	kyselina chlorovodíková
HDPE	–	vysokohustotní polyethylen (high-density polyethylene)
HNO_3	–	kyselina dusičná
ICP-AES	–	atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-MS	–	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICH Q3D	–	guidline pro elementární nečistoty
LA-ICP-MS	–	laserová ablační hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
LDPE	–	nízkohustotní polyethylen (low-density polyethylene)
LIBS	–	laserem indukovaná rozkladová spektroskopie
LP	–	léčivý přípravek
MEG	–	monoethylglykol
MP	–	mikroplasty
MQ-voda	–	Milli-Q (ultračistá voda)
MS	–	hmotnostní spektrometrie
NaOH	–	hydroxid sodný
NIST	–	National Institute of Standards and Technology
NP	–	nanoplasty
NMP	–	N-methyl-2-pyrrolidon

OML – celkový migrační limit
PC – směsný plastový odpad po spotřebě
PDE – přípustná denní expozice
PE – polyethylen
PET – polyethylentereftalát
Ph. Eur. – Evropský lékopis
PI – postindustriální
PP – polypropylen
PS – polystyren
PTA – čištěná kyselina tereftalová
PU – polyuretan
PVC – polyvinylchlorid
RED – relativní energetický rozdíl
rPET – recyklovaný polyethyletereftalát
RSD – relativní směrodatná odchylka
SD – směrodatná odchylka
SML – specifické migrační limity
SPW – pevný plastový odpad
STD – standard
TFA – kyselina trifluoroctová
XRF – rentgenová fluorecence

Seznam příloh

Přílohy v textu

Příloha A Doplňující grafy optimalizace laserové ablace 81
Příloha B Doplňující výsledky a porovnání 84

Úvod

Bezpečnost a chemická čistota obalových materiálů pro léčivé přípravky představují zásadní aspekt ovlivňující stabilitu a kvalitu farmaceutických produktů. S rostoucím využitím polymerních materiálů, včetně recyklovaných plastů, se zvyšuje potřeba citlivých a spolehlivých analytických metod schopných detekovat stopové kontaminanty, zejména těžké kovy, a současně posoudit jejich migrační potenciál. Tradiční přístupy založené na analýze výluhů neposkytují kompletní obraz o distribuci prvků v materiálu ani o jejich vazbě v polymerní matrici. Tato práce se zaměřuje na využití laserové ablace s indukčně vázaným plazmatem a hmotnostní spektrometrií (LA-ICP-MS) jako nástroje pro přímou multielementární analýzu polymerních materiálů, včetně recyklovaného polyethylenu (rPET). Metodika byla optimalizována pro stanovení vybraných prvků a doplněna o srovnání s konvenční analýzou výluhů pomocí ICP-MS. Klíčovým aspektem bylo rovněž nastavení vhodné kalibrační strategie, přičemž metoda přídavku standardu prokázala nejlepší schopnost kompenzovat vliv polymerní matrice.

Výsledky ukazují, že sledované materiály obsahují pouze nízké koncentrace prvků a jejich migrační potenciál je výrazně pod limity stanovenými Evropským lékopisem. Současně však práce demonstruje, že kombinace přímé analýzy pevných vzorků a analýzy výluhů poskytuje komplexnější a relevantnější informaci o chování prvků v polymerních systémech. Získané poznatky potvrzují LA-ICP-MS jako silný nástroj pro hodnocení polymerních farmaceutických obalů a ukazují jeho potenciál pro detailní charakterizaci materiálů, která je nezbytná pro jejich bezpečné využití, zejména v případě recyklovaných plastů a při hodnocení interakcí mezi obalem a léčivem.

1 Teoretická část

1.1 Plasty

Plasty jsou materiály vyrobené z široké škály polysyntetických nebo syntetických organických sloučenin, které lze ve změkčeném stavu tvarovat a následně pak vytvrdit do velmi tuhé nebo mírně pružné formy. Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii (IPAC) definuje plasty jako obecný termín používaný v případě „polymerních materiálů, které pak mohou obsahovat i jiné látky za účelem zlepšení vlastností a/nebo snížení nákladů“. Mezi tyto látky mohou patřit i těžké kovy, například Sb používaný jako aditivum při výrobě polymerů, zejména polyethylentereftalátu (PET). Další běžně používaná aditiva a jejich funkce jsou podrobněji uvedeny v kapitole 1.1.1. [1]

Hlavní rys těchto materiálů se odráží v původu slova: slovo plast pochází z řeckých slov *plastikos*, což znamená „tvarování schopný“ a *plastos* „tvarovaný“. Vyznačují se nízkou cenou, snadnou výrobou a vysokou odolností vůči vodě, chemikáliím, teplotním změnám a slunečnímu záření. Tyto vlastnosti způsobily, že plasty nahradily mnoho materiálů, včetně dřeva, papíru, kovu, skla a kůže. [2] Avšak po jeho použití se právě biologická a chemická odolnost stává největší nevýhodou, zejména pokud mluvíme o likvidaci plastového odpadu. [1]

Plasty jsou charakterizovány jako pomalu se rozkládající polymery, které se rozkládají až stovky let. Běžně se vyskytují v předmětech denní potřeby, zejména v obalech potravin, kosmetiky, léčiv a jsou z nich vyráběny i např. zdravotnické prostředky. [3] Skládají se převážně z polymerů na bázi uhlíku (70-99 %) a dalších přísad, jejichž přidáním je zajištěna požadovaná funkčnost. Mezi přísady lze zařadit změkčovadla, antioxidanty, pigmenty a plniva, přičemž jednotlivá aditiva, včetně jejich rizikových složek, jsou shrnuta v tabulce č. 2. [4] Plasty se získávají z fosilních paliv i obnovitelných zdrojů, jako jsou sacharidy. [5] Při výrobě a rozkladu plastů mohou vznikat chemické látky spojované s významnými zdravotními riziky, včetně poruch reprodukce, metabolických onemocnění, nádorových onemocnění, poruch štítné žlázy či kardiovaskulárních chorob, a to nejen u lidí, ale také u volně žijících živočichů. [6] Je k dispozici přibližně 50 základních polymerů a 60000 plastových výrobků. [7] Přehled běžně používaných polymerních materiálu, spolu s jejich zdroji, použitím a zdravotními riziky s nimi spojenými jsou uvedeny v tabulce 1: [6]

Tabulka 1: Přehled polymerů, jejich zdroje, použití a rizika [6]

Typ polymeru	Zdroj	Použití	Rizika spojovaná s používáním
PET (polyethylentereftalát)	Kyselina tereftalová (ropa), ethylenglykol (zemní plyn)	Obaly potravin a nápojů	migrace látek do potravin, toxicita, dopad na životní prostředí
HDPE (high-density polyethylene)	Ropné produkty	Nákupní tašky, vybavení dětských hřišť, lahve na šampony	Dráždivost (oči, kůže, nosní sliznice) endokrinní poruchy
PVC (polyvinylchlorid)	Vinylchlorid	Rámy oken dveří	Dráždivost (oči, dýchací cesty)
LDPE (low-density polyethylene)	Ropa a zemní plyn	Sáčky, obaly a nádoby	Migrace toxických látek po zahřátí
PP (polypropylen)	Ropné produkty	Nádoby na potraviny, zdravotnické pomůcky, dětské pleny	Dráždivost (kůže, dýchací cesty, trávící trakt), karcinogenní
PS (polystyren)	Styren	Kelímky, izolační materiály, jednorázové nádobí	Migrace po zahřátí, karcinogenní, neurotoxický
Polykarbonát	Bisfenol A (BPA) a fosgen	Sluneční, sportovní a ochranné brýle, CD	Migrace BPA do potravin, endokrinní a kardiovaskulární rizika

Vzniká tedy velké množství biologicky nerozložitelných plastových odpadů. Celosvětová výroba plastů se od roku 2002 zvýšila téměř o 80 %. [2] Produkce plastových odpadů za rok 2021 přesáhla 390 milionů tun a odhaduje se, že tento odpad tvoří přibližně 10 % z celkového komunálního odpadu ve světě. [1] Recyklační technologie mohou snížit hromadění plastových odpadů, avšak zároveň znečišťují životní prostředí, spotřebovávají velké množství energie a vyžadují vysoké investiční náklady. [2] Bohužel méně než 10 % surovin používaných při výrobě plastů tvoří recyklované materiály, jelikož množství recyklovaného plastu roste mnohem pomaleji než jeho celková produkce. [1]

Velké i mikroskopické plastové částice jsou všudypřítomnými kontaminanty ve vodních i suchozemských ekosystémech, a představují významné hrozby pro mořskou

biodiverzitu a zdraví životního prostředí. [8] Podle dostupných údajů končí až 80 % roční produkce plastu v oceánech. [2, 9] Plastový odpad se hromadí ve vodních tocích a mořských biotopech po celém světě a mohou přetrvávat až po staletí, přičemž se rozpadá na menší fragmenty. Výrazným příkladem enviromentálního dopadu je Velká pacifická odpadková skvrna, která vznikla nahromaděním plastových částic na jednom místě, vlivem mořských proudů. [2]

Rozklad plastů vede k tvorbě mikroplastů a nanoplastů, které snadno penetrují skrze biologické bariéry a hromadí se tak v potravním řetězci. Tyto změny mohou vznikat např. v důsledku nesprávného skladování léčiv (vysoká teplota, mechanická námaha apod.), které mohou vést k degradaci materiálu. [6]

1.1.1 Aditiva

Plastové materiály nepředstavují ekologickou hrozbu pouze jako samostatné látky, ale také prostřednictvím svých přísad a interakcí s okolním prostředím. Přestože jsou plasty považovány za biochemicky inertní, většina z nich obsahuje nízkomolekulární aditiva. Tyto přísady jsou často lipofilní, což jim umožňuje pronikat buněčnými membránami a potencionálně ovlivňovat biochemické procesy v organismech. Přesné mechanismy toxicity mikroplastů jsou stále málo prozkoumané, pravděpodobně zahrnují tyto cesty: stres způsobený jejich přítomností v organismu (např. energie vynaložená na vyloučení, fyzická blokáda trávícího traktu) a právě toxické účinky aditiv. [2] Běžná plastová aditiva jsou prezentována v tabulce č. 1.:

Tabulka 2: Plastová aditiva; inspirováno [2]

Aditiva	Příklady nebezpečných kontaminantů
Retardéry hoření	Chlorované parafíny, kyselina boritá
Plastifikátory	Benzylbutylftalát, diisooktylftalát, dibutylftalát
Stabilizátory	Sloučeniny arsenu, kadmia a olova, organociničité sloučeniny, bisfenol A (BPA)
Vytvrzovací činidla	Formaldehyd
Barviva	Oxid titaničitý, amoniové sloučeniny, aminy, organické fosfáty
Antistatická aditiva	Kvarterní amoniové sloučeniny, aminy, organické fosfáty
Pomocné látky při zpracování	Vápník, zinek a olověné stearáty, ropné vosky

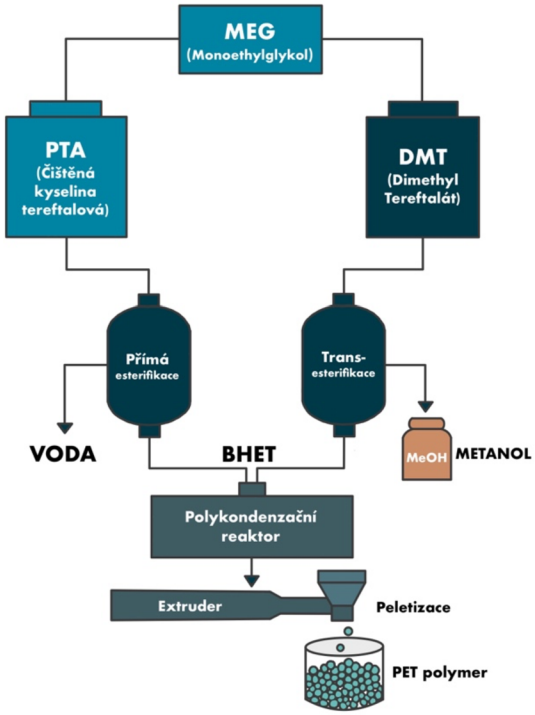
1.1.2 Výroba polyethylentereftalátu

Polyethylentereftalát (PET) je jedním z nejvýznamnějších polymerních materiálů současnosti. Vyznačuje se výbornými mechanickými vlastnostmi, vysokou tepelnou stabilitou, transparentností a nízkou propustností pro kapaliny a plyny. Díky těmto vlastnostem má široké uplatnění zejména při výrobě nápojových lahví, obalových materiálů potravin a syntetických textilních vláken. Vzhledem ke své stabilitě a odolnosti vůči hydrolytické a enzymatické degradaci se stal hlavní složkou plastového odpadu v životním prostředí. [10]

PET se vyrábí primárně polykondenzací čištěné kyseliny tereftalové (PTA) nebo dimethyltereftalátu (DMT) s monoethylenglykolem (MEG), přičemž všechny tyto suroviny jsou odvozené z petrochemických zdrojů. Výrobní proces probíhá dvěma hlavními cestami: přímou esterifikací (využívající PTA) nebo transesterifikací (s DMT), po které následuje polykondenzace, jejímž výsledkem je PET s vysokou molekulovou hmotností. [11]

V případě PTA cesty reaguje kyselina tereftalová s MEG v esterifikačním reaktoru při zvýšených teplotách (200–270 °C) za vzniku bis(2-hydroxyethyl)tereftalátu (BHET) a vedlejším produktem je voda. Při DMT cestě dochází k transesterifikaci s MEG, při níž vzniká methanol jako vedlejší produkt. Oba meziprodukty následně podléhají polykondenzaci ve vakuu při teplotě až 300 °C, čímž vzniká roztavený PET polymer, který se poté extruduje a peletuje pro další zpracování. [11]

Schéma výroby PETu je shrnuto na obrázku č. 1.



Obrázek 1: Schéma výroby PET (upraveno podle [11])

1.2 Farmaceutické obaly

Farmaceutický sektor je jedním z nejvíce regulovaných odvětví v Evropě i ve světě a podléhá přísným požadavkům zaměřeným na zajištění kvality, bezpečnosti a účinnosti léčivých přípravků. Ve srovnání s jinými průmyslovými odvětvími, jako je kosmetický a potravinářský průmysl, podléhá tento farmaceutický sektor výrazně přísnějším regulačním rámcům, což se odráží v nárocích kladených na použité obalové materiály. Obaly hrají ve farmaceutickém systému klíčovou roli, neboť jejich hlavním účelem je uchovávat, chránit, přepravovat a identifikovat léčivé přípravky až do okamžiku jejich podání pacientovi či použití, a zároveň poskytovat informace nezbytné k jejich správnému a bezpečnému užívání. Při návrhu primárního obalu, které je v přímém kontaktu s léčivem, jsou zohledňovány také aspekty uživatelské přívětivosti a bezpečnosti – například použití uzávěru proti otevření dětmi. [12]

V souladu s evropskou legislativou a mezinárodními standardy se farmaceutické obaly rozlišují na primární, sekundární a terciální. Primární obal je v přímém fyzickém kontaktu s léčivým přípravkem, sekundární poskytuje dodatečnou ochranu a nese informační prvky (identifikace léčiva, ochranné prvky proti padělání) a terciální slouží k ochraně během skladování a distribuce. [12]

Aby byly splněny regulační požadavky, jsou při vývoji farmaceutických obalů určených k přímému kontaktu s léčivými přípravky používány materiály odpovídající standardům United States Pharmacopeia (USP) a European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) Tyto materiály nesmí uvolňovat kontaminující látky musí být kompatibilní s léčivým přípravkem a jeho zamýšleným použitím, což se ověřuje pomocí regulovaných zkoušek zaměřené na extrahovatelné a vyluhovatelné látky či fyzikálně-chemickou stabilitu. U parenterálně podávaných léčiv, která vyžadují sterilitu, zejména injekcí, se od primárního obalu požaduje zachování sterility po celou dobu použitelnosti produktu. [12]

Pro farmaceutické obaly se používá několik materiálů, včetně různých typů plastů, sklo, hliník, papírové lepenky atd. [12]

1.2.1 Plasty ve farmaceutických obalech

Díky své univerzálnosti a cenové výhodnosti patří mezi jedny z nepoužívanějších materiálů ve farmaceutických obalech. Mezi nejběžnější typy plastů používané v tomto odvětví patří PET, HDPE, PVC, LDPE, PP a PS. [13] Tyto materiály jsou nezbytné pro uchovávání léčiv, zvýšení efektivity přepravy a zajištění jejich bezpečnosti. [14]

Plasty se ve farmacii uplatňují v celé řadě obalových systémů. Blistry, používané pro obalení pevných lékových forem, jsou tvořeny plastovou fólií, nejčastěji z PVC/PVDC, která je potažena hliníkovou krycí vrstvou, sloužící k ochraně před vlhkostí a kyslíkem. Vícevrstvé lamináty z PE, PP nebo PU (polyuretanu), například sáčky, se využívají zejména pro sterilní zdravotnické prostředky, které vyžadují vysokou bariérovou ochranu proti mikrobiální kontaminaci. Plastové lahve a tuby se využívají

především pro kapalné a polotuhé lékové formy, přičemž pro balení kapalin se používají obaly z PET nebo HDPE, zatímco pro polotuhé lékové formy se obvykle vyrábí obaly z polypropylenu. [6] Přehled běžně používaných polymerů a jejich využití ve farmaceutických obalech je zobrazen v tabulce 3:

Tabulka 3: Příklady polymerů ve farmaceutických obalech [12]

Materiál	Funkce	Typické použití
Polypropylen (PP)	Uchovávání, utěsnění, flexibilita	Lahve, uzávěry, blistry, injekční stříkačky, sáčky
Polyethylen (PE)	Uchovávání, utěsnění, flexibilita	Lahve, uzávěry, hadičky, blistry, sáčky
Polyvinylchlorid (PVC)	Uchovávání a flexibilita	Blistry, sáčky, hadičky
Polyethylentereftalát (PET)	Bariéra a uchovávání	Lahve, vaničky, blistry

Používání polymerních materiálů umožňuje výrobu materiálů s vysokou bariérovou funkcí, které nejsou možné vyrobit z jiných materiálů. [26] Avšak jejich použití ve farmaceutických obalech vyvolává obavy z expozice chemickým látkám a možných zdravotních rizik. Studie zjistila, že 74 % z plastových extraktů obsahovalo chemické látky vyvolávajících toxické reakce, včetně oxidačního stresu, cytotoxicity, estrogenicity a antiandrogenicity. Nejvyšší toxicitu vyvolaly extrakty z PVC a PU, zatímco PET a HDPE nezpůsobily žádnou nebo velmi nízkou toxicitu. Zajímavé je, že „bioplasty“ vyrobené z kyseliny polymléčné (PLA) vykazovaly poměrně vysokou toxicitu. [15]

Farmaceutický průmysl se spoléhá na plastové obaly, zdravotnické prostředky a jiné předměty pouze na jedno použití, což významně přispívá k produkci plastového odpadu. Jejich recyklace je spojena s problémy jako je potenciální kontaminace a obtížné třídění. Pro řešení tohoto problému se klade stále větší důraz na zlepšení udržitelnosti obalových materiálů. Jedním z nich jsou recyklované plasty. [16]

1.2.2 Recyklované plasty ve farmaceutických obalech

Používaní recyklovaných plastových materiálů ve farmaceutických obalech však naráží na regulační překážky. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) vypracoval kritéria pro posuzování bezpečnosti recyklátů po spotřebě v obalech na potraviny, která se mohou vztahovat i na obaly léčiv. Cílem těchto kritérií je zajistit bezpečnost spotřebitele, ale mohou vytvářet překážky pro použití recyklovaných plastů, které jsou v přímém kontaktu s léčivy. [17]

Pokyny amerického úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) týkajících se průmyslových uzavíracích systémů obalů pro humánní léčivé přípravky a biologické

produkty uvádějí, že recyklované plasty pocházející ze spotřebitelského odpadu by neměly být používány pro výrobu primárních obalových komponent, které přicházejí do přímého kontaktu s léčivem. Pokud jsou tyto materiály využívány pro sekundární nebo související obalové prvky, je nezbytné pečlivě posoudit jejich bezpečnost a kompatibilitu se zamýšleným použitím. [12]

Ačkoli tyto pokyny představují jediné regulační dokumenty, které vysloveně zakazují použití recyklovaného plastu v primárních obalech, požadavky obsažené v dalších normách a předpisech vedou k podobně přísným požadavkům. V každém případě musí materiál splňovat takové bezpečností požadavky, že je jejich použití ve farmacii velmi omezené nebo problematické. [12]

Požadavek testovat každou šarži recyklovaného polymeru by výrazně zatížil farmaceutický průmysl a mohl by ohrozit stabilitu distributorů, což by se v konečném důsledku mohlo projevit i ve snížené dostupnosti léčiv a jiných přípravků pro pacienty. Mimo to i z hlediska časové, technické a finanční náročnosti by bylo neproveditelné opakovat rozsáhlé studie extrahovatelných a vyluhovatelných látek pro každou šarži recyklovaného plastu. [12]

1.3 Životní cyklus plastu, recyklace a rPET

Životní cyklus polymerních materiálů začíná od surovin – ať už nových nebo recyklovaných – ty se pomocí různých technologií zpracovávají a přeměňují na hotové plastové produkty. Během výrobního procesu vzniká první typ pevného plastového odpadu (SPW): postindustriální odpad (PI), který se nikdy nedostane ke spotřebiteli. Jedná se nejčastěji o odpadní vadné produkty, odřezky, zbytky a odpad z výrobních změn. Výhodou PI odpadu je čistota, známé složení polymeru a z pravidla není kontaminován – tyto skutečnosti usnadňují proces recyklace, a proto je PI nazýván polymerovým odpadem vyšší kvality. [17]

Na konci životnosti je produkt zlikvidován a stává se odpadem po spotřebě (PC). Ten je obvykle složen ze směsi plastů neznámého složení a může být i kontaminován organickými frakcemi (například zbytky potravin) nebo nepolymerními anorganickými frakcemi (papír), což znesnadňuje recyklační proces. [17]

Z hlediska ochrany životního prostředí je v současnosti kladen důraz na snížení produkce SPW, a to buď tím, že se zabrání jejich výrobě (například omezením jednorázových plastových výrobků, nebo použitím alternativních materiálů), nebo tím, že se podpoří opětovné použití plastových materiálů recyklací. [17] Pro znovupoužití odpadu při výrobě nových plastů je zásadní správné třídění různých polymerů. [1] Tyto přístupy jsou spojeny se zvyšováním informovanosti spotřebitelů a snahami o efektivní nakládání s plastovým odpadem, který i přes tyto iniciativy nevyhnutelně nadále vzniká. [17]

Mezi možnosti dalšího zpracování plastového odpadu patří především recyklace, která představuje způsob uzavření životního cyklu těchto materiálů a návratu plastu do oběhu ve formě sekundárních surovin. Tyto suroviny mohou být získávány mechanickými nebo chemickými postupy, které jsou popsány v následujících kapitolách. [17] Degradace polymerních řetězců může snižovat kvalitu opětovně použitých materiálů, proto se plastový odpad často znovu používá k výrobě produktů nižší kvality, jelikož „starý" plast snižuje kvalitu výsledných produktů. [1] Recyklace materiálů se často kategorizuje na základě produktu, který je vyroben z druhotných surovin. V uzavřeném recyklačním cyklu se recyklované plasty používají k výrobě stejného produktu, ze kterého byly původně získány a tím se zajistí, že produkt může být dále recyklován. To je běžná praxe například u mnoha PET obalů. V otevřené recyklaci se recyklované plasty používají k výrobě jiného produktu, než z jakého byly získány. Příkladem může být výroba textilních vláken z PET lahví. [17]

Pokud však už recyklace není možná, existují další možnosti zpracování plastového odpadu. Ze všech možností je nejméně preferované uložení na skládky, kterému by se mělo za každou cenu vyhnout. Alternativně lze SPW a recyklované plasty využít ve stavebnictví, kde slouží jako náhrada za nové stavení materiály v maltách a betonu. [17]

1.3.1 Energetické využití plastového odpadu.

I přes veškeré snahy, téměř polovina vyprodukovaného plastu končí na skládkách, a proto má vysoký potenciál jako surovina pro výrobu hodnotných produktů nebo pro energetické využití. Ačkoli je druhé řešení z hlediska životního prostředí méně příznivé, energetický obsah plastu je srovnatelný s topným olejem a představuje tak levný zdroj energie.

Spalování plastů za účelem výroby energie produkuje obrovské množství oxidu uhličitého (CO_2) spolu s dalšími těkavými organickými sloučeninami, které vznikají spalováním aditiv, jimiž mohou být například bromované zpomalovače hoření. [2, 17] Vzniklé sloučeniny mají negativní dopad na životní prostředí. CO_2 jako hlavní produkt spalování je skleníkový plyn, který přispívá ke globálnímu oteplování. Vedlejší produkty spalování mohou obsahovat polycyklické aromatické sloučeniny, polychlorované benzofurany, dioxiny nebo těžké kovy, které mohou být přenášeny až na tisíce kilometrů. Tyto látky jsou mutagenní a karcinogenní a představují riziko pro lidi a zvířata, a to buď přímo, nebo prostřednictvím potravního řetězce. Navzdory tomu zůstává spalování nejběžnějším způsobem likvidace plastů. [1]

1.3.2 Mechanická recyklace

Mechanická recyklace je nejběžnější metodou získávání sekundárních surovin z plastového odpadu. Proces recyklace směsného plastového odpadu (PC) obvykle zahrnuje sběr od spotřebitele, třídění, odstranění kontaminantů z potravin a papíru a poté

drcení následované regranulací. V případě PI odpadu nejsou tyto kroky vyžadovány, jelikož se proces často odehrává ve stejné společnosti a materiál je čistý a se známým složením. [17]

Bohužel, mechanická recyklace sama o sobě nemůže vyřešit problém plastového odpadu kvůli určitým omezením. Proces tavení používaný v tvorbě regranulátu je vhodný pouze pro termoplastické polymery, což z procesu vylučuje epoxidy a polyuretany. Kromě toho musí být vstupní materiál čistý a bez příměsí, aby bylo možné vyrobit vysoce kvalitní regranulát, který může účinně nahradit primární suroviny. Proto se tento typ recyklace primárně využívá ke zpracování PI odpadu, který lze velmi dobře recyklovat a vrátit ho tak zpět, do výrobního procesu. Plastový průmysl v Německu v roce 2021 recykloval 83 % svého odpadu. [1]

Jak již bylo zmíněno, mechanická recyklace není vhodná pro zpracování odpadu po spotřebě, jako jsou obaly potravin, stavební odpad, části vozidel nebo zemědělský odpad, který je silně znečištěn prachem nebo biologickými látkami a často byl vystaven sinému slunečnímu záření a teplotním výkyvům. [1]

1.3.3 Chemická recyklace

Tento způsob zpracování má vysoký potenciál pro zpracování heterogenního a kontaminovaného plastového odpadu, pokud není jeho třídění a mechanická recyklace ekonomicky ani technicky zcela proveditelná. [17] Na rozdíl od mechanické recyklace má chemická recyklace za cíl rozložit polymerní řetězce tak, aby zůstaly zachovány monomery nebo alespoň molekuly s nízkou molekulovou hmotností. Jednou z výhod této metody je, že výsledné polymery nebo jiné chemické produkty mají srovnatelnou kvalitu s novými. Na druhou stranu, obsažená směs aditiv znesnadňuje proces chemických recyklačních postupů, protože buď zvyšuje podíl nerecyklovatelných zbytků, které mohou být toxické, nebo kontaminují produkty a snižují jejich využitelnost. [1]

Chemická recyklace má proto řadu nevýhod, jako je vysoká spotřeba energie potřebná k rozložení polymerních řetězců, a skutečnost, že mnoho chemických recyklačních procesů produkuje spíše směsi molekul s nízkou molekulovou hmotností než specifické monomery potřebné k výrobě nového plastu. Následující dva odstavce stručně popisují průběh pyrolýzy a zplyňování plastů, jakožto tepelných procesů chemické recyklace. [17]

Pyrolýza je tepelný proces bez přítomnosti kyslíku. Je schopna přeměnit heterogenní materiály, což činí tento proces vhodným pro SPW, který nelze mechanicky recyklovat. Pyrolýzou lze plasty přetransformovat na petrochemické suroviny, mezi které řadíme naftu, kapalné a voskovité uhlovodíky a plyny. Získané produkty z pravidla vyžadují další zpracování, například destilaci, aby bylo možné získat hodnotné produkty. [1]

Zplyňování se provádí za vyšších teplot než pyrolýza (až 1300 °C). Probíhá s řízeným přísunem zplyňovacího činidla, například pára, kyslík nebo vzduch, čímž vzniká

syntetický plyn obsahující směs oxidu uhelnatého a vodíku. Oproti pyrolýze umožňuje zplyňování další využití vzniklého produktu pro výrobu vysoce kvalitních paliv a základních chemikálií. Nevýhodou je vysoká spotřeba energie a tvorba dehtu. [1]

1.3.4 Recyklační technologie rPET InWaste s.r.o.

Jak již bylo výše zmíněno, tato práce vznikla ve spolupráci s českou firmou rPET InWaste s.r.o, která poskytla vzorky recyklovaného PET. rPET InWate využívá technologii NGR a bezpečnost jejich recyklačního procesu byla posouzena panelem EFSA pro materiály přicházející do styku s potravinami, enzymy a pomocné látky při zpracování. [18]

Prvním krokem je zpracování a mytí použitého PETu, tento krok provádí třetí strana. Vstupní materiál se skládá z omytých a vysušených vloček získaných z PET obalů, např. lahví, které byly dříve použity k balení potravin a nápojů, ze systému sběru odpadu po spotřebě (např. sběr odpadu, zálohové systémy). Nejvýše 5 % vstupního materiálu může pocházet z nepotravinářských zdrojů. [18]

Následně probíhá dekontaminace a výroba recyklovaného PET materiálu. Vločky vstupního materiálu jsou nejdříve sušeny proudem plynu při vysoké teplotě, a poté roztaveny v extrudéru. Tavenina je v dalším kroku dekontaminována během polykondenzace v roztaveném stavu za vysoké teploty a ve vakuu. Po zbavení nečistot a nežádoucích látek je roztavený materiál ochlazen a peletizován. Pelety, jakožto konečný produkt procesu, jsou kontrolovány z hlediska technologických požadavků, jako je vnitřní viskozita, barva a černé skvrny. [18]

Bylo prokázáno, že tento recyklační proces je schopen zajistit, aby migrace potenciálně neznámých kontaminantů do potravin zůstala pod modelovou hodnotou 0,1 µg/kg potravin. Panel proto dospěl k závěru, že recyklovaný PET získaný tímto procesem nepředstavuje bezpečnostní riziko ani při použití až do 100 % pro výrobu materiálů a předmětů určených pro styk se všemi druhy potravin, včetně pitné vody, pro dlouhodobé skladování při pokojové teplotě, s možností horkého plnění. Konečné výrobky z tohoto recyklovaného PETu však nejsou určeny k použití v mikrovlnných troubách, což nebylo předmětem hodnocení. [18]

1.4 Mikroplasty

Degradace větších plastových objektů probíhá převážně mechanickým působením mořských vln a abrazivních částic. K této fragmentaci může dojít i dříve, než se částice dostanou do životního prostředí, například při praní oděvů ze syntetických vláken. [2] Podobně i tzv. biodegradabilní plasty, které obsahují složky, jako je škrob, se sice částečně biologicky rozkládají, ale i tak za sebou zanechávají nerozložitelné plastové fragmenty. [9]

Mikroplasty představují heterogenní skupinu plastových částic mikroskopických až milimetrových rozměrů. Thomson et al. [19] jako první použil termín „mirkoplasty“, kterým charakterizovali přítomnost nepatrných plastových úlomků jak v mořských sedimentech, tak ve vodách Evropy. V posledních desetiletích se stávají předmětem rostoucího zájmu, zejména vzhledem k jejich všudypřítomnosti v životním prostředí a potenciálními riziky pro ekosystémy i lidské zdraví. Nejčastěji jsou definovány jako pevné, ve vodě nerozpustné polymerní fragmenty menší než 5 mm. [20] Rozkladem plastového odpadu mohou také vznikat nanoplasty, jejichž průměr se pohybuje v rozmezí od 1 nm do 1000 nm. [21] Množství mikroplastů a nanoplastů v oceánech se od 60. let 20. století výrazně zvýšilo, což jen potvrzuje široké uplatnění plastů v mnoha průmyslových odvětvích. [9]

Podle Colea et. al lze mikroplasty klasifikovat v závislosti na jejich původu na primární a sekundární. Toto členění vychází ze skutečnosti, zda jsou plastové částice vyráběny přímo v mikroskopických rozměrech, nebo zda vznikají následnou degradací větších plastových fragmentů v životním prostředí. [22]

Primární mikroplasty jsou produkovány cíleně již v mikroskopických velikostech a nacházejí uplatnění v řadě spotřebitelských i průmyslových výrobků. Používají se při výrobě syntetických textilií a lze je nalézt i v domácích potřebách a kosmetických prostředcích, jako jsou čistící gely, zubní pasty a krémy. Odhaduje se, že přibližně 6 % tekutých kosmetických přípravků na čištění pleti prodávaných v Evropské unii, Švýcarsku a Norsku obsahuje mikroplasty, z nichž více než 93 % tvoří polyethylen. Po použití se tyto částice dostávají do odpadních vod a mohou následně pronikat do povrchových vod i dalších složek životního prostředí. Dalšími zdroji primárních MP jsou např. suroviny používané při výrobě plastových produktů a zbytky z technologických procesů. [21, 22] Nanoplasty se v menší míře rovněž využívají i ve farmacii a medicíně, konkrétně jako nosiče léčiv. V posledních letech je pozornost věnována také uvolňování velmi jemných plastových částic při provozu 3D tiskáren. Bylo prokázáno, že při 3D tisku se uvolňují částice o velikosti pouhých 11,5 nm. [22]

Sekundární mikroplasty vznikají rozkladem větších plastových částic. Po vystavení povětrnostním vlivům mohou fyzikální, biologické a chemické procesy, kterým jsou tyto polymerní materiály vystaveny, vést ke snížení jejich strukturální integrity a k následné fragmentaci. K rozpadu částic může však docházet i ještě předtím, než se dostanou do životního prostředí, například v případě syntetických vláken uvolňovaných během praní oděvů. [22]

1.4.1 Mikroplasty a životní prostředí

Polyethylen patří mezi nejrozšířenější polymery vyráběných v Evropě. Představuje až 29,8 % celkové produkce plastů. Jeho vysoká produkce je doprovázena i častým výskytem polyethylenových mikroplastů v životním prostředí. Řada studií potvrzuje, že PE MP představuje jednu z nejdominantnějších skupin plastových částic ve vodních

ekosystémech. Díky své nízké hustotě se tyto částice zprvu nacházejí na rozhraní voda-vzduch, kde volně plavou. Jejich následný přenos do vodního útvaru může být ovlivněn abiotickými faktory, jako jsou povětrnostní a mechanické procesy, avšak za klíčový mechanismus se považuje tzv. biotické stárnutí (biologické znečištění povrchu). Důvodem je to, že mikroorganismy přítomné ve vodním prostředí (například bakterie, houby, prvoci a řasy) rychle kolonizují MPs a mění tak jejich fyzikální vlastnosti, zejména vztlak. Vzniklý biofilm zároveň zvyšuje pravděpodobnost pozření MP vodními živočichy. Jejich rozptyl ve vodním útvaru také vede k interakci s makrofytami, na jejichž povrchu mohou být částice zadrženy, čímž se snadno dále šíří v potravních řetězcích prostřednictvím býložravců. [20, 23]

Vzhledem k tomu, že byly mikroplasty detekovány v komerčně dostupných mořských plodech, byly rovněž provedeny studie zaměřené na jejich výskyt v pivu, stolní soli, balené minerální vodě, medu a cukru a pitné vodě. Nedávný výzkum ukázal, že člověk odhadem ročně přijme 74 000 až 121 000 mikroplastových částic, z nichž některé mohou uvolňovat toxické látky. [20, 24] Přestože dlouhodobé dopady mikroplastů na organismy nejsou zcela objasněny, jejich přítomnost je spojována s negativními efekty, jako je zpomalení růstu, vývojové poruchy, narušení endokrinního systému nebo zvýšené riziko rakoviny. [25, 26] Jejich přítomnost v lidském těle byla prokázána nejen v trávící soustavě a krvi, ale také např. v placentě. [27]

Kromě vodního prostředí jsou mikroplasty běžně přítomné v půdě a kalech z čistíren odpadních vod, kam se dostávají v důsledku praní syntetických tkanin nebo používáním kosmetických přípravků a čistících prostředků obsahujících abrazivní plastové složky. Přestože část těchto částic zachytí čističky vod, zbytek kalů se často využívá k zavlažování půdy, čímž se mikroplasty dostávají i do půdních ekosystémů. [28]

1.5 Těžké kovy v plastech a mikroplastech

Těžké kovy, jako jsou kadmium, olovo a sloučeniny chromu, se běžně používají do plastových materiálů během jejich výroby např. jako aditiva, katalyzátory či pigmenty. [2] Tyto přísady nejsou chemicky vázané na polymer, a pod vlivem fyzikálně-chemických faktorů, jako je teplota, rozpouštědla a pH obalovaných produktů, mohou uvolňovat toxické látky v podobě těžkých kovů do potravin, vody i ovzduší. [29] Ty mohou být významným zdravotním rizikem kvůli své toxicitě a schopnosti kumulace v ekosystémech. [2]

Dlouhodobá orální expozice a nadměrná konzumace těžkých kovů prostřednictvím potravin může vést k závažným zdravotním komplikacím. Expozice Al je spojovaná s neurodegenerativními onemocněními, včetně Alzheimerovy choroby, a rovněž s karcinomem prsu. Cd může způsobovat demineralizaci kostí, závažné poškození plic a podráždění trávícího traktu. Zn je při nadměrném příjmu spojován se sníženou reprodukční schopností. Sb může vyvolávat plicní onemocnění, kardiovaskulární obtíže,

silné zvracení, žaludeční vředy a průjem. U Co byly popsány gastrointestinální symptomy, jako je nevolnost a zvracení, dále poškození jater a alergická dermatitida. Pb je toxické zejména pro ledviny, reprodukční sytém a centrální nervový systém. Dlouhodobé nadužívání Pb způsobuje poruchy mozkových funkcí, neplodnost, potraty a hypertenzi. [29]

Potenciálně nebezpečné kovy mají mimo jiné tendence se adsorbovat na povrch mikroplastů, což zvyšuje rizika, která tyto materiály představují při šíření v životním prostředí. [9] Mikroplasty jsou považovány za hrozbu zejména proto, že hrají klíčovou roli v migraci těžkých kovů. Několik studií uvádí, že mikroplastové částice jsou schopny zachycovat znečištění těžkými kovy z okolí, že se pak na jejich povrchu nachází vyšší koncentrace těžkých kovů než v okolním prostředí. Bylo také prokázáno, že částice vyplavené na břeh oceánu, po dlouhodobém působení degradačních procesů, vykazují vyšší tendence absorbovat těžké kovy, např. byla naměřena výrazně vyšší koncentrace železa u degradovaných částic nežli u novějších vzorků s hladkým povrchem. Lze vyvodit, že zvýšená koncentrace kovů na plastových fragmentech souvisí s degradačními procesy a zvětráváním povrchových vrstev polymerů, které vedou ke vzniku nových vazebných míst pro akumulaci kovů. V průběhu přirozeného zvětrávání dochází k drolení a praskání povrchu mikroplastů, čímž se zvětšuje jejich plocha a usnadňuje se adsorpce kovových iontů i vyrovnání náboje. Adsorpci těžkých kovů dále podporuje biomasa ulpívající na povrchu stárnoucích částic. [30]

Problematika těžkých kovů je diskutovaná také z hlediska jejich přítomnosti v recyklovaných polymerech, které jsou znovu uváděny do oběhu. [30]

Stanovení těžkých kovů v plastech je analyticky náročné, zejména s ohledem na složitost matrice a velmi nízké koncentrace těchto prvků. [29] Jejich analýza zahrnuje několik kroků a metod. Pro tyto účely se často využívají metody, jako je hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (LA-ICP-MS) nebo rentgenová fluorescence, XRF), které umožňují zpracování velkého množství vzorků a poskytují přesná měření. Přesto nedostatek standardizovaných metod pro přípravu a analýzu vzorků představuje značný problém, protože rozdíly v metodách mohou ovlivnit účinnost extrakce a přesnost kvantifikace kovů. [31]

1.6 Legislativní limity těžkých kovů

1.6.1 Legislativní limity pro materiály určené pro styk s potravinami

Stejně jako různé fyzikální vlastnosti, jako je tvrdost, pevnost, trvanlivost a odolnost, je obsah těžkých kovů jednou z nedůležitějších charakteristik polymerů, která ovlivňuje jejich použití. V potravinářském a farmaceutickém průmyslu je obsah stopových kovů v používaných polymerech monitorován, zejména v souvislosti s jejich využitím pro balení potravin a léčiv a jejich možné migrace do baleného produktu. [32]

Migrace těžkých kovů z plastových materiálů určených pro styk s potravinami do potravin představuje celosvětově významný problém veřejného zdraví. Řada států i mezinárodních organizací zabývajících se bezpečností potravin proto stanovila limity pro migraci těchto prvků z obalových materiálů. Z toho důvodu je nezbytné sledovat množství těžkých kovů, které mohou z obalů migrovat. [33] Přestože Nařízení (EU) stanovuje specifické migrační limity (SML) pro vybrané prvky, evropská legislativa nestanovuje maximální přípustný obsah těžkých kovů přímo v samotném polymerním materiálu. Hodnocení bezpečnosti je založeno na posouzení migrace látek z materiálu do potravin, nikoli na jejich celkovém obsahu v plastu. Koncentrace prvků stanovené v polymerním materiálu lze pouze orientačně vztáhnout ke specifickým migračním limitům, přičemž je nutné zdůraznit, že obsah prvku v materiálu nemusí přímo odpovídat jeho migračnímu potenciálu. [34]

Specifické migrační limity vybraných kovů, relevantních pro tuto práci, jsou stanoveny v příloze II. Nařízení Evropské unie (EU) č. 10/2011 ve znění Nařízení komise (EU) 2020/1245 a jsou shrnuty v tabulce č. 4.:

Tabulka 4: Specifické migrační limity vybraných prvků [34]

Specifické migrační limity těžkých kovů (mg/kg potravin)				
Co	**Zn**	**Ba**	**Al**	**Sb**
0,05	5	1	1	0,04

Kromě specifických migračních limitů stanovuje nařízení (EU) č. 10/2011 také celkový migrační limit (OML) ve výši 60 mg/kg potraviny.

1.6.2 Legislativní limity pro obalové materiály léčiv

Jedním z potenciálních zdrojů elementárních nečistot v léčivých přípravcích mohou být právě látky, uvolňované z obalového systému. Hromadění migrujících látek může nepříznivě ovlivnit účinnost i bezpečnost léčivého přípravku, a to jak přímým toxickým působením, tak i nepřímým ovlivněním jeho fyzikálně-chemických vlastností nebo stability. Vzhledem k tomu, že elementární nečistoty nepřinášejí pacientovi žádný terapeutický přínos, je nutné posoudit, zda jejich hladiny zůstávají v přijatelných mezích. [35, 36]

Rozsah interakce mezi léčivým přípravkem a obalovým materiálem lze hodnotit dvěma způsoby. Přímý přístup spočívá v analýze samotného léčiva za účelem identifikace a kvantifikace látek migrujících z obalu. Nepřímý přístup je založen na testování samotného obalového materiálu z hlediska látek extrahovaných, z nichž lze následně odhadnou potenciální migrující složky. Vhledem k analytické náročnosti stanovení stopových množství rizikových látek v chemicky složitých léčivých přípravcích se v praxi častěji využívá právě analýza extrahovatelných látek. [35]

Požadavky na plastové obalové materiály pro léčivé přípravky jsou uvedeny v Evropském lékopisu (Ph. Eur.), kapitola 3.1 „Materials used for the manufacture of containers“, která obsahuje monografie jednotlivých polymerů, například polyethylentereftalát (PET) nebo polyvinylchlorid (PVC). Tyto monografie jsou v některých případech formulovány podle způsobu podání, například pro parenterální přípravky nebo perorální pevné lékové formy. Zahrnují zkoušky identifikace, požadavky na vlastnosti materiálu a limitní testy na vybrané extrahovatelné látky, včetně některých těžkých kovů.

Limitní hodnoty pro neplastifikovaný PVC určený pro obaly perorálních pevných lékových forem (Ph. Eur. 3.1.11) a pro PET pro obaly neparenterálních léčivých přípravků (Ph. Eur. 3.1.15) jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6:

Tabulka 5: Limitní hodnoty dle Ph. Eur pro polyvinylchlorid (PVC) [36]

Limitní hodnoty kovů dle Ph. Eur. 3.1.11 (PVC pro obaly perorálních pevných lékových forem)		
Parametr	**Limit**	**Jednotka**
Extrahovatelné těžké kovy	≤ 20	mg/L extraktu
Extrahovatelný zinek	≤ 100	mg/L extraktu
Cín – bez stabilizace cínem	≤ 25	mg/L extraktu
Cín – stabilizace cínem	≤ 0,25	%

Uvedené limitní hodnoty se vztahují ke koncentraci prvků v extraktu připraveném za podmínek definovaných v monografii 3.1.11 Evropského lékopisu. V monografii je popsána přípravu extraktů (S1, S2, S3), z nichž je pro stanovení extrahovatelných těžkých kovů využíván roztok S3. Limit extrahovatelných kovů (20 mg/L) vychází z lékopisné zkoušky 2.4.8 („Těžké kovy“), která je založena na vizuálním porovnání zbarvení s referenčním roztokem olova. Tato zkouška představuje souhrnný limitní test a nestanovuje přesné koncentrace jednotlivých prvků. V této práci bude extrakt připravený dle lékopisu analyzován metodou ICP-MS, která umožňuje kvantifikaci konkrétních prvků a tím i podrobnější hodnocení jejich obsahu. [36]

Tabulka 6 Limitní hodnoty dle Ph. Eur. pro polyethylentereftalát (PET) [36]

Limitní hodnoty kovů dle Ph. Eur. 3.1.15 (PET pro obaly neparenterálních léčivých přípravků)		
Parametr	**Limit**	**Jednotka**
Extrahovatelný hliník (Al)	≤ 1	mg/L extraktu
Extrahovatelný antimon (Sb)	≤ 1	mg/L extraktu
Extrahovatelné baryum (Ba)	≤ 1	mg/L extraktu
Extrahovatelný kobalt (Co)	≤ 1	mg/L extraktu
Extrahovatelný titan (Ti)	≤ 1	mg/L extraktu
Extrahovatelný zinek (Zn)	≤ 1	mg/L extraktu

Monografie 3.1.15 Evropského lékopisu stanovuje pro polyethylentereftalát určený pro obaly neparenterálních léčivých přípravků individuální limity extrahovatelných prvků. Pro jejich hodnocení jsou v monografii rovněž specifikovány přípravy extraktů (S1-S4). Na rozdíl od obecné zkoušky na těžké kovy u PVC obalů jsou v případě PET obalů jednotlivé prvky analyzovány metodou atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES). Limitní hodnoty jsou u většiny prvků stanoveny na 1 mg/L extraktu. Tím je umožněno specifické hodnocení koncentrace konkrétních kovů. [36]

Maximální množství daného prvku, které může přejít do léčivého přípravku, odpovídá jeho celkovému obsahu v obalovém materiálu. Skutečné množství uvolněné do léčivého přípravku je nutno (jak již bylo zmíněno výše) stanovit experimentálně, a to analýzou baleného produktu nebo prostřednictvím extrahovatelných a vyluhovatelných látek. Stejně jako v případě obalů určených pro styk s potravinami nejsou ani v oblasti léčiv stanoveny maximální limity obsahu těžkých kovů přímo v polymerním materiálu. Zatímco u potravin je bezpečnost posuzována prostřednictvím specifických migračních limitů, u léčivých přípravků je toxikologické hodnocení založeno na posouzení celkové expozice pacienta vyjádřené jako přípustná denní expozice (PDE). [37] Tato hodnota představuje bezpečnostní hranici stanovenou za účelem ochrany veřejného zdraví. [36]

Regulační požadavky na elementární nečistoty jsou definovány v pokynu ICH Q3D (Guidline for Elementar Impurities), který je rovněž implementován do Evropského lékopisu (Ph. Eur., kapitola 5.20). Tento dokument stanovuje pro vybrané prvky hodnoty PDE vyjádřené v μg/den v závislosti na cestě podání léčivého přípravku. [36, 37]

Přehled hodnot PDE pro vybrané prvky je uveden v tabulce č. 7.

Tabulka 7: Přípustná denní expozice (PDE) vybraných prvků [37]

Hodnoty přípustné denní expozice (PDE) pro vybrané prvky dle ICH Q3D					
	Ba	**Cd**	**Co**	**Sb**	**Sn**
PDE (perorální, µg/den)	1400	5	50	1200	6000

Některé analyzované prvky v této práci byly zvoleny na základě požadavků Evropského lékopisu pro plastové obalové materiály. Ne všechny tyto prvky jsou však zahrnuty mezi regulované elementární nečistoty dle ICH Q3D, a proto pro ně není stanovena hodnota PDE. Jedná se o Zn, Al a Ti, přičemž Zn a Al patří mezi esenciální prvky. Přítomnost těchto prvků v plastovém obalovém materiálu může být významná z hlediska kvality a stability léčivého přípravku. Lékopis hodnotí vlastnosti materiálu jako takového, zatímco ICH Q3D se zaměřuje na posouzení systémové expozice pacienta. [36, 37]

Požadavky na plastové obalové materiály pro léčivé přípravky jsou dále uvedeny v Evropském lékopisu (Ph.Eur.), který obsahuje obecné kapitoly o plastových materiálech určené pro farmaceutické použití a monografie jednotlivých polymerů, například polyethylentereftalát (PET) nebo polyvinylchlorid (PVC). Tyto kapitoly stanovují požadavky na identifikaci. [36]

1.7 Analýza plastů

Jak již bylo zmíněno, polymery se dnes široce používají v různých odvětví průmyslu, od balení potravin, léčiv až po kryty elektronických zařízení. S rostoucí složitostí těchto materiálů se také zvyšuje zájem o jejich složení stopových prvků. Hodnocenými faktory jsou například toxicita, enviromentální aspekty nebo možné škodlivé účinky na vlastnosti materiálu. Tradičně se pro tento úkol polymery nejprve rozloží a následně analyzují. [38]

Nevýhodou je nutnost použití agresivních chemikálií k úplnému rozpuštění vzorku, včetně ruční manipulace se vzorkem, která nese riziko kontaminace. Z toho důvodu se používají techniky přímého odběru vzorků pevných látek, jako je laserová LA-ICP-MS, laserem indukovaná rozkladová spektroskopie (LIBS) a rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF). Všechny tyto metody přímé analýzy vzorků mají tu výhodu, že eliminují právě kroky přípravy vzorků, čímž se snižuje množství chemikálií a výrazně se snižuje riziko kontaminace, jelikož je zapotřebí méně ruční manipulace se vzorky. Mohou také poskytovat informace o prostorovém rozložení (distribuce) ve formě dvourozměrných obrazů, které nejsou dostupné při konvenční analýze kapalin. [32]

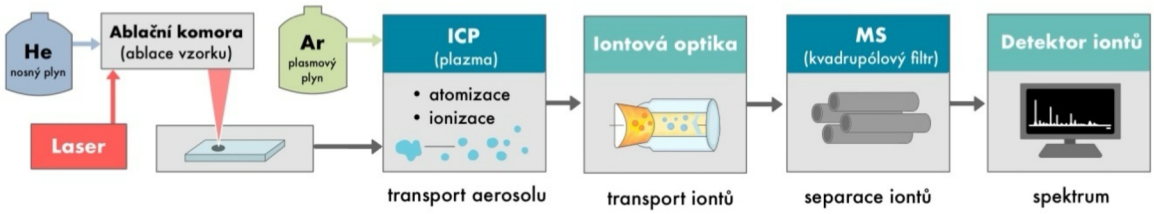
1.7.1 LA-ICP-MS

Pro hodnocení obsahu těžkých kovů ve vzorcích plastů byla v této práci použita metoda laserové ablace s indukčně vázaným plazmatem a hmotnostní spektrometrií (LA-ICP-MS), což je jedna z nejúčinnějších analytických metod s vysokou citlivostí a je používaná pro přímé vzorkování pevných materiálů a analýzu stopových prvků. [39, 40] Základním principem ICP-MS je diferenciace prvků na základě atomové hmotnosti. Nabízí významné výhody, jelikož umožňuje přímou, mikrooinvazivní analýzu, bodové nebo mikrooblastní analýzy a chemické zobrazování s vysokým rozlišením (mapování, tzv. imaging). [39] Poskytuje tak informace o hlavních, vedlejších a stopových prvcích s širokým pokrytím prvků, vynikajícími detekčními limity (v některých případech až sub μg/g) a lineárním dynamickým rozsahem, až 10 řádů, přičemž ve spojení s LA umožňuje kromě mikroanalýzy také dvourozměrné elementární mapování. [40] Metodu lze použít na různé typy vzorků, v kapalném (ICP-MS) i v pevném stavu (LA-ICP-MS). [39] Kromě geochemie se LA-ICP-MS používá hlavně v enviromentální chemii a biologických vědách. [40]

Hmotnostní spektrometrie (MS) nedokáže analyzovat neutrální atomy, proto musí být nejprve ionizovány, aby vznikly kladně nabité ionty. V případě kapalných vzorků je roztok zaváděn do rozprašovacího systému (nebulizéru), kde se přeměňuje na jemný aerosol, který je transportován do indukčně vázaného plazmatu. V této fázi elektromagnetické pole generované vysokofrekvenčním zdrojem ionizuje argonový plyn, čímž vzniká plazma s vysokou teplotou, dosahující přibližně až 10 000 K. Plazma rozkládá vzorek na jednotlivé atomy a současně je ionizuje. Vzniklé ionty jsou následně extrahovány přes rozhraní (interface) tvořené vzorkovacími kužely (sampler a skimmer). Pomocí soustavy elektrostatických čoček je iontový svazek zaostřen a směřován k hmotnostnímu spektrometru pracujícího ve vakuu. Dochází zde k separaci iontů podle poměru jejich hmotnosti k náboji (m/z). Hmotnostní analyzátor identifikuje jednotlivé prvky (ve formě izotopů), přičemž intenzita signálu zaznamenaná detektorem je přímo úměrná jejich koncentraci ve vzorku. Zpracování získaných dat vede k vytvoření spektra, které ukazuje přítomnost a množství každého detekovaného prvku. [39]

Laserová ablace jako způsob zavádění vzorku do ICP hmotnostního spektrometru byla poprvé popsána na počátku 80. let 20. století pro účely analýzy geologických materiálů. Od té doby došlo k významnému pokroku. Základní myšlenkou LA-ICP-MS je kombinace systému přímého zavádění pevných vzorků, který umožňuje dosáhnout vysokého prostorového rozlišení (<1 μm) a odběru velmi malého množství materiálu (<1 μg/s), s technikou ICP-MS s vysokým rozlišením. Velmi výkonný laserový paprsek je zaměřen na vzorek umístěný v uzavřené ablační komoře, která je proplachována inertním nosným plynem, obvykle heliem nebo argonem. Působením laseru se malá část vzorku přemění na aerosol, jenž je proudem nosného plynu transportován do plazmového hořáku, kde dochází k jeho ionizaci. Vzniklé prvky jsou již následně separovány a detekovány hmotnostním analyzátorem. Princip metody je schematicky znázorněn na obr. 2. Hlavní výhodou laserové ablace je možnost provádět analýzu přímo

na pevném vzorku umístěném v ablační komoře bez nutnosti předchozí přípravy prostřednictvím rozpouštění či rozkladu. Tyto kroky totiž patří k časově nejnáročnějším částem analytického postupu a mohou s sebou nést (jak již bylo zmíněno výše) riziko kontaminace vzorku. Režim laserové ablace navíc umožňuje kontrolovat velikost analyzované oblasti a umožňuje velmi přesně analyzovat konkrétní body vzorku s minimálním odběrem analyzovaného materiálu. [39]



Obrázek 2: Schéma metody LA-ICP-MS

Hlavní problémy metody LA-ICP-MS se týkají různých typů interferencí. Mezi ně patří interference spektrální, způsobené ionty se shodným poměrem hmotnosti k náboji (m/z), a nespektrální, které souvisí s chemickými a fyzikálními vlastnostmi matric analyzovaných vzorků, což může vést k tvorbě např. sraženin na ústí kuželu. Tento jev, známý jako matricový efekt, má za následek ztrátu přesnosti, citlivosti, reprodukovatelnosti měření a potlačení signálu analyzované látky. Nejvýznamnějším matricovým efektem je efekt prostorového náboje, který vzniká v důsledku vzájemného odpuzování kladně nabitých iontů. [37]

Přes vysokou míru kontroly nad odběrem vzorku může při laserové ablaci docházet k frakcionaci prvků, což představuje významné omezení metody LA-ICP-MS a obecně všech laserových metod a bránit dosažení přesných a reprodukovatelných výsledků. Frakcionace prvků představuje soubor nestechiometrických procesů a matricových efektů, k nimž dochází během kroků analýzy, jako je odběr vzorku, transport aerosolu, jeho odpařování, atomizace a ionizace systému ICP-MS. Tento jev závisí na vlastnostech laserového paprsku, jako je intenzita záření, délka pulsu a vlnová délka a vede k chemickým a kvantitativním změnám v aerosolu vzorku, ve srovnání s původní matricí. Při laserové ablaci nemusí být z každého pulzu uvolněno stejné množství materiálu a může docházet ke změnám v distribuci velikosti částic, což se negativně projevuje jako vnitřní a vnější přesnost měření. Vnitřní přesnost je definována jako reprodukovatelnost ablace při analýze homogenního vzorku pomocí opakovaného pulzního laseru v pevné poloze, zatímco vnější přesnost vyjadřuje reprodukovatelnost při ablaci v různých místech analyzovaného povrchu. Bylo zjištěno, že použití kratších vlnových délek, vyšší fluence (laserové energie na jednotku plochy) a kratší délky pulzu snižuje frakcionaci a zlepšuje prostorové rozlišení a účinnost ablace. Doba trvání pulzu musí být kratší než doba tepelné relaxace specifická pro daný materiál, která je definována silou vazby elektron-foton. [39]

Laserová ablace vytváří na povrchu pevných materiálu mikrokrátery, jejichž

analýza poskytuje cenné informace o vlastnostech zkoumaného materiálu, tak i o vhodných provozních parametrech procesu laserové ablace. [31]

1.7.2 Kalibrace a standardy pro LA-ICP-MS

Dosažení spolehlivé a absolutní kvantifikace koncentrace prvků při analýze pomocí metody LA-ICP-MS představuje výzvu, neboť analytické signály mohou být ovlivněny výše zmíněnými jevy, které vedou k nesprávnému vyhodnocení sledovaných prvků. Pro minimalizaci těchto vlivů je nezbytné, aby standardy a vzorky byly co nejvíce podobné z hlediska chemického složení a dalších parametrů, například v obsahu kyselin v roztocích. Koncentrace stopových prvků se při analýze stanovuje pomocí externích kalibračních křivek s použitím certifikovaných vícesložkových standardních roztoků nebo zředěných zásobních roztoků jednotlivých prvků v kombinaci s interním standardem. Ten se skládá z jednoho či více prvků, které se přirozeně nevyskytují v analyzovaném vzorku, a slouží k ověření přesnosti metody a účinnosti přístroje. [39]

V oblasti LA-ICP-MS je nejrozšířenější kalibrační strategie založena na použití pevných referenčních materiálů přizpůsobených matrici analyzovaného vzorku, jejichž vhodný výběr se ukázal jako nezbytný pro dosažení přesných a reprodukovatelných výsledků, neboť minimalizuje vliv matricových efektů a rozdílů v účinnosti ablace. K dispozici je široká škála komerčně dostupných certifikovaných referenčních materiálů (CRM), které lze použít. Mezi nejpoužívanější patří NIST (National Institute of Standards and Technology), které obsahují známé koncentrace prvků zapracované do homogenní skleněné matrice. Tyto CRM pokrývají široké koncentrační spektrum a jsou proto vhodné pro kalibraci systému i kvantifikaci výsledků. NIST podporují analýzu různých druhů materiálu, včetně skel, keramiky, kovů či geologických vzorků. V případech, kdy nejsou vhodné referenční materiály komerčně dostupné, je nutné je připravit synteticky, a to například lisováním pelet nebo tavením skleněných disků. Kromě externí kalibrace se doporučuje použití interní standardizace, která umožňuj kompenzovat matricové efekty a rozdíly v účinnosti ablace na různé vzorky. [39]

Specifickou problematiku představují biologické vzorky, pro které jsou certifikované referenční materiály dostupné jen zřídka a často neodpovídají konkrétním experimentálním podmínkám, jako je například typ tkáně nebo vybrané stopové prvky. Zatímco u homogenních materiálů lze použít standardy přizpůsobené matrici, biologické materiály vykazují výraznou heterogenitu. Mohou se lišit nejen mezi jednotlivými vzorky, ale i v rámci jednoho analyzovaného preparátu. Z toho důvodu je nutné připravit vlastní standardy interně a musí být přizpůsobeny konkrétní aplikaci. Obvykle se připravují homogenizací vybrané tkáně a jejím obohacením roztoky obsahujícími známe koncentrace analyzovaných prvků. Proces obohacování se provádí v různých koncentracích, což umožňuje stanovení kalibračních závislostí. [40]

V případě polymerních materiálů, jako jsou plasty, představuje výběr vhodných referenčních materiálů obdobnou výzvu, neboť jejich chemické složení a fyzikální

vlastnosti se mohou výrazně lišit v závislosti na typu polymeru a použitých aditivech. V důsledku k matricových efektů vznikajících během měření, je kvantifikace těchto materiálů poměrně náročná. Pro získání spolehlivých kvantitativních výsledků je nezbytné použít standardy přizpůsobené matrici, jejichž dostupnost je však omezená, a zároveň znát přesné složení analyzovaného matrice. Tento požadavek je u polymerů obzvlášť problematický. Polymerní materiály se vyznačují značnou variabilitou chemických struktur a fyzikálních vlastností, jako je optická absorpce či tvrdost, které výrazně ovlivňují účinnost a průběh ablace. Přítomnost aditiv, používaných k úpravě vlastností polymerů, může mimo jiné vyvolávat matricové efekty. Z těchto důvodů jsou u polymerních materiálů často využívány alternativní kalibrační metody, jako je například příprava vlastních standardů nebo metoda přídavku standardu. [32]

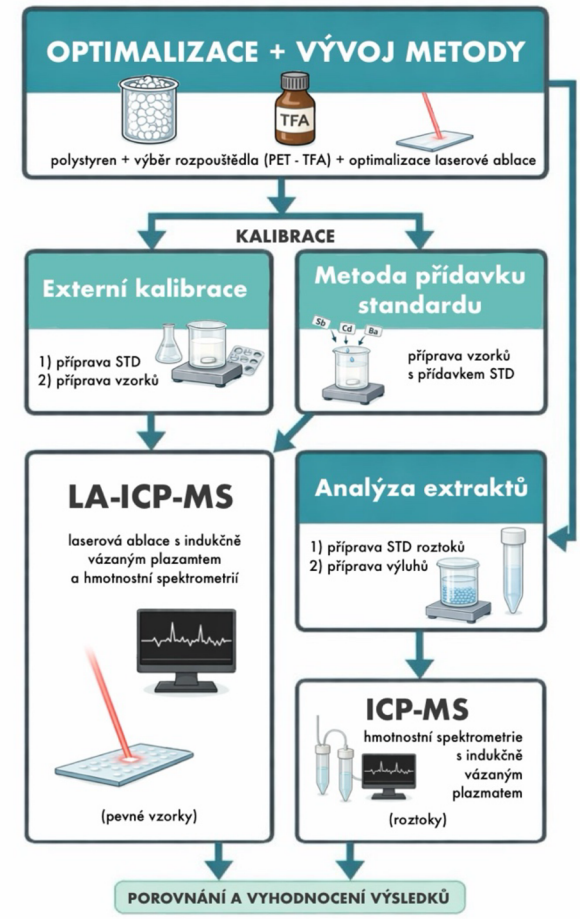
2 Experimentální část

Cílem experimentální části bylo stanovit obsah vybraných těžkých kovů v plastových materiálech používaných jako obaly léčivých přípravků a potravin a v recyklovaném polyethylentereftalátu (rPET) a následně získané hodnoty vyhodnotit ve vztahu platným legislativním limitům. Tyto prvky jsou mimo jiné využívány jako katalyzátory při polymeraci PETu.

Analyzovány byly tři typy recyklovaného PETu, primární obal léčivého přípravku *Magnesii lactici* z polyvinylchlordu (PVC) a PET obal doplňku stravy pocházející z Číny.

Vzhledem k analytické náročnosti stanovení stopových prvků v polymerní matrici byla metoda postupně optimalizována a ověřována. Při vývoji metodiky bylo vycházeno z publikovaných postupů a zkušeností pracoviště.

Významnou částí práce byl vývoj vhodného analytického postupu, včetně optimalizace podmínek přípravy standardních vzorků a následného zavedení metody přídavku standardu (STD). Souhrnné schéma průběhu experimentální části práce je zobrazeno na obr. 3.



Obrázek 3: Souhrnné schéma experimentální části

2.1 Použité materiály a chemikálie

Výchozí materiál tvořily vzorky recyklovaného PETu poskytnuté společností rPET InWaste s.r.o., zabývající se recyklací plastů. K dispozici byl čistý PET a tři typy rPETu označené výrobcem jako PRC No. 6365, PRCL No. 11228 a DI 24/04/29, přičemž poslední vzorek představoval pouze vyčištěný materiál pocházející z PET lahví. Materiály byly dodány ve formě větších granulí i jemného prachu mikroplastů.

Dále byl analyzován PVC blistr léčivého přípravku *Ibalgin* 400 mg (Sanofi) a *Magnesii lactici* 0,5 g (Glenmark Pharmaceuticals) a PET obal doplňku stravy čínského původu ve formě plastové dózy se šroubovacím uzávěrem obsahující rostlinné extrakty. U těchto obalových materiálů byla analyzována pouze část materiálu přicházející do přímého kontaktu s obsahem přípravku.

K rozpouštění polymerů sloužil N-methyl-2-pyrrolidon (NMP, Emplura®, Merck, Německo) a kyselina trifluoroctová (TFA, Fluorochem, Velká Británie). Součástí použitých chemikálií byla rovněž kyselina dusičná (HNO_3, p.a.+, ~65 %, Analytika, spol. s.r.o., Česká republika), kyselina chlorovodíková (HCl, 34-37 %, Analpure®, Analytika, spol. s.r.o., Česká republika) a hydroxid sodný (NaOH, Sigma-Aldrich, Německo). K ředění roztoků byla používána ultračistá voda připravená systémem Milli-Q (Merck Millipore) s rezistivitou 18,8 MΩ·cm.

Ke kalibraci byly využity vodné standardní roztoky prvků o koncentraci 1000 mg/L (ASTASOL®). U PET vzorků byl sledován Co, Sb, Zn, Ba, Al a Ti, zatímco u PVC vzorku Cd, Ba, Sb, Zn, Ti a Sn.

2.2 Přístrojové vybavení

Analýza prvků v polymerních materiálech byla provedena pomocí metody LA-ICP-MS, která spojuje laserový ablační systém LSX-213 G+ obsahující Q-modulovaný Nd:YAG laser o vlnové délce 213 nm [41], a hmotnostní spektrometr ICP-MS Agilent 7900 s kvadrupólovým filtrem [42]. Pro stanovení obsahu prvků v extraktech byla použita hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) pomocí stejného hmotnostního spektrometru.

Data získaná z ICP-MS a informace o poloze laseru byly zpracovány pomocí softwaru Iolite 4, který umožňuje jejich propojení a následné vyhodnocení. Pro vyhodnocení roztokové analýzy extraktů byl použit software Masshunter.

Pro přípravku vzorků byla využita analytická váha a ultrazvuková lázeň. Homogenizace a zahřívání vzorků probíhala na magnetické míchačce s ohřevem a v některých případech bylo zahřívání prováděno na laboratorní topné desce.

2.3 Optimalizace a vývoj metody

Analýza stopových koncentrací prvků v polymerních materiálech vyžaduje vhodnou přípravu vzorků a standardů. Z toho důvodu byla před samotnou analýzou provedena série experimentů zaměřených na optimalizaci metody.

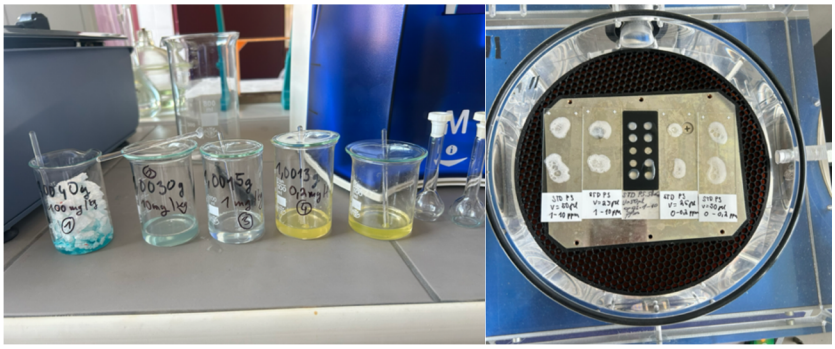
V počáteční fázi byla testována příprava standardů přizpůsobených matrici (tzv. matrix-matched) pro stanovení sledovaných prvků. K přípravě standardů byl použit čistý PET (obr. 4A), se kterým se postupovalo podle publikovaných postupů. [38, 43] Navážka 0,9995 g granulí PETu byla nejprve mechanicky upravována v třence s cílem zvýšit rozpustnost polymeru. Úprava byla však neúspěšná, proto se pokračovalo s nerozmělněnými granulemi. Jako rozpouštědlo bylo zvoleno NMP, nicméně k rozpuštění granulí nedošlo. Jak lze vidět na obrázku 4B, stejný výsledek byl pozorován i při použití jemného prachu rPETu (obr. 4C). Výsledná suspenze neumožnila vytvoření homogenní vrstvy na podložním skle, a nebyla proto vhodná pro další analýzu (obr. 4D)

Na základě literárních materiálů bylo potvrzeno, že PET je v NMP prakticky nerozpustný, což vedlo k hledání vhodného a zároveň dostupného rozpouštědla, které by umožnilo efektivní rozpuštění PETu a zároveň nebylo toxické jako fenol, jenž je v literatuře uváděn jako možné rozpouštědlo pro tento typ polymeru. [43]

A B C D

Obrázek 4: Rozpouštění PETu v NMP – A), B) větší granule PET; C), D) nerozpuštěný jemný prach PET

Pro ověření správnosti zvoleného postupu přípravy standardů byl následně proveden kontrolní experiment s polystyrenem (PS), který je v NMP dobře rozpustný. Byl připraven roztok obsahující 1 g PS a 10 g NMP, do něhož byly přidány standardní roztoky Co a Sb tak, aby výsledná byla koncentrace 100 μg/L pro každý z prvků. Z tohoto roztoku bylo následně připraveno 5 standardních roztoků o koncentracích 100, 10, 1 a 0,2 μg/L a blank (obr. 5A). Vzorky byly napipetovány na sklíčka a sušeny při teplotě 80 °C po dobu 12 hodin (obr. 5B). Po vypaření rozpouštědla vznikla tenká homogenní vrstva Vzorky byly poté analyzovány pomocí LA-ICP-MS. Tímto experimentem byla potvrzena vhodnost metodiky přípravy standardů.



A B

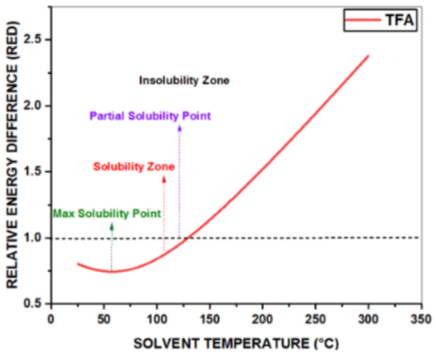
Obrázek 5: Příprava standardů PS – A) STD roztoky; B) STD nanesené na podložním skle

Podle článku Karim et al., 2022 lze PET rozpustit ve fenolu, o-chlorofenolu, 3-methylfenolu a kyselině trifluoroctové. Parametr RED (Relative Energy Difference) v tabulce č. 8 vyjadřuje relativní energetický rozdíl systému polymer-rozpouštědlo a slouží jako ukazatel jejich kompatibility. Pokud je RED<1, je v něm PET rozpustný, pokud je RED=1, je parciálně rozpustná a pokud RED>1, PET je nerozpustný. Rozpustnost PET zároveň závisí na teplotě. Na rozdíl od nejdříve preferovaného fenolu, který dosahuje RED=0,91 až při zvýšené teplotě, je u TFA RED=0,8 již při laboratorní teplotě. Jako nejvhodnější rozpouštědlo byla proto zvolena kyselina trifluoroctová, která vykazuje schopnost rozpouštět jak čistý PET, tak i rPET. [43]

Tabulka 8: Hodnoty RED pro vybraná rozpouštědla PET [43]

RED systému polymer-rozpouštědlo pro vybraná rozpouštědla PET a jejich rozpustnost			
Rozpouštědlo	**Teplota (°C)**	**RED**	**Rozpustnost**
Fenol	Min. 44,73	0,98	Rozpustný
	Max. 108,39	0,91	Rozpustný
Kyselina trifluoroctová (TFA)	Min. 25,00	0,80	Rozpustný
	Max. 57,69	0,74	Rozpustný

Maximální rozpustnosti PETu v TFA je dosaženo při teplotě 56 °C (obr. 6). Proto byla k rozpouštění použita magnetická míchačka s ohřevem. [42]
Standardy PET byly připraveny stejným způsobem jako standardy PS. Podrobný postup přípravy je rozepsán v kapitole 3.4.1.



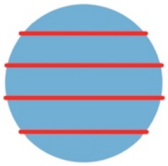
Obrázek 6: Teplota rozpouštění TFA [42]

2.3.1 Optimalizace laseové ablace

Během vývoje metody byly rovněž optimalizovány parametry laserové ablace s cílem získat stabilní signál a vhodné podmínky pro analýzu.

Nejprve byl prováděn test energie laseru. Ablace byla prováděna při velikosti laserového spotu 50 μm a rychlosti skenování 100 $\mu m \cdot s^{-1}$. Testovány byly energie laseru 4; 6; 8; 10; 12; 14 a 16 $J \cdot cm^{-2}$. Propálení vrstvy polymeru na podložní sklo bylo sledováno na základě změn signálu prvků, především Si, který je hlavní složkou podložního skla, na kterém je umístěn vzorek a jeho zvýšení indikovalo ablaci až na skleněný podklad. Dále byl sledován C, Co a Sb, přičemž Co a Sb byly do vzorku přidány ve formě standardních roztoků jako certifikovaný referenční materiál (CRM). Bylo zjištěno, že při takto nastavené velikosti laserového spotu a rychlosti skenování nedochází ke kompletní ablaci vzorku až na podložní sklo, a to ani při maximálním nastavení energie laseru (100 %). Z toho důvodu byla pro další měření byla zvolena nižší rychlost skenování (25 $\mu m \cdot s^{-1}$) a energie laseru byla nastavena na 8,5 $J \cdot cm^{-2}$. Snížením rychlosti skenování došlo ke zvýšení počtu laserových pulzů dopadajících na jedno místo vzorku, což vedlo k jeho úplnému propálení. Tato rychlost skenování však není z hlediska analýzy většího množství vzorků zcela optimální, jelikož významně prodlužuje dobu měření. Účinnost ablace navíc mohl ovlivnit aktuální stav flash lampy. Další měření již probíhala za optimalizovaných podmínek.

Dále byla testována homogenita distribuce prvků Co a Sb v připravených standardech ve formě suchých kapek na podložním sklíčku. Tyto kapky byly ablatovány čtyřmi liniemi vedenými po celé délce kapky při velikosti laserového spotu 50 μm a rychlosti skenování 100 $\mu m \cdot s^{-1}$. Jednotlivé linie byly umístěny na začátku, ve středu a na konci kapky (viz. schéma obr. 7).



Obrázek 7: Linie ablace kapky PS

Linearita koncentrace Sb a Co ve standardních kapkách byla testována ablací linie vedené po celé délce kapky. Ablace byla prováděna při velikosti laserového spotu 7 µm a rychlosti skenování 14 $\mu m \cdot s^{-1}$. Tyto podmínky sloužily i pro ověření, zda je možné i při malé velikosti laserového spotu kvantifikovat obsah analyzovaných prvků v polymerních materiálech.

Jako optimální byla stanovena energie laserového záření odpovídající 50 % maximální energie, tj. 8,57 $J \cdot cm^{-2}$. Dále byla optimalizována velikost laserového spotu a rychlost skenování, jejichž hodnoty by měly být v poměru 1:1, případně 2:1.

2.4 Metoda externí kalibrace

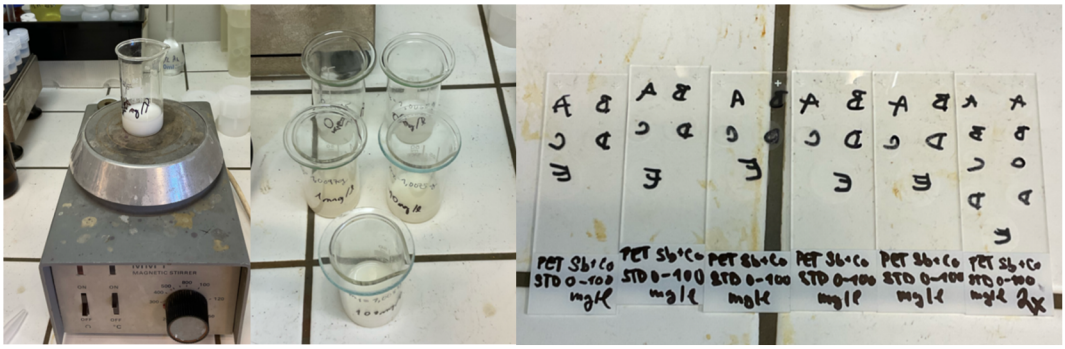
2.4.1 Příprava standardů

Postup přípravy standardů PET byl obdobný jako postup optimalizovaný v předchozí kapitole. Do pěti kádinek bylo naváženo přibližně 1 g PETu, přičemž přesná hmotnost navážek byla zaznamenána. Pro přípravu kalibračních roztoků byly použity čtyři odměrné baňky o objemu 10 mL, do nichž byly přidány definované objemy standardních roztoků Sb a Co připravených v kyselině dusičné. Objem odměrných baněk byl následně doplněn TFA tak, aby vznikly roztoky o koncentracích kovů 0,1 ml/L; 1 ml/L; 10 ml/L a 100 ml/L.

Obsah jednotlivých odměrných baněk byl přidán k naváženému PETu v kádinkách. Do jedné kádinky, která sloužila jako blank bylo přidáno pouze rozpouštědlo – 10 ml TFA. Všechny vzorky byly následně zahřívány na magnetické míchačce s ohřevem při teplotě 56 °C až do úplného rozpuštění polymeru, čímž vznikly homogenní roztoky (obr. 8A a 8B). Každý roztok byl následně nanesen na podložní sklíčko (obr. 8C). Po odpaření rozpouštědla vznikla tenká vrstva PETu obsahující definované koncentrace Sb a Co, která byla dále analyzována metodou LA-ICP-MS.
Pro přehlednost je pipetovací schéma znázorněno v tabulce č. 9.

Tabulka 9: Schéma přípravy PET vzorků (externí kalibrace)

Vzorek	Navážka PET (g)	Koncentrace standardů Co + Sb (mg/L)	Doplnění TFA
Blank	0,9985	0,0	Do 10 mL
S1	1,0060	0,1	Do 10 mL
S2	1,0097	1,0	Do 10 mL
S3	1,0075	10,0	Do 10 mL
S4	1,0081	100,0	Do 10 mL



A B C

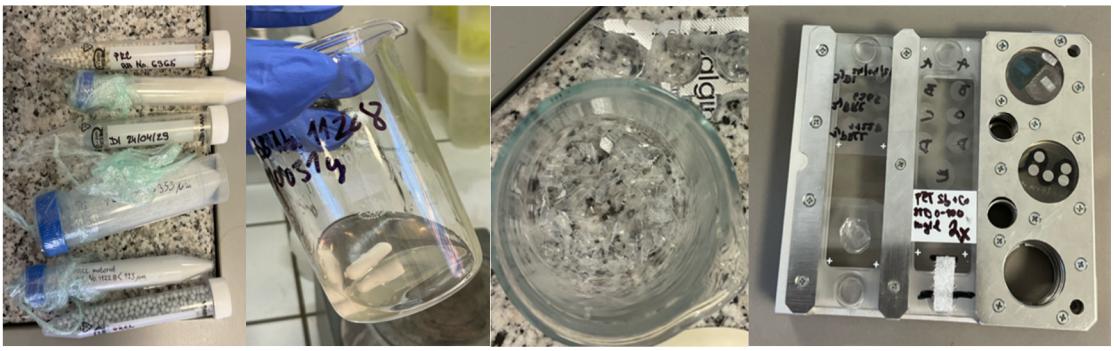
Obrázek 8: Příprava standardů PET – A) rozpouštění PET v TFA; B) homogenní STD roztoky PET C) kapky STD PET nanesené na podložním skle

2.4.2 Příprava vzorků rPET a blistru

Pro přípravu vzorků z recyklovaného PETu byl postup obdobný jako při přípravě standardů. Byly k dispozici tři různé vzorky rPETu – PRCL No. 11228, PRC No. 6365 a DI 24/04/29 (obr. 9A). Materiály byly předem namlety (na univerzitě v Lublani), což výrazně urychlilo jejich rozpouštění. Následně byly vzorky rozpuštěny v TFA a zahřívány na magnetické míchačce, čímž vznikl homogenní roztok (obr. 9B).

Vzorek plastového blistru léčivého přípravku Ibalgin nebylo možné rozpustit, jelikož se nejedná o PET, ale o materiál tvořený kombinací PVC a hliníkové fólie (PVC/Al) (obr. 9C). Z důvodu nedostupnosti dalšího materiálu byl proto pro analýzu použit fragment blistru léčivého přípravku Magnesii lactici, který je rovněž tvořen kombinací PVC/Al. Fragment blistru byl analyzován v pevné formě po upevnění na podložní sklíčko pomocí oboustranné lepící pásky. Pro ověření správnosti měření na lepící pásce byly stejným způsobem upevněny jemně mleté vločky vzorku rPET (DI 24/04/29).

Všechny vzorky a STD připravené k analýze metodou LA-ICP-MS jsou na obr. 9D.



A B C D

Obrázek 9: Příprava vzorků rPET – A) vzorky rPET; B) rozpuštěný vzorek rPET v TFA; C) nerozpuštěný vzorek blistru LP Ibalgin; D) PET STD a vzorky připravené k analýze

2.5 Metoda přídavku standardu

Jako druhý způsob kvantifikace vybraných prvků bez nutnosti přípravy polymerních standardů byla zvolena metoda přídavku standardu. Princip metody spočívá v přídavku známého množství standardních roztoků prvků přímo do analyzovaného vzorku. Výhodou této metody je dobrá reprodukovatelnost a možnost využití pro různé typy polymerních materiálů. Postup zahrnuje přípravu koncentrační řady standardních roztoků sledovaných prvků, které jsou následně přidávány do jednotlivých rozpuštěných vzorků.

2.5.1 Příprava PET vzorků a kalibračních roztoků pro PET

Tento postup byl využit ke stanovení obsahu sledovaných prvků ve třech vzorcích rPETu a PET plastové nádobě doplňku stravy čínského původu (obr. 10A), která byla mechanicky upravena (obr. 10B).

Pro analýzu PET vzorků byl připraven zásobní směsný roztok obsahující prvky Co, Sb, Zn, Ba, Al a Ti o koncentraci 1000 mg/L. Z tohoto roztoku byla postupným ředěním v odměrných baňkách připravena koncentrační řada roztoků. K zajištění stabilního kyselého prostředí a zabránění vysrážení polymeru byla při přípravě použita kyselina dusičná. Její přídavek byl nutný zejména u roztoků s nižší koncentrací analytů, kde v důsledku vyššího podílu vody a nižšího obsahu kyseliny přenesené se standardními roztoky kovů hrozilo snížení kyselosti a následné vysrážení polymeru. Schéma přípravy koncentrační řady je zobrazeno v tabulce č. 10.

Tabulka 10: Schéma přípravy kalibrační řady STD roztoků pro PET (metoda přídavku STD)

Roztok	Výsledná koncentrace kovů (mg/L)	Objem zásobního roztoku kovů	Objem HNO_3 60 % (mL)	Doplnění vodou
A	167	0,5 mL každého prvku	0	Bez doplnění
B	100	1 mL roztoku A	0	Do 10 mL
C	50	5 mL roztoku B	0,5	Do 10 mL
D	10	1 mL roztoku B	1	Do 10 mL
E	0 (blank)	0	0	Do 10 mL

Každý polymerní vzorek byl nejprve rozpuštěn v 5 mL TFA na magnetické míchačce při teplotě 56 °C (obr. 10C). Z každého polymerního roztoku byl odebrán 1 ml do pěti zkumavek. Do čtyř zkumavek bylo následně přidáno 0,1 ml standardní ho roztoku kovů (A–E), přičemž každá zkumavka obsahovala pouze jeden typ STD. Pátá zkumavka byla připravena bez přídavku standardu a sloužila jako blank (obr. 11A). Pipetovací schéma přípravy PET vzorků je uvedeno v tabulce 11.

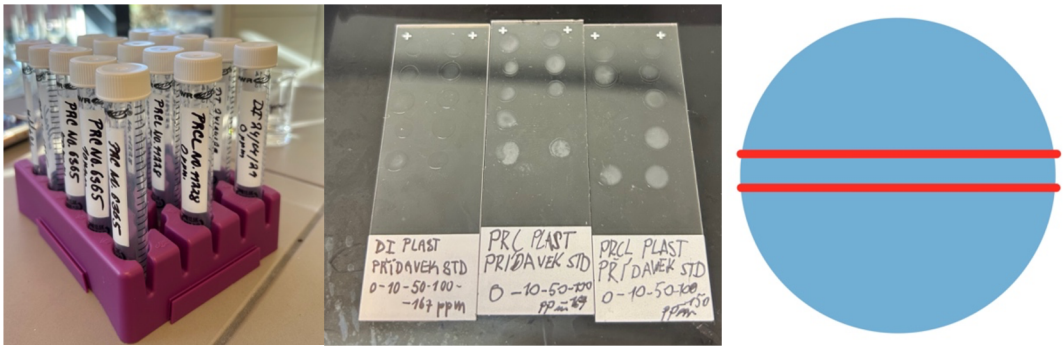
Tabulka 11: Příprava vzorků PET pro metodu přídavku STD

Polymer	Označení	Navážka (g)	TFA (mL)	Schéma přípravy
rPET	PRCL No. 11228	0,5012	5	1 ml roztoku polymeru + 0,1 ml STD (A-E)
rPET	PRC No. 6365	0,5004	5	
rPET	DI 24/04/29	0,5040	5	
PET	Nádoba, Čína	0,5012	5	

A B C

Obrázek 10: Příprava PET vzorku obalu doplňku stravy z Číny – A) doplněk stravy; B) mechanická úprava PET obalu; C) rozpouštění PET obalu v TFA

Po homogenizaci byly roztoky nanášeny na podložní mikroskopická sklíčka pomocí automatické pipety ve formě kapek o stejném objemu (0,1µL), přičemž od každého vzorku byly na sklíčko nanášeny dvě kapky vedle sebe. Po odpaření rozpouštědla vznikla tenká vrstva polymeru obsahující známé množství přidaných prvků (obr. 11B). Takto připravené vzorky byly analyzovány metodou LA-ICP-MS. Každá kapka byla ablatována dvěma liniemi podél jejího středu, jak je znázorněno na obrázku 11C.



A B C

Obrázek 11: PET vzorky připravené metodou přídavku STD – A) PET vzorky; B) kapky vzorků nanesené na podložním skle; C) linie ablace kapek

2.5.2 Příprava PVC vzorku a standardních roztoků pro PVC

Pro PVC blistr léčivého přípravku Magnesii lactici (obr. 12A) byla připravena nová koncentrační řada STD roztoků, jelikož u tohoto materiálu byly analyzovány jiné prvky než u PET vzorků (Cd, Ba, Sb, Zn, Ti, Sn). Koncentrační řada kovů byla připravena obdobným způsobem jako u PET vzorků, schéma přípravy je tedy shodné s tabulkou č. 10.

Pro analýzu byla použita pouze část blistru přicházející do přímého kontaktu s léčivem. Blistr byl nejprve rozpuštěn v NMP za stálého míchání na magnetické míchačce. Z připraveného roztoku byl následně odebrán 1 mL do pěti zkumavek, do kterých byly rovněž přidány STD roztoky kovů (A-E). Jedna zkumavka bez přídavku STD sloužila jako slepý vzorek (blank). Schéma přípravy vzorků je shrnuto v tabulce č. 13.

Po smísení STD roztoků s rozpuštěným blistrem byly u vyšších koncentrací (167 mg/L a 100 mg/L) pozorovány vysrážené fragmenty PVC, které nevymizely ani po homogenizaci v ultrazvukové lázni (obr. 12B). Tento jev byl pravděpodobně způsoben vysokým podílem vodné fáze pocházející ze standardních roztoků kovů, což vedlo ke snížení rozpouštěcí schopnosti NMP a narušení stability polymerního roztoku. Vzniklé směsi nebyly homogenní, což znemožnilo přesnou a kvantifikaci, a proto byla koncentrační řada upravena směrem k nižším koncentracím. Maximální koncentrace přídavku STD roztoků kovů, při níž zůstal roztok polymeru homogenní, byla 60 mg/L (obr. 12C). Schéma přípravy celé koncentrační řady je uvedeno v tabulce č. 12. Roztoky A a B nebyly ke kvantifikaci použity a analyzovány byly pouze orientačně.

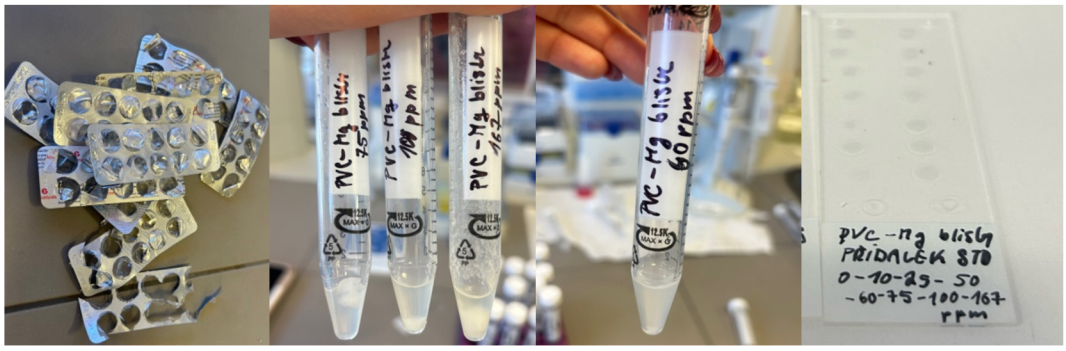
Tabulka 12: Schéma přípravy kalibrační řady STD roztoků pro PVC (metoda přídavku STD)

Roztok	Výsledná koncentrace (mg/L)	Příprava roztoku	Doplnění NMP
A	167	0,5 mL každého prvku	Bez doplnění
B	100	1 mL od každého prvku	Do 10 mL
C	60	6 ml roztoku B	Do 10 mL
D	50	5 mL roztoku B	Do 10 mL
E	25	5 mL roztoku D	Do 10 mL
F	10	1 mL roztoku B	Do 10 mL
G	0 (blank)	0	Do 10 mL

Tabulka 13: Příprava vzorku PVC pro metodu přídavku STD

Polymer	Označení	Navážka (g)	NMP (mL)	Přídavek STD
PVC	Blistr Magnesii-lactici	0,5000	5	1 ml roztoku PVC + 0,1 ml STD (A-D, F,G)
		0,5012	5	1 ml roztoku PVC + 0,1 ml STD E

Homogenizované směsi byly následně naneseny na podložní sklíčka ve formě dvou kapek o objemu 0,1 μL (obr. 12D). Po odpaření rozpouštědla byly takto připravené vzorky analyzovány metodou LA-ICP-MS. Kapky byly ablatovány dvěma liniemi podél středu, stejně jako v případě PET vzorků. Ablační linie jsou znázorněny na obr. 11C.



A B C D

Obrázek 12: Příprava PVC vzorku – A) PVC blistry LP; B) nerozpuštěné koncentrace; C) maximální rozpuštěná koncentrace 60 mg/L; D) kapky vzorku nanesené na podložním skle

2.6 Stanovení extrahovatelných kovů

Pro doplnění výsledků získaných metodou LA-ICP-MS byla provedena také analýza extraktů připravených z polymerních materiálů. V této části práce bylo hodnoceno uvolňování vybraných prvků z polymerů do extrakčních roztoků připravených podle příslušných monografií Evropského lékopisu. Cílem bylo stanovit množství prvků, které se z polymeru uvolní, a tyto hodnoty následně porovnat s celkovým obsahem prvků zjištěných pomocí přímé analýzy polymerů. Získané informace umožňují posoudit stabilitu polymeru z hlediska možné migrace prvků do okolního prostředí nebo léčivého přípravku.

Stanovení prvků v připravovaných extraktech bylo provedeno metodou externí kalibrace na základě kalibrační řady standardních roztoků obsahující sledované prvky. Stejným způsobem byl analyzován také extrakt připravený z rozdrcených tablet doplňku stravy z Číny. Připravené roztoky byly analyzovány metodou ICP-MS, která umožňuje citlivé stanovení stopových koncentrací kovů.

2.6.1 Příprava kalibrační řady standardních roztoků

Kalibrační řada byla připravena smísením osmi standardních roztoků zájmových prvků o koncentraci 1000 mg/L (Co, Sb, Zn, Ba, Al, Ti, Cd a Sn). Do roztoků byla přidávána kyselina chlorovodíková (HCl, 35 %) s cílem přibližně sjednotit kyselost jednotlivých kalibračních roztoků (tzv. matrix-matched) a tím minimalizovat vliv matricových efektů. Vzhledem k postupnému ředění roztoků se její koncentrace v jednotlivých

roztocích mírně lišila, avšak zůstala podobném rozmezí. Do roztoku B nebyla HCl vůbec přidána, protože byla obsažena již v roztoku A, ze které byl roztok B připraven, a její požadovaná koncentrace tak zůstala zachována i po naředění. Jednotlivé kroky přípravy kalibračních roztoků odpovídají schématu uvedenému v tabulce č. 14.

Tabulka 14: Schéma přípravy kalibrační řady pro extrakty vzorků

Roztok	Koncentrace (mg/L)	Příprava roztoku	HCl 35 % (mL)	Doplnění vodou
A	10	0,25 mL každého prvku	2,5	Do 25 mL
B	5	5 mL roztoku A	-	Do 10 mL
C	1	1 mL roztoku A	0,5	Do 10 mL
D	0,5	1 mL roztoku B	0,5	Do 10 mL
E	0,1	1 mL roztoku C	0,5	Do 10 mL
F	0 (blank)	0	1	Do 10 mL

Do 25 mL odměrné baňky bylo odpipetováno 0,25 mL každého prvku a bylo přidáno 2,5 mL HCl. Roztok byl následně doplněn ultračistou (MQ) vodou do 25 mL. Tímto postupem byl získaný směsný roztok o koncentraci 10 mg/L pro každý zájmový prvek. Z tohoto roztoku byly následně postupným ředěním připraveny další kalibrační roztoky a koncentracích 5; 1; 0,5; 0,1 mg/L. Součástí kalibrační řady byl i blank, který byl připraven stejným způsobem jako ostatní vzorky, avšak bez přidání STD roztoků kovů.

2.6.2 Příprava extraktu z tablet doplňku stravy z Číny

Pro stanovení obsahu kovů v tabletách doplňku stavy pocházejícího z Číny byl připraven vodný extrakt. Tři tablety bely nejprve rozdrceny v třence na jemný prach (obr. 13B), ze kterého byla navážena hmotnost 1,0061 g, která byla přenesena do 25 mL odměrné baňky. Ke vzorku bylo přidáno malé množství MQ-vody a směs byla protřepána. Následně byl přidán 1 mL kyseliny dusičné (HNO_3, 65 %) a obsah baňky byl doplněn MQ-vodou po rysku. Po protřepání byl roztok extrahován 15 hodin při laboratorní teplotě (obr. 13A). Po dokončení extrakce byl obsah baňky přefiltrován přes membránový filtr a analyzován metodou ICP-MS.

A B

Obrázek 13: Příprava extraktu z tablet doplňku stravy z Číny – A) výluh tablety; B) drcení tablet

2.6.3 Příprava extraktů PET vzorků

Příprava extraktů PET vzorků vycházela z postupů uvedených v monografii 3.1.15 Evropského lékopisu. Jako extrakční média byly použity roztoky HCl (0,1 M) a NaOH (0,01 M), které byly předem připraveny. Pro přípravu roztoků byly použity roztoky S3 a S4 uvedené v monografii. Roztok S3 slouží ke stanovení extrahovatelných prvků (Al, Ba, Co, Ti a Zn), zatímco roztok S4 je určen ke stanovení Sb. Každý vzorek byl připraven v kyselém i v alkalickém extrakčním médiu. [36]

Množství vzorku a extrakčních roztoků uvedená v lékopisu byla úměrně upravena z důvodu omezené dostupnosti materiálů, především vzorků rPET. Poměr mezi množstvím vzorku a extrakčním médiem byl však zachován. Vzorky rPET byly pro přípravu extraktů použity ve formě větších granulí (obr. 14A). Výjimkou byl vzorek DI 24/04/29, který měl objemnou strukturu, a proto bylo nutné použít větší objem extrakčního média, aby byl celý vzorek během extrakce ponořen. V tomto případě byl materiál tvořen jak většími vločkami polymeru, tak i mikroplasty o velikosti do 355 μm. Zředění výluhu bylo následně zohledněno při vyhodnocení výsledků. Schéma přípravy extraktů je znázorněno v tabulce č. 15.

Tabulka 15: Příprava extraktů PET vzorků

Vzorek	Navážka (g)	Extrakční médium	Objem média (mL)
PRCL 11228	0,9850	S3 (0,1 M HCl)	2,5
	1,0078	S4 (0,01 M NaOH)	2,5
PRC 6365	1,0142	S3 (0,1 M HCl)	2,5
	0,9933	S4 (0,01 M NaOH)	2,5
DI 24/04/29	0,9950	S3 (0,1 M HCl)	10
	1,0076	S4 (0,01 M NaOH)	10
Obal doplňku stravy z Číny	4,0007	S3 (0,1 M HCl)	10
	4,0048	S4 (0,01 M NaOH)	10

Připravené extrakty byly za podmínek uvedených v lékopisu zahřívány na ohřívací desce při teplotě 50 °C po dobu 5 hodin (obr. 14B). Po extrakci byly roztoky odděleny od pevného materiálu dekantací do plastových zkumavek. V případě vzorku DI 24/04/29 byl extrakt navíc přefiltrován přes membránový filtr, protože byl vzorek připraven z materiálu o různé velikosti částic. Takto připravené výluhy byly bezprostředně analyzovány metodou ICP-MS.

A B

Obrázek 14: Příprava polymerních extraktů – A) analyzované materiály; B) zahřívání extraktů

2.6.4 Příprava extraktů PVC vzorku

Postup přípravy extraktu PVC blistru vycházel z monografie 3.1.11 Evrospkého lékopisu. Pro extrakci byl použit roztok S3 uvedený, který je v monografii určen pro stanovení extrahovatelných těžkých kovů a zinku. Extrakčním médiem byla 0,1 M HCl, která byla předem připravena. Blistr byl před extrakcí mechanicky upraven na menší fragmenty (obr. 14A). V původním postupu je extrakce prováděna po dobu 1 hodiny pod zpětným chladičem. Pro účely této práce byla extrakce prováděna obdobně jako při přípravě extraktů PET vzorků, a to zahříváním v kádince přikryté podložním sklíčkem při teplotě 50 °C po dobu 5 hodin (obr. 14B). Množství použitého vzorku a extrakčního média bylo upraveno, přičemž poměry uvedené v lékopisu byly zachovány. Přehled přípravy výluhu je uveden v následující tabulce č. 16. [36]

Tabulka 16: Příprava extraktu PVC blistru léčivého přípravku Magnesii lactici

Vzorek	Navážka (g)	Extrakční médium	Objem extrakčního média (mL)
PVC blistr	1,0018	S3 (0,1 M HCl)	20

Po dokončení extrakce byl roztok dekantován od pevného materiálu do plastové zkumavky a následně analyzován metodou ICP-MS.

2.7 Podmínky laserové ablace

Parametry laserové ablace byly nastaveny na základě optimalizačních experimentů prováděných na vzorku polystyrenu (PS), který byl připraven v průběhu optimalizace metody (kapitola 3.3). Cílem těchto experimentů bylo stanovit vhodnou energii laseru a další parametry laserové ablace pro analýzu polymerních materiálů. Nastavení jednotlivých parametrů bylo v průběhu experimentů mírně upravováno podle aktuálních podmínek měření a optimalizace signálu.

Přehled použitých parametrů pro jednotlivé typy analýz je uveden v tabulce č. 17.

Tabulka 17: Podmínky laserové ablace

Parametr	Externí kalibrace	Přídavek standardu PET	Přídavek standardu PVC
Typ ablace	bodová	linie	linie
Energie laserového záření ($J \cdot cm^{-2}$)	10	11	15
Velikost laserového spotu (µm)	150	100	100
Rychlost skenování ($\mu m \cdot s^{-1}$)	150	100	100
Frekvence pulzů (Hz)	20	20	20
Počet laserových pulzů	30	–	–
Počet ablačních linií	–	2	2

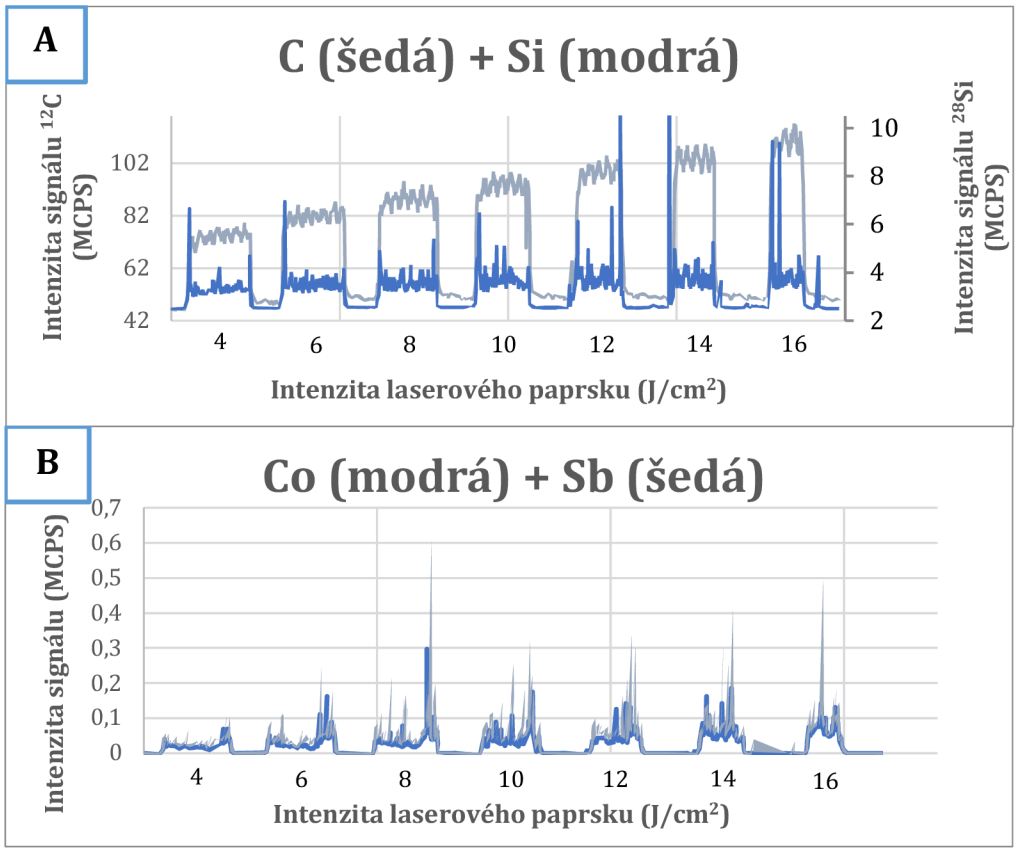
3 Výsledky a diskuse

3.1 Výsledky optimalizace laserové ablace

Prvním testovaným parametrem při optimalizaci laserové ablace byla energie laseru. Byl sledován vliv energie laserového paprsku v rozmezí 4-16 J/cm^2 na intenzitu signálu sledovaných prvků. Se zvyšující se energií laseru byl pozorován nárůst intenzity signálu uhlíku (^{12}C), který představuje analyzovaný polymerní materiál.
Sledován byl také signál křemíku (^{28}Si) sloužící jako indikátor dosažení podložního skla. Ani při maximální energii laseru nedocházelo k výraznému nárůstu intenzity signálu křemíku, z čehož vyplývá, že nedošlo k úplné ablaci vzorku až na podložní sklo.

U Analyzovaných prvků Sb a Co bylo rovněž pozorováno zvyšování intenzity signálu se vzrůstající energií laseru. Na základě výsledků byla zvolena energie laserového záření 8,5 J/cm^2 a byla snížena rychlost skenování, díky čemuž došlo k úplnému propálení vzorku. Jak již bylo výše psáno, během tohoto měření nebyl laser v plné kondici a další měření probíhala již za optimalizovaných podmínek.

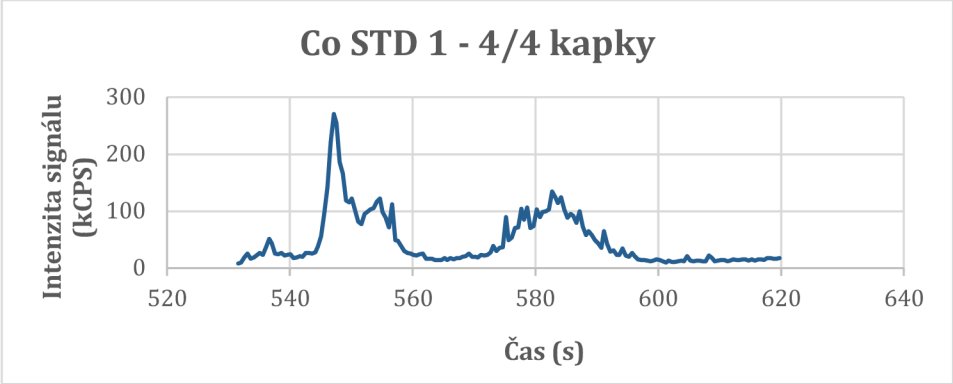
Na obr. 15A je znázorněn průběh intenzity signálů uhlíku (šedě) a křemíku (modře), na obr. 15B pak kobaltu (modře) a antimonu (šedě).



Obrázek 15: Test energie laseru – A) šedá C, modrá Si; B) modrá Co, šedá Sb.

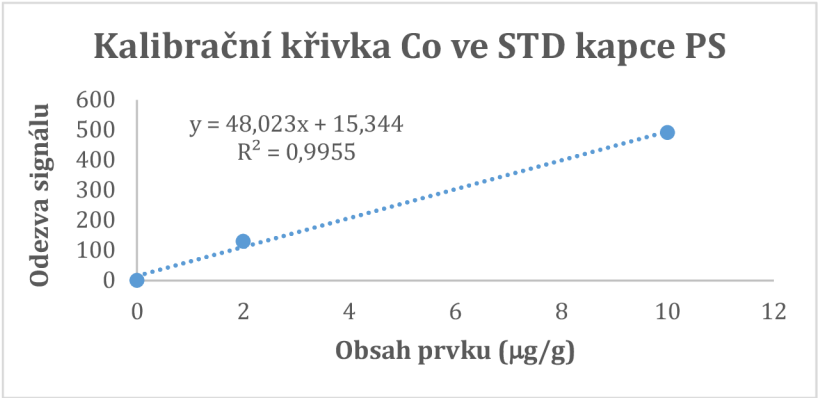
Homogenita a distribuce sledovaných prvků byla hodnocena na základě záznamu intenzity signálu získaných při ablaci kapky podél čtyř linií.

Na obr. 16 je zobrazen reprezentativní záznam průběhu intenzity signálu Co ve standardní kapce (STD 1) podél jedné ablační linie vedené ve čtvrté části kapky. Z průběhu signálu je patrná výrazná variabilita signálu během měření, což ukazuje na nehomogenní rozložení analytu v kapce. Maxima signálu naznačují zvýšenou koncentraci prvku v určitých oblastech, která může souviset s nerovnoměrným zasycháním polymerní kapky, např. vlivem efektu kávového prstence (tzv. coffee stain effect). Obdobnou distribuci lze předpokládat o u antimonu, který by do standardních roztoků polystyrenu (PS) přidáván ve stejném množství.



Obrázek 16: Test homogenity a distribuce prvků

Test lineární regrese Co a Sb ve standardních kapkách byl proveden ablací po celé jejich délce za zvolených experimentálních podmínek. Následně byla sestavena kalibrační křivka, která popisuje závislost intenzity signálu na koncentraci daného prvku (obr. 17).



Obrázek 17: Test lineární regrese Co ve standardní kapce PS

Nejvyšší testovaná koncentrace (100 µg/g) nebyla do kalibrace zahrnuta z důvodu odchylky od lineárního průběhu a do vyhodnocení tedy byly zahrnuty pouze koncentrace do 10 µg/g. Z kalibrační závislosti je patrná velmi dobrá linearita, což potvrzuje vysoká hodnota koeficientu determinace (R^2 = 0,9955).

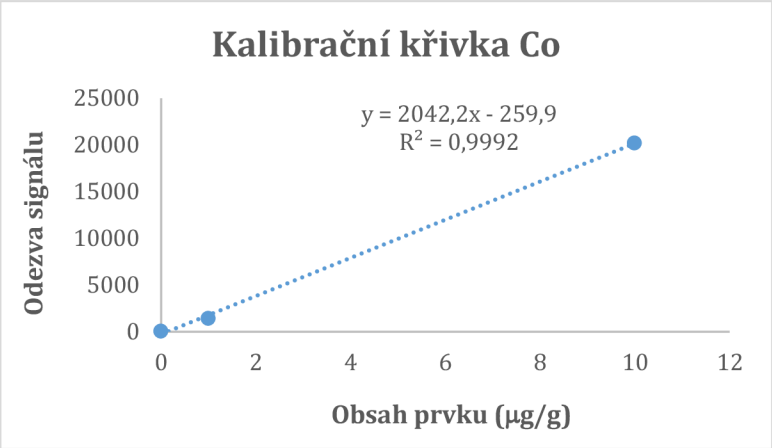
Získané výsledky ukazují, že metoda umožňuje spolehlivou kvantifikaci kovů v polymerních materiálech. Hodnoty limitu detekce (LOD) a limitu kvantifikace (LOQ) jsou uvedeny v tabulce 18. Získané hodnoty LOD/LOQ potvrzují, že je metoda dostatečně citlivá pro detekci nízkých koncentrací a jejich spolehlivou kvantifikaci.

Tabulka 18: Hodnoty LOD/LOQ pro Co a Sb stanovené při optimalizaci metody

	LOD (µg/g)	LOQ (µg/g)
Kobalt (Co)	0,09	0,3
Antimon (Sb)	0,1	0,4

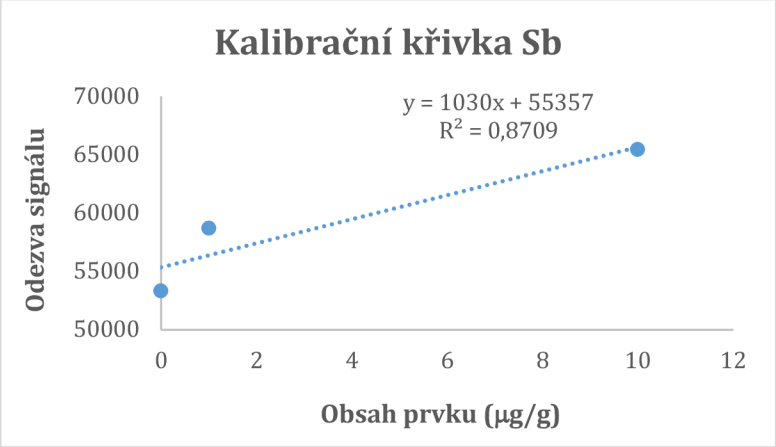
3.2 Výsledky externí kalibrace

Pro stanovení obsahu Co a Sb v polymerních materiálech metodou externí kalibrace byly připraveny standardy o koncentracích 0; 1; 10; 100; 1000 µg/g. Jelikož při vyšších koncentracích docházelo k odchylkám od linearity, do kalibračních křivek byla zahrnuta pouze oblast 0-10 µg/g. Kalibrační křivka pro Co ve standardech je znázorněna na obrázku 18 a pro Sb na obrázku 19. Linearita kalibrace byl hodnocena pomocí koeficientu determinace (R^2). U Co byla potvrzena velmi dobrá linearita (R^2 = 0,9992), zatímco u Sb byla hodnota koeficientu determinace nižší (R^2 = 0,8709), což se promítlo i ve variabilitě signálu tohoto prvku. Koncentrace ve vzorcích byly vypočítány na základě regresní rovnice kalibrační přímky.



Obrázek 18: Kalibrační křivka pro stanovení Co metodou externí kalibrace

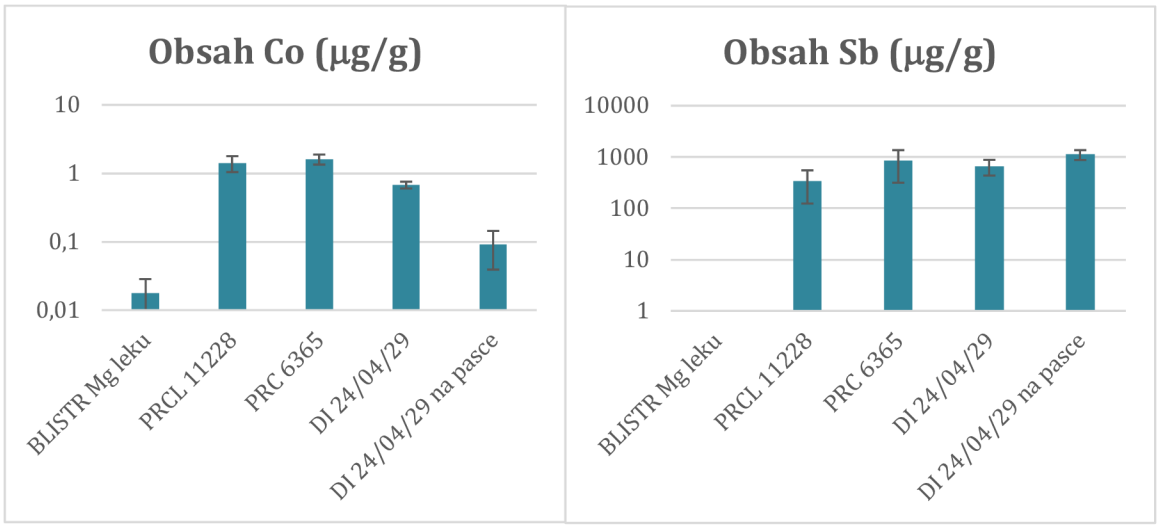
Vyšší hodnota posunu kalibrační křivky byla zaznamenána u Sb, která souvisí se zvýšeným signálem blanku. Tento jev byl zohledněn při výpočtu koncentrací. Ve srovnání s Co byla u Sb zároveň pozorována nižší linearita kalibrační křivky, což může být způsobeno vlivem matrice polymerního materiálu a nerovnoměrnou distribucí prvku v polymerní vrstvě.



Obrázek 19: Kalibrační křivka pro stanovení Sb metodou externí kalibrace

3.2.1 Obsah kobaltu a antimonu ve vzorcích

Na základě regresních rovnic kalibračních přímek byl stanoven obsah Co a Sb ve třech vzorcích recyklovaného polyethyltereftalátu (rPET) a blistru léčivého přípravku Magnesii lactici z polyvinylchloridu (PVC). Vzorky rPET byly rozpuštěny v TFA a naneseny na podložní sklíčko, přičemž vzorek DI 24/02/29 byl analyzován i ve formě mikroplastů připevněných na oboustranné lepící pásce. Stejně tak byl na podložní sklíčko připevněn vzorek blistru. Koncentrace byly vypočítány z pěti bodů měření. Výsledné koncentrace jsou uvedeny v tabulce 19 a graficky znázorněny na obrázku 20. Na obr. 20 jsou hodnoty na ose y zobrazeny v logaritmickém měřítku.



Obrázek 20: Grafické znázornění obsahu Co a Sb ve vzorcích

Tabulka 19: Obsah Co a Sb ve vzorcích stanovený metodou externí kalibrace

Vzorek	Parametr	Co	Sb
Blistr léčiva	Obsah (µg/g)	0,018	0
	SD (µg/g)	0,011	0,15
	RSD (%)	61	0
PRCL 11228	Obsah (µg/g)	1,4	337
	SD (µg/g)	0,37	213
	RSD (%)	25	63
PRC 6365	Obsah (µg/g)	1,6	837
	SD (µg/g)	0,27	522
	RSD (%)	17	62
DI 24/04/29	Obsah (µg/g)	0,68	658
	SD (µg/g)	0,077	223
	RSD (%)	11	34
DI 24/04/29 na pásce	Obsah (µg/g)	0,092	1116
	SD (µg/g)	0,052	242
	RSD (%)	57	22

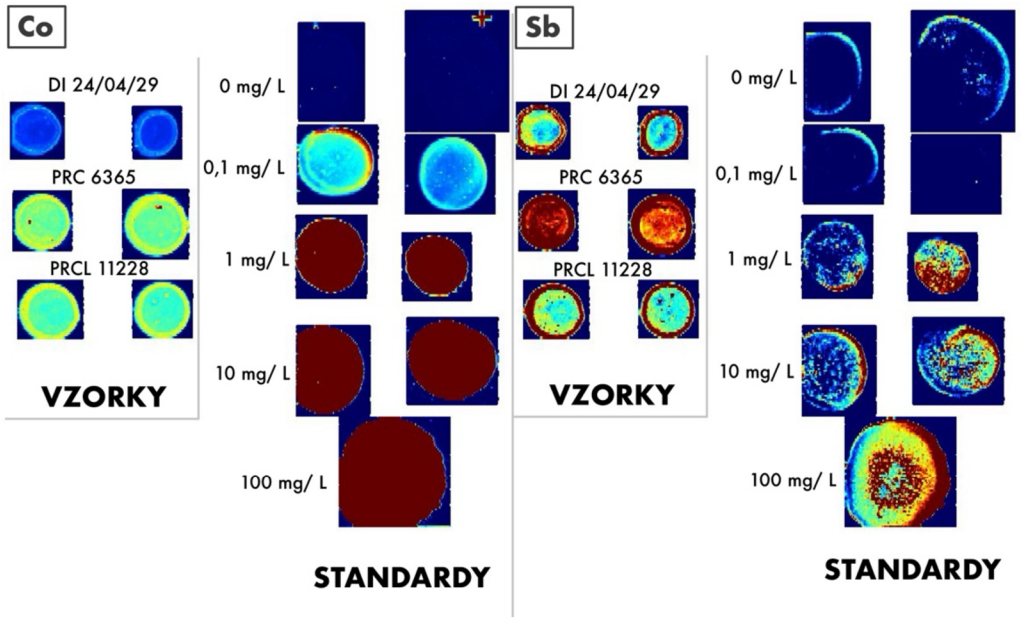
Z výsledků vyplývá, že obsah Co byl ve všech analyzovaných vzorcích relativně nízký. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny u vzorků rPETu - PRCL No. 11228 (1,4108 µg/g) a PRC No. 6365 (1,6084 µg/g). U vzorku DI 24/04/29, který představoval vyčištěné a mechanicky upravené PET lahve, byly naměřené hodnoty nižší (0,6763 µg/g) a při analýze téhož vzorku ve formě mikroplastů na lepící pásce byla hodnota ještě nižší (0,0915 µg/g). Nejnižší obsah Co byl stanoven u blistru léčiva (0,0177 µg/g).

V případě Sb byly mezi jednotlivými vzorky výraznější rozdíly. Nejvyšší koncentrace byla naměřena u vzorku DI 24/04/29 (1115,60 µg/g). Následoval vzorek PRC No. 6365 (836,78 µg/g) a DI 24/04/29 připravený klasickým způsobem (657,50 µg/g). Nejnižší koncentrace byla stanovena u vzorku PRCL No. 11228 (336,92 µg/g). U blistru léčivého přípravku nebyl Sb detekován.

Z porovnání obou způsobů příprav vzorku DI 24/04/39 je patrné, že mechanické připevnění mikroplastů vedlo k vyšším naměřeným koncentracím Sb, což může souviset s nerovnoměrnou distribucí prvku v materiálu nebo vlivem způsobu přípravy vzorku.

Pomocí metody LA-ICP-MS byly získány také snímky všech vzorků připravených metodou externí kalibrace s informací o distribuci zájmových prvků v těchto vzorcích na podložním sklíčku (obr. 21). 2D zobrazení kapek ukázalo nerovnoměrné rozložení polymeru v rámci jednotlivých kapek. V průběhu odpařovaní docházelo k přesunu materiálu k okraji kapky, kde se tak vytvořila silnější vrstva polymeru ve tvaru kávového prstence (coffee stain effect). Tento efekt je všudypřítomný spontánní jev, při kterém

kapilární tok transportuje všechny rozpuštěné částice ze středu ke kraji, což vede ke kruhovému usazení materiálu po zaschnutí kapky. [44] Nerovnoměrná tloušťka polymerní vrstvy tak může ovlivnit intenzitu signálu v závislosti na místě ablace.



Obrázek 21: Snímky všech kapek – Co, Sb

3.3 Výsledky metody přídavku standardu

Z důvodu rozdílného složení polymerních materiálů byla zavedena metoda přídavku standardu s cílem omezit vliv matrice na výsledné hodnoty. Vzorek PVC blistru u vyšších koncentrací (100 a 167 mg/L) nevykazoval dostatečnou homogenitu. Z toho důvodu byly pro hlavní vyhodnocení zahrnovány pouze koncentrace 0; 10; 25; 50 a 60 mg/L, kde byly roztoky homogenní. Každý vzorek byl měřen ve dvou kapkách, přičemž v každé kapce byly analyzovány dvě linie. Uvedené výsledky tedy představují průměr čtyř měření.

Pro jednotlivé body měření byla vyhodnocena lineární závislost mezi přidanou koncentrací standardu a intenzitou signálu. Z této závislosti byla následně vypočtena směrnice a úsek přímky, ze kterých byl vypočítán obsah prvku v každém bodě ablace. Z průměru všech čtyř bodů každého vzorku byla stanovena směrodatná odchylka (SD) a relativní směrodatná odchylka (RSD).

3.3.1 PET vzorky

V analyzovaných PET vzorcích byly detekovány všechny prvky, přičemž nejvyšší koncentrace byly u Sb, který je běžně používán jako katalyzátor při výrobě PETu.

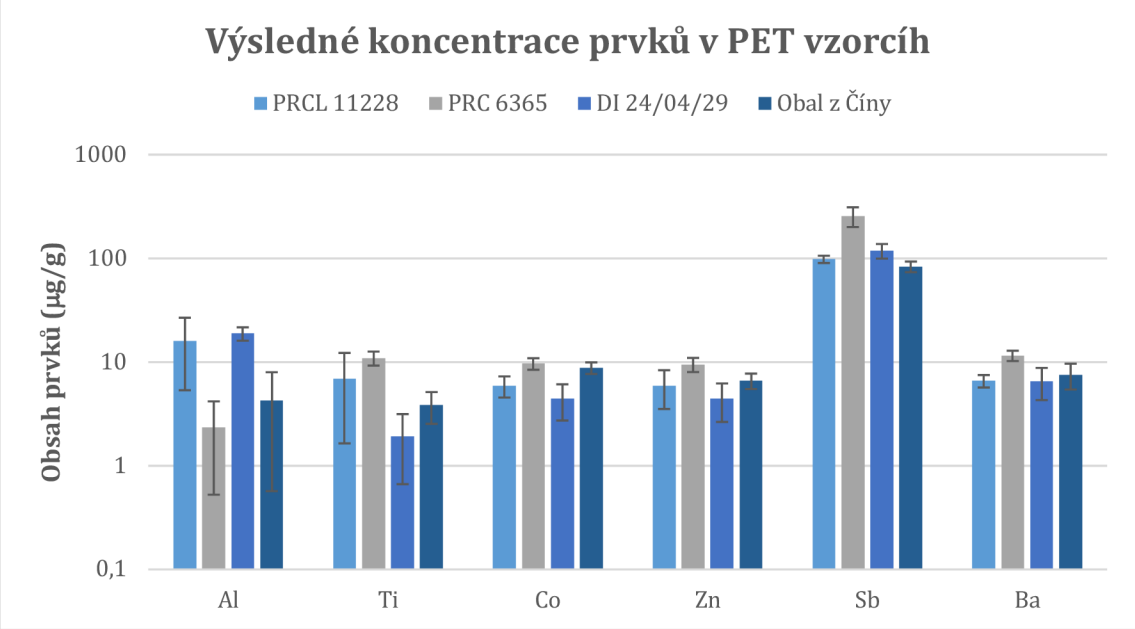
Nejvyšší obsah Sb byl zjištěn u vzorku rPETu PRC No. 6365 (256 mg/g), u ostatních vzorků se pohyboval v rozmezí 83–118 mg/g. Koncentrace ostatních analyzovaných prvků (Al, Ti, Co, Zn, Ba) byly výrazně nižší a pohybovaly se v jednotkách mg/g.

Relativní směrodatné odchylky (RSD) se pohybovaly v širokém rozmezí, což může značit vysokou heterogenitu polymerních materiálů.

Koncentrace jednotlivých prvků ve vzorcích jsou uvedeny v tabulce č. 20 a graficky porovnány na obrázku č. 22, přičemž osa y je v grafu zobrazena v logaritmickém měřítku z důvodu výrazných koncentrací jednotlivých prvků.

Tabulka 20: Výsledné koncentrace prvků u PET vzorků získaných metodou přídavku STD

PET vzorky	Parametr	Al	Ti	Co	Zn	Sb	Ba
PRCL 11228	Obsah (µg/g)	16	6,9	5,9	5,9	98,1	6,6
	SD (µg/g)	11	5,3	1,4	2,4	7,9	0,90
	RSD (%)	67	76	23	42	8	14
PRC 6365	Obsah (µg/g)	2,3	10,9	9,7	9,5	256	11,5
	SD (µg/g)	1,8	1,7	1,2	1,5	55	1,3
	RSD (%)	78	15	13	16	22	11
DI 24/04/29	Obsah (µg/g)	18,8	1,9	4.4	4,4	118	6,5
	SD (µg/g)	2,8	1,2	1,7	1,8	18,9	2,2
	RSD (%)	15	65	38	40	16	34
Doplněk stravy z Číny	Obsah (µg/g)	4,3	3,8	8,8	6,6	83,3	7,5
	SD (µg/g)	3,7	1,3	1,1	1,1	9,8	2,1
	RSD (%)	87	34	13	17	12	28



Obrázek 22: Grafické zobrazení výsledných koncentrací prvků v PET vzorcích

3.3.2 PVC vzorek

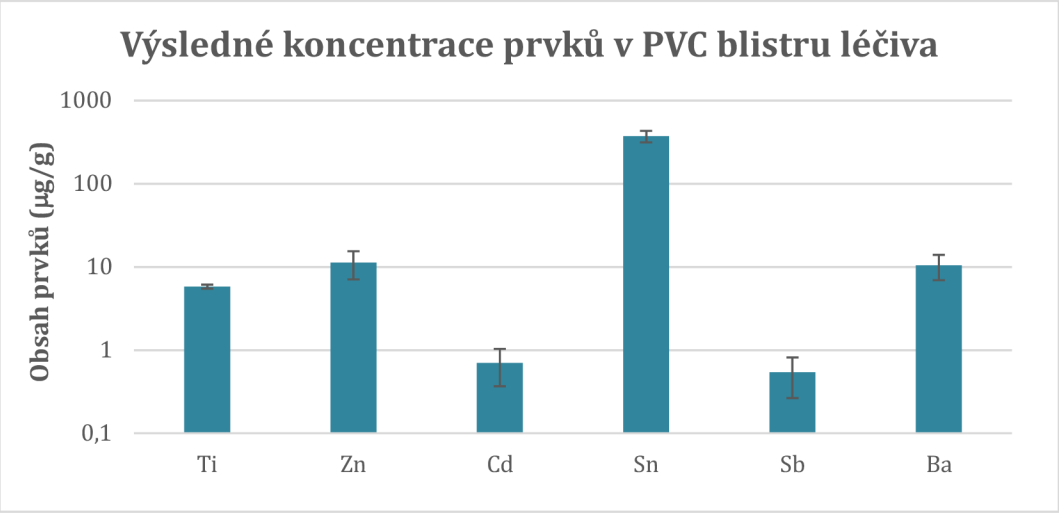
U PVC blistru léčivého přípravku Magnesii lactici byla nejvyšší koncentrace naměřena u cínu (373 mg/g), naopak nejnižší koncentrace byly zjištěny u Sb (0,54 mg/g) a u Cd (0,7 mg/g). Ostatní prvky se vyskytovaly v nižších koncentracích, a to v řádech jednotek až desítek mg/g.

Vyšší hodnoty relativních směrodatných odchylek (RSD) mohou souviset s nerovnoměrným rozložením polymeru v zaschlé kapce, které vzniká v důsledku efektu kávového prstence.

Souhrn výsledků analýzy PVC blistru je znázorněn v tabulce č. 21 a grafické znázornění koncentrací je uvedeno na obrázku č. 23. Osa y je v grafu zobrazena v logaritmickém měřítku z důvodu výrazných koncentrací jednotlivých prvků.

Tabulka 21: Výsledky metody přídavku STD u PVC vzorku

PVC vzorek	Parametr	Zn	Ti	Cd	Sn	Sb	Ba
Blistr Magnesii lactici	Obsah (mg/g)	11	5,8	0,70	373	0,54	10
	SD (mg/g)	4,2	0,32	0,33	59	0,28	3,5
	RSD (%)	37	6	48	16	51	34



Obrázek 23: Grafické zobrazení výsledků metody přídavku STD u PVC vzorku

Jak již bylo zmíněno, u PVC blistru byly do souhrnných výsledků zahrnuty pouze kalibrační roztoky o koncentracích do 60 mg/L, u kterých bylo dosaženo úplného rozpuštění polymeru. Při vyšších koncentracích (100 a 167 mg/L) docházelo k neúplnému rozpuštění, což se následně projevilo zvýšenou variabilitou naměřených hodnot. Jak je patrné z tabulky č. 22, zahrnutí celého koncentračního rozsahu (0–167 mg/L) vedlo k výrazně širšímu rozpětí stanovených koncentrací prvků (µg/g). Například u Ti se stanovené hodnoty pohybovaly v rozmezí 3,9–32,5 µg/g. Po omezení na oblast 0-60 mg/L se rozptyl výrazně snížil (5,6–6,4 µg/g), což potvrzuje vliv nehomogenity při vyšších

koncentracích. Z toho důvodu nebyly vyšší koncentrace zahrnuty do vyhodnocení výsledků, které je uvedeno v tabulce č. 21.

Tabulka 22: Porovnání rozsahu koncentrací prvků u PVC vzorku

Prvek	0-167 mg/L		0-60 mg/L	
	MIN (µg/g)	MAX(µg/g)	MIN (µg/g)	MAX(µg/g)
Ti	3,9	32,5	5,6	6,4
Zn	8,6	34,6	4,2	16,5
Cd	2,0	23,5	0,2	1,1
Sn	209,3	1040,7	265,6	447,3
Sb	4,82	23,4	0,21	0,92
Ba	5,0	19,52	6,2	16,8

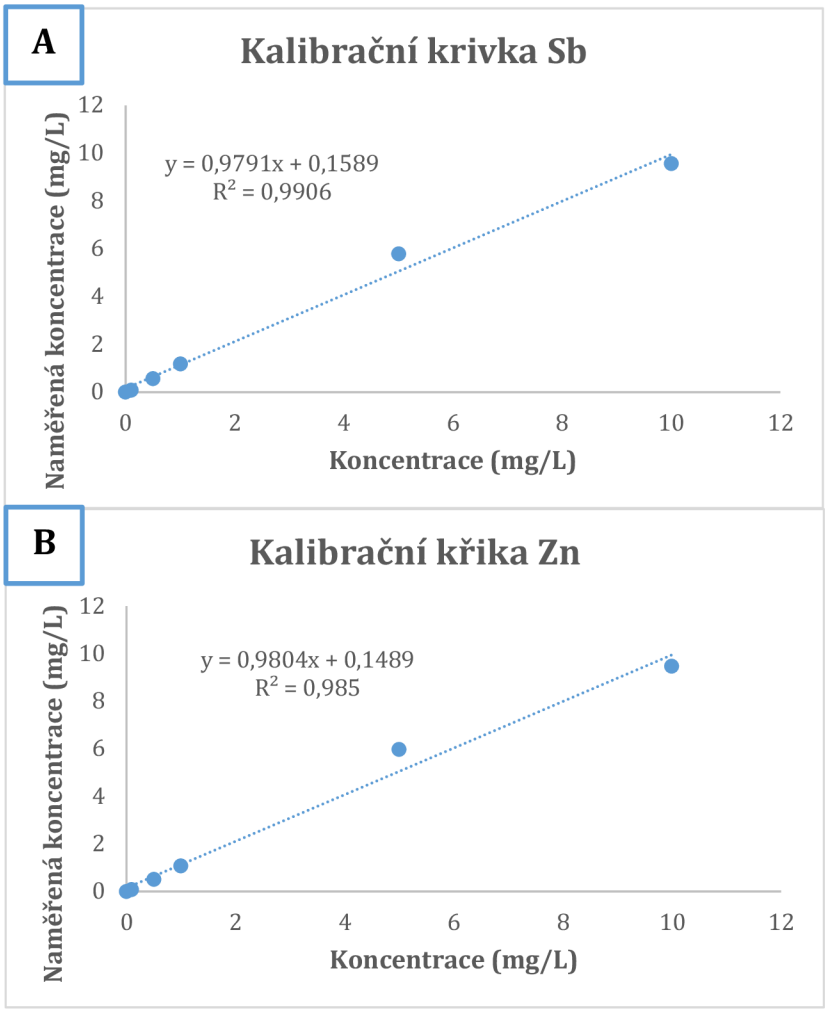
3.3.3 Možnosti zlepšení metody

Nerovnoměrné rozložení polymeru na podložním skle, které vzniká v důsledku efektu kávového prstence mohl přispět k vyšším hodnotám RSD. Tento jev by bylo možné částečně omezit použitím podložního skla s hydrofobně ohraničenými mikrojamkami, které by zabránily rozlévání kapky. V této práci byly sice všechny vzorky pipetovány na podložní sklo o stejném objemu, avšak jednotlivé koncentrace se na povrchu skla rozlévaly nepatrně odlišně, což mohlo přispět ke zmíněné variabilitě výsledků. Použití takto upravených skel by mohlo vést k lepší reprodukovatelnosti metody, přesto by byl určitý vliv efektu kávového prstence pravděpodobně zachován.

Z časových důvodů byla ablace prováděna podél dvou linií v každé analyzované kapce, což umožnilo získat reprezentativnější informace o rozložení prvku v polymerní vrstvě. Reprodukovatelnost měření by v budoucnu mohla být dále zlepšena provedením většího počtu ablačních linií. S využitím modernějšího laserového systému by tak bylo možné dosáhnou komplexnější a přesnější kvantifikace analyzovaných prvků.

3.4 Analýza extraktů metodou ICP-MS

Ke kvantifikaci analyzovaných prvků byla připravena kalibrační řada šesti standardních roztoků (0; 0,1; 0,5; 1; 5 a 10) připravených postupným ředěním směsného standardu obsahujícího vybrané prvky (Al, Ti, Co, Zn, Cd, Sn, Sb a Ba). Součástí řady byl i blank. Všechny kalibrační roztoky byly připraveny v kyselém prostředí, aby byl minimalizován vliv matrice (tzv. matrix-matched standardy). Kalibrační závislosti v použitém koncentračním rozsahu vykazovaly velmi dobou linearitu. Jako reprezentativní příklady jsou uvedeny kalibrační křivky Sb (obr. 24A), který byl ve vzorcích zastoupen ve vyšších koncentracích, a Zn (obr. 24B), jenž se ve vzorcích vyskytoval spíše ve stopových množstvích.



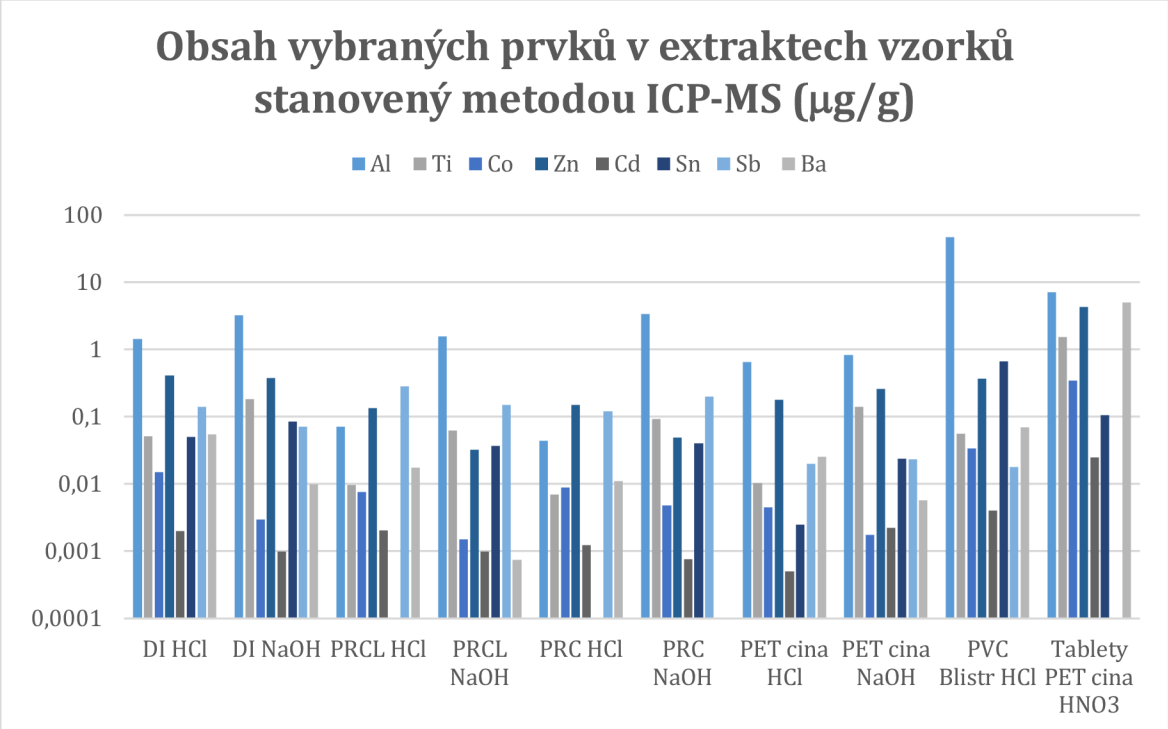
Obrázek 24: Kalibrační křivky pro stanovení Sb a Zn v extraktech vzorků

Koncentrace jednotlivých prvků v analyzovaných vzorcích byly stanoveny pomocí softwaru Masshunter, který automaticky vypočítává koncentrace prvků v roztocích na základě regresních rovnic kalibrační řady STD roztoků a poskytuje tak hodnoty v jednotkách mg/L. Hodnoty byly následně přepočteny s ohledem na navážku vzorku a objem extrakčního média na jednotky µg/g. Takto získané koncentrace jsou uvedeny v tabulce č. 23. Původní hodnoty v jednotkách mg/L jsou uvedeny v příloze B a byly dále použity při porovnání s limity uvedenými v Evropském lékopisu.
Grafické znázornění výsledků je uvedeno na obr. 25, přičemž osa y je z důvodu výrazných rozdílů mezi koncentracemi jednotlivých prvků zobrazena v logaritmickém měřítku.

Tabulka 23: Koncentrace extrahovatelných kovů ve vzorcích stanovené metodou ICP-MS (µg/g)

Vzorek	Médium	Al	Ti	Co	Zn	Cd	Sn	Sb	Ba
DI	HCl	1,4	0,051	0,015	0,41	0,002	0,05	0,14	0,054
DI	NaOH	3,2	0,18	0,003	0,38	0,00099	0,085	0,07	0,001
PRCL	HCl	0,07	0,0096	0,0076	0,13	0,002	0	0,29	0,018
PRCL	NaOH	1,6	0,063	0,0015	0,032	0,00099	0,037	0,15	0,00074
PRC	HCl	0,043	0,0069	0,0089	0,15	0,0012	0	0,12	0,011
PRC	NaOH	3,4	0,093	0,0048	0,049	0,00076	0,04	0,2	0
Čína	HCl	0,65	0,01	0,0045	0,18	0,0005	0,0025	0,02	0,025
Čína	NaOH	0,82	0,14	0,0017	0,26	0,0022	0,024	0,023	0,0057
PVC	HCL	47	0,056	0,034	0,37	0,004	0,67	0,018	0,07
Tab.	HNO_3	7,1	1,5	0,34	4,3	0,025	0,1	0	5

Pozn. DI – materiál DI 24/04/29; PRCL – rPET PRCL 11228; PRC – rPET 6365; Čína – PET obal doplňku stravy z Číny; PVC – PVC blistr léčivého přípravku Magnesii lactici; Tab. – tablety doplňku stravy z Číny. HCl – extrakce v 0,1 M kyselině chlorovodíkové; NaOH – extrakce v 0,01 M hydroxidu sodném; HNO_3 – extrakce v kyselině dusičné



Obrázek 25: Obsah prvků v extraktech analyzovaných vzorků (ICP-MS)

Pro přípravu extraktů polymerních materiálu bylo postupováno podle příslušných monografií Evropského lékopisu. Pro většinu sledovaných prvků u PET vzorků (Al, Ba, Co, Ti a Zn) bylo použito alkalické prostředí (0,1 M HCl), zatímco pro stanovení Sb bylo dle doporučení lékopisu využito alkalické prostředí (0,01 M NaOH). Podrobnější popis přípravy jednotlivých extraktů je uveden v kapitole 3.6 experimentální části práce. U vzorku PVC blistru léčivého přípravku Magnesii lactici byl použit modifikovaný postup vycházející z příslušné monografie Evropského lékopisu, ve které je hodnocen celkový obsah extrahovatelných těžkých kovů. U vzorku tablet doplňku stravy z Číny byl extrakt připraven samostatným způsobem, jelikož pro tento typ materiálu není standardní lékopisná zkouška určena.

V některých případech však byly zjištěny vyšší koncentrace Sb ve vzorcích extrahovaných v kyselém prostředí HCl. Tento jev může souviset s použitím jedné okyselené kalibrační řady standardů přizpůsobených matrici (matrix-matched). Rozdílné složení matrice mezi kalibračními roztoky a alkalickými extrakty tak mohlo vést k částečným matricovým efektům ovlivňujícím odezvu signálu.

U PET vzorků byly koncentrace většiny sledovaných prvků relativně nízké a pohybovaly se v řádech setin až desetin μg/g. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny zejména u Zn a Sb, které se při výrobě PETu používají jako aditiva.

Výrazně vyšší koncentrace Al byla zjištěna u vzorku PVC blistru léčiva (47 μg/g). Tento výsledek lze vysvětlit typem obalového materiálu, který je tvořen PVC kombinovaným s hliníkovou fólií. Ačkoli byla pro analýzu použita pouze část blistru přicházející do přímého kontaktu s léčivem, tedy bez hliníkové fólie, analyzovaný materiál mohl být kontaminován při mechanickém zpracování vzorku.

Nejvyšší koncentrace sledovaných prvků byly obecně zjištěny u vzorku tablet doplňku stravy z Číny, kde byly detekovány především vyšší obsahy Al, Ti, Zn a Ba. Tyto prvky mohou pravděpodobně souviset přítomností anorganických sloučenin používaných při výrobě tablet, například barviv, plniv nebo technologických pomocných látek.

3.5 Porovnání výsledků a hodnocení kvality a bezpečnosti analyzovaných materiálů

V této části práce jsou vzájemně porovnány výsledky jednotlivých analytických metod a současně je hodnocena stabilita analyzovaných polymerních materiálů z hlediska uvolňování sledovaných prvků. Srovnány jsou zejména výsledky přímé analýzy polymerů metodou LA-ICP-MS s výsledky získanými analýzou jejich extraktů pomocí metody ICP-MS. Na základě těchto porovnání je možné posoudit, do jaké míry jsou jednotlivé materiály zdrojem sledovaných prvků a jaké množství těchto prvků se z nich může reálně uvolňovat. Druhá polovina kapitoly je věnována zhodnocení výsledků ve vztahu k platným legislativním limitům.

3.5.1 Porovnání metod LA-ICP-MS

Obsah prvků v polymerních vzorcích byl zjištěn pomocí metody LA-ICP-MS za použití jak externí kalibrace, tak metody přídavku standardu. Srovnání obou přístupů bylo provedeno u vzorků rPET – PRCL No. 11228, PRC No. 6365 a DI 24/04/29, které byly analyzovány oběma přístupy, a umožňuje zhodnotit vliv polymerní matrice na získané výsledky. Porovnání výsledků je uvedeno v tabulce 24.

Tabulka 24 Porovnání výsledků metod LA-ICP-MS (μg/g)

Vzorek	Co (externí)	Co (přídavek STD)	Sb (externí)	Sb (přídavek STD)
PRCL 11228	1,4	5,9	337	98
PRC 6365	1,6	9,7	837	256
DI 24/04/29	0,68	4,4	658	118

Mezi jednotlivými metodami existují významné rozdíly, které jsou výraznější u Sb než u Co. Naměřené hodnoty u Sb byly výrazně vyšší při použití metody externí kalibrace než hodnoty získané metodou přídavku standardu. Například u vzorku PRC No. 6365 činila koncentrace Sb stanovená metodou externí kalibrace 837 μg/g, zatímco při použití metody přídavku standardu byla zjištěna hodnota pouze 256 μg/g. Podobný rozdíl byl pozorován i u ostatních vzorků.

U Co byla však situace opačná. Metoda přídavku standardu vedla k vyšším hodnotám než externí kalibrace. Ve vzorku DI 24/04/29 byla koncentrace Co stanovená metodou externí kalibrace 0,68 μg/g, zatímco metodou přídavku standardu byla naměřena hodnota 4,4 μg/g.

Tyto rozdíly mezi metodami lze přičíst vlivu polymerní matrice na analytický signál. K rozdílům mezi stanovenými koncentracemi mohl také přispět odlišný způsob ablace. Při externí kalibraci byla použita bodová ablace a u metody přídavku STD byly ablatovány linie podél kapek. Liniová ablace je v tomto případě vhodnější, jelikož umožňuje lépe zachytit nerovnoměrné rozložení analytu, které vzniká v důsledku efektu kávového prstence. Významnou roli může hrát také kvalita kalibrační závislosti použité při externí kalibraci. V tomto případě byla hodnota koeficientu determinace kalibrační křivky Sb nižší (R^2 = 0,8709), což značí horší linearitu a může vést k nepřesnostem ve stanovení koncentrací. Jak již bylo zmíněno, k horší linearitě kalibrační křivky může přispět i nerovnoměrné rozložení analyzovaných prvků ve vzorku, které vzniká v důsledku efektu kávového prstence.

Metodou přídavku standardu lze matricové efekty částečně eliminovat, zatímco externí kalibrace na ně může být citlivější. V případě Sb tak pravděpodobně dochází k nadhodnocení koncentrací při použití externí kalibrace, zatímco u Co může docházet k jejich podhodnocení. Z toho důvodu se metoda přídavku standardu jeví jako

vhodnější pro stanovení prvků v polymerech metodou LA-ICP-MS, jelikož lépe kompenzuje vliv matricových efektů a poskytuje tak realističtější a přesnější výsledky.

3.5.2 Porovnání obsahu prvků v materiálech a extraktech

Celkový obsah vybraných prvků v polymerních materiálech stanovených pomocí metody LA-ICP-MS (metodou přídavku standardu) byl porovnán s množstvím prvků uvolněných do extrakčních médií, stanoveným metodou ICP-MS. Toto porovnání umožňuje posoudit míru migrace jednotlivých prvků z materiálu a tím i jeho potenciální bezpečnost. K porovnání byly vybrány prvky Sb a Zn, které byly analyzovány u všech vzorků, což umožňuje jejich přímé srovnání. Ostatní prvky, které nebyly analyzovány ve všech vzorcích jsou porovnány v příloze B. Sb byl zvolen z důvodu častého využití v polymerních materiálech a potenciálnímu toxikologickému riziku. Zn byl vybrán nejen z důvodu dostupnosti dat pro všechny vzorky, ale také z důvodu vyšších podílů jeho uvolňování. Pro stanovení Sb byly použity hodnoty získané z alkalického extraktu (0,01 M NaOH) v souladu s doporučením Evropského lékopisu, zatímco pro ostatní prvky byly využity hodnoty z kyselého extraktu (0,1 M HCl). Přehled podílů uvolnění prvků v procentech je zaznamenán v následující tabulce č. 25.

Tabulka 25 Porovnání obsahu prvků v polymerech a jejich extraktech

Vzorek	Sb – mat. (µg/g)	Sb – ex. (µg/g)	Sb (%)	Zn – mat. (µg/g)	Zn – ex. (µg/g)	Zn (%)
PRCL	98	0,15	0,15	5,9	0,13	2,2
PRC	256	0,2	0,078	9,5	0,15	1,6
DI	118	0,07	0,059	4,4	0,41	9,3
PVC	0,54	0,018	3,3	11	0,37	3,4

Pozn. DI – materiál DI 24/04/29; PRCL – rPET PRCL 11228; PRC – rPET 6365; Čína – PET obal doplňku stravy z Číny; PVC – PVC blistr léčivého přípravku Magnesii lactici; mat. – obsah prvku v materiálu; ex. – obsah prvku ve výluhu materiálu

Porovnáním celkového obsahu prvků v materiálech a jejich koncentrací ve výluzích bylo zjištěno, že u většiny analyzovaných prvků dochází k uvolňování pouze malého množství přítomných prvků, což potvrzuje relativně dobrou stabilitu použitých materiálů. V případě Sb byl u PET vzorků pozorován velmi nízký podíl uvolnění, který se pohyboval v řádu setin procenta. To naznačuje, že je Sb v polymerní matrici pevně vázán a jeho migrace do okolního prostředí je omezená.

Naopak u Zn byly zaznamenány vyšší podíly uvolnění, které dosahovaly jednotek procent, přičemž nejvyšší hodnota byla zjištěna u vzorku DI 24/04/29. Tento rozdíl značí vyšší mobilitu Zn v polymerní matrici ve srovnání s Sb. Vyšší podíly uvolnění byly

zaznamenány také u Al, který ale nebyl analyzován ve všech vzorcích, a jeho srovnání je proto uvedeno pouze v příloze B.

U PVC vzorku blistru léčivého přípravku Magnesii lactici byl pozorován vyšší podíl uvolnění Sb ve srovnání s PET materiály, což může souviset s odlišným složením polymeru a přítomností aditiv.

Specifickým případem byl vzorek doplňku stravy z Číny, u kterého bylo možné porovnat obsah prvků nejen v polymerním obalu, ale také ve výluhu samotné tablety. Pro porovnání byly zvoleny stejné prvky jako v předchozím případě (Sb a Zn) a dále Al, u kterého byl zaznamenán nejvyšší podíl uvolnění. Porovnání migrace vybraných prvků z obalu a samotné tablety je uvedeno v tabulce č. 26.

Tabulka 26: Porovnání obsahu prvků v obalu doplňku stravy z Číny, jeho extraktu a v tabletě

Vzorek	**Sb** – obal (μg/g)	**Sb** – výluh (μg/g)	**Sb (%)**	**Sb** – tableta (μg/g)
Doplněk stravy z Číny v PET obalu	83,3	0,023	0,028	0
	Zn – obal (μg/g)	**Zn** – výluh (μg/g)	**Zn (%)**	**Zn** – tableta (μg/g)
	6,6	0,18	2,7	4,3
	Al – obal (μg/g)	**Al** – výluh (μg/g)	**Al (%)**	**Al** – tableta (μg/g)
	4,3	0,65	15	7,06

Pozn.: obal – přímá analýza polymerního materiálu metodou LA-ICP-MS; výluh – extrakt polymerního materiálu analyzovaný metodou ICP-MS; tableta – extrakt tablety analyzovaný metodou ICP-MS

Z porovnání vyplývá, že podíl uvolnění Sb z polymerního obalu doplňku stravy byl velmi nízký (0,028 %), což potvrzuje jeho omezenou mobilitu v materiálu. Naopak u Zn byl pozorován vyšší podíl uvolnění (2,7 %), dosahující až jednotek procent, což naznačuje jeho vyšší schopnost migrace.

Ze všech sledovaných prvků byl nejvyšší podíl uvolnění zaznamenán u Al (15 %). Jeho koncentrace byla ve výluhu tablety výrazně vyšší, než ve výluhu obalu a lze tedy konstatovat, že hlavním zdrojem Al je pravděpodobně samotná tableta. Zn i Al mohou být součástí pomocných látek používaných v tabletách, např. ve formě oxidů nebo jiných anorganických sloučenin se používají jako plniva.

Současně bylo zjištěno, že koncentrace zinku ve výluhu samotné tablety byla výrazně vyšší než ve výluhu PET obalu, což naznačuje, že hlavním zdrojem tohoto prvku je pravděpodobně samotný obsah doplňku stravy, nikoliv obalový materiál. U Sb nebyla ve výluhu tablety detekována významná koncentrace.

3.5.3 Porovnání s legislativními limity

Naměřené koncentrace sledovaných prvků ve výluzích byly posouzeny ve vztahu k dostupným legislativním požadavkům. Hodnocení vychází z limitů uvedených

v Evropském lékopisu (Ph. Eur.), dále ze specifických migračních limitů (SML) dle evropské legislativy (Nařízení Evropské unie (EU) 10/2011) a z hodnot přípustné denní expozice (PDE) dle ICH Q3D, které jsou podrobněji rozepsány v kapitole 2.6. Cílem tohoto porovnání je zhodnotit, zda analyzované materiály představují z hlediska uvolňování kovů potenciální riziko.

Pro PET materiály stanovuje Evropský lékopis limit pro extrahovatelné prvky ve výši 1 mg/L extraktu. Tento limit se vztahuje jak na prvky stanovené v kyselém prostředí (Al, Ba, Co, Zn, Ti), tak i na Sb stanovený v alkalickém prostředí. Naměřené koncentrace všech prvků se pohybovaly výrazně pod touto hodnotou, často i o několik řádu nižší, a lze tedy konstatovat, že vyhovují požadavkům lékopisu. [36]

V případě PVC materiálu jsou limity definovány odlišně – celkový obsah extrahovatelných těžkých kovů nesmí překročit 20 mg/L extraktu a pro Zn je stanoven limit ve výši 100 mg/L extraktu. I v tomto případě byly naměřené hodnoty jednotlivých prvků mnohonásobně nižší než limitní koncentrace, a proto lze předpokládat, že analyzovaný vzorek vyhovuje požadavkům lékopisu. [36]

Porovnání výsledků jednotlivých vzorků s limity uvedenými v příslušných monografiích Evropského lékopisu je shrnuto v tabulce č. 27.

Tabulka 27: Porovnání výsledků s limity Evropského lékopisu [36]

PET vzorky (monografie 3.1.15, Ph. Eur.) – limit ≤ 1 mg/L						
Vzorek	**Sb**	**Al**	**Ba**	**Co**	**Zn**	**Ti**
PRCL 11228	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PRC 6365	✓	✓	✓	✓	✓	✓
DI 24/04/29	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PET Čína	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PVC vzorek (monografie 3.1.11, Ph. Eur.)						
Vzorek	**Těžké kovy (≤ 20 mg/L)**			**Zn (≤ 100 mg/L)**		
PVC blistr	✓			✓		

Pro účely porovnání s limitními hodnotami Evropského lékopisu byly použity koncentrace stanovené v extraktech vyjádřené v jednotkách mg/L, které odpovídají legislativním požadavkům. V ostatních částech práce jsou výsledky uváděny v jednotkách μg/g materiálu, přepočtených s ohledem na navážku vzorku, což umožňuje porovnání celkového obsahu prvků v jednotlivých vzorcích.

Dále byly získané výsledky posouzeny ve vztahu ke specifickým migračním limitům (SML) stanoveným evropskou legislativou (Nařízení Evropské unie (EU) č. 10/2011). Specifické migrační limity, které jsou primárně definovány pro materiály určené pro styk s potravinami, jsou zde zařazeny vzhledem k charakteru analyzovaných vzorků. Doplněk stravy je z legislativního hlediska považován za potravinu a

současně analyzované rPET materiály (PRCL No. 11228 a PRC No. 6365) jsou využívány v obalových systémech potravin. Z tohoto důvodu lze tyto limity využít jako orientační kritérium pro posouzení migračního potenciálu sledovaných prvků. [34]

U všech analyzovaných vzorků jsou zjištěné koncentrace velmi nízké, což naznačuje nízký migrační potenciál analyzovaných prvků z polymerních materiálů (kompletní přehled pro všechny sledované prvky je uveden v příloze B). Výjimkou je pouze Sb u vzorků rPET (PRCL 11228 a PRC 6365), kde byly zjištěné koncentrace vyšší než příslušný SML (0,04 mg/kg potravin). Zvýšené hodnoty byly dále pozorovány u Al, a to u vzorku DI 24/04/29 a u PVC blistru léčivého přípravku Magesii lactici. V případě blistru lze vysoké hodnoty souviset se znečištěním pocházejícím z typu obalového m ateriálu , konkrétně PVC/Al (PVC potažený hliníkovou fólií), a proto tyto výsledky nelze jednoznačně interpretovat bez důkladnější úpravy vzorku. Přehled výsledků porovnání se SML je uveden v tabulce 28.

Tabulka 28: Porovnání výsledků se specifickými migračními limity [34]

Vzorek	Sb (mg/kg)	SML Sb (mg/kg)	Al (mg/kg)	SML Al (mg/kg)
PRCL 11228	0,15	0,04	0,07	5
PRC 6365	0,2	0,04	0,043	5
DI	0,07	0,04	1,4	5
PET Čína	0,023	0,04	0,65	5
PVC blistr	0,018	0,04	47	5

Porovnání s hodnotami SML je pouze orientační, přestože jsou koncentrace ve vzorcích vyjádřeny ve stejných jednotkách mg/kg, které jsou ekvivalentní k jednotkám μg/g uvedeným v souhrnných výsledcích analýzy extraktů (kapitola 4.4). Přímé srovnání však nezohledňuje reálné podmínky migrace (např. typ potraviny, kontaktní plochu či dobu expozice) a proto je toto porovnání pouze orientační.

Posouzení z hlediska přípustné denní expozice (PDE) dle doporučení ICH Q3D není zatím zcela možné. Hodnoty PDE jsou definovány na základě celkové denní expozice pacienta, zatímco v této práci byly stanoveny koncentrace prvků přímo v materiálech a jejich výluzích. Relevantní porovnání s hodnotami PDE by bylo možné po provedení doplňujících stresových studií, které by simulovaly reálnou zátěž během používání (expozice UV záření, teplotní výkyvy atd.). V takovém případě by bylo možné porovnat obsah prvků v materiálu před a po zátěži a porovnat množství uvolněných látek vzhledem k hodnotám PDE. [37]

Na základě porovnání s požadavky Evropského lékopisu a se specifickými migračními limity lze konstatovat, že analyzované polymerní materiály vykazují nízký migrační potenciál hodnocených prvků. Uvolňované koncentrace ve výluzích byly ve všech případech velmi nízké a nepřekračovaly hodnoty stanovené limity. Z hlediska uvolňování těžkých kovů se tyto materiály jeví jako bezpečné.

5 Závěr

Cílem této práce bylo optimalizovat postup a stanovit obsah vybraných prvků v polymerních materiálech, včetně recyklovaného PETu, s využitím metody laserové ablace s indukčně vázaným plazmatem a hmotnostní spektrometrií (LA-ICP-MS). Součástí práce bylo také porovnání výsledků přímé analýzy materiálů s analýzou jejich výluhů, které byly analyzovány metodou ICP-MS. Výsledné hodnoty byly následně hodnoceny z hlediska legislativních požadavků.

V rámci experimentální části byla optimalizována příprava standardní řady kalibračních roztoků, což přispělo ke zpřesnění výsledků a zároveň umožní zefektivnění budoucích měření. Nejvhodnější metodou pro stanovení prvků v polymerních materiálech se ukázala metoda přídavku standardu, která lépe eliminuje vliv polymerní matrice ve srovnání s externí kalibrací. Výhodou této metody je její univerzálnost, jelikož nevyžaduje přípravu specifických standardů pro každý typ materiálu.

Výsledky ukázaly, že všechny materiály vykazují nízký migrační potenciál. Naměřené koncentrace byly výrazně nižší než limity stanovené Evropským lékopisem. U vzorků rPET byly podíly uvolňování prvků minimální, a to i přesto, že jejich celkový obsah, stanovený přímou analýzou materiálu, patřil k nejvyšším. To svědčí o vysoké stabilitě těchto materiálů. U Sb byly dokonce pozorovány nižší podíly uvolnění než u běžně používaného PVC blistru léčivého přípravku Manesii lactici.

Vzorky rPET nesplňovaly pouze specifické migrační limity (SML) Sb. Je však nutné zdůraznit, že toto hodnocení vychází z výpočtů na základě extrakčních podmínek, které neodpovídají reálným podmínkám styku s potravinami či léčivy. Z toho důvodu nelze jednoznačně vyvodit zdravotní riziko. Naopak při posuzování podle striktních požadavků Evropského lékopisu všechny analyzované vzorky vyhověly, což je stěžejní pro jejich potenciální využití ve farmaceutickém průmyslu.

Při komplexním hodnocení bezpečnosti obalových materiálů je nutné zohlednit obsah prvků přímo v samotné lékové formě. U některých prvků (Zn a Al) bylo zjištěno, že hlavním zdrojem je právě tableta, nikoli obalový materiál.

Na závěr lze konstatovat, že recyklované materiály od společnosti rPET InWaste s.r.o. představují perspektivní alternativu pro výrobu farmaceutických obalů. Pro jejich plnohodnotné zavedení do praxe je však nezbytné provést navazující studie zaměřené na dlouhodobou stabilitu a interakce mezi obalem a léčivem. Budoucí výzkum by se měl zaměřit na tzv. stresové studie, které simulují reálné podmínky použití (vliv zvýšené teploty, UV záření, vlhkosti a mechanického namáhání). Tyto studie by umožnily posoudit, zda vlivem vnějších podmínek nedochází ke změnám vlastností materiálu, ke zvýšenému uvolňování těžkých kovů nebo k degradaci spojenou s uvolňováním mikroplastových částic, které se mohou následně absorbovat na povrch léčiva. Ty se mohou následně absorbovat na povrch léčivého přípravku, což představuje dosud neprobádané riziko.

Současně je nutné zohlednit, že interakce mezi obalovým materiálem a léčivem mohou být obousměrné. Polymerní materiály mohou z léčiva absorbovat účinné látky na svůj povrch, nebo naopak mohou do léčiva uvolňovat toxické látky. V budoucím výzkumu by proto bylo vhodné analyzovat vzorek před a po zátěži, sledovat migraci prvků přímo do léčivých přípravku a porovnat různé typy obalů (např. blistry vs. šroubovací plastové nádoby). Ačkoli se rPET na základě získaných výsledků a porovnání jeví jako velmi slibný materiál, jeho bezpečné využití vyžaduje další detailní studium, zejména v kontextu dlouhodobé expozice a reálných podmínek použití.

Použité zdroje

[1] SCHADE, Alexander, Marcel MELZER, Sven ZIMMERMANN, Thomas SCHWARZ, Klaus STOEWE a Harald KUHN. Plastic Waste Recycling—A Chemical Recycling Perspective. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2024, **12**(33), 12270–12288 [vid. 2026-03-30]. ISSN 2168-0485, 2168-0485. Dostupné z: doi:10.1021/acssuschemeng.4c02551

[2] Microplastics – Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment. In: *Comprehensive Analytical Chemistry* [online]. B.m.: Elsevier, 2017 [vid. 2026-03-30], s. 1–24. ISBN 978-0-444-63898-4. Dostupné z: doi:10.1016/bs.coac.2016.10.004

[3] BILLIET, Stijn a Scott R. TRENOR. 100th Anniversary of Macromolecular Science Viewpoint: Needs for Plastics Packaging Circularity. *ACS Macro Letters* [online]. 2020, **9**(9), 1376–1390 [vid. 2026-03-30]. ISSN 2161-1653, 2161-1653. Dostupné z: doi:10.1021/acsmacrolett.0c00437

[4] PIERGIOVANNI, Luciano a Sara LIMBO. Plastic Packaging Materials. In: Luciano PIERGIOVANNI a Sara LIMBO*Food Packaging Materials* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2016 [vid. 2026-03-30], SpringerBriefs in Molecular Science, s. 33–49. ISBN 978-3-319-24730-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-24732-8_5

[5] GREGORY, Georgina L., Eva M. LÓPEZ-VIDAL a Antoine BUCHARD. Polymers from sugars: cyclic monomer synthesis, ring-opening polymerisation, material properties and applications. *Chemical Communications* [online]. 2017, **53**(14), 2198–2217 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1359-7345, 1364-548X. Dostupné z: doi:10.1039/C6CC09578J

[6] SINGH, Priyanshu, Ameya SHARMA, Ankit RATHEE, Vivek PURI, Hitesh CHOPRA, Manju NAGPAL, Malkiet KAUR a Tabarak MALIK. Revolutionizing packaging: Bioplastics for superior food and pharmaceutical solutions. *Polymers and Polymer Composites* [online]. 2024, **32**, 09673911241305184 [vid. 2026-03-31]. ISSN 0967-3911, 1478-2391. Dostupné z: doi:10.1177/09673911241305184

[7] RAMKUMAR, Mu., K. BALASUBRAMANI, M. SANTOSH a R. NAGARAJAN. The plastisphere: A morphometric genetic classification of plastic pollutants in the natural environment. *Gondwana Research* [online]. 2022, **108**, 4–12 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1342937X. Dostupné z: doi:10.1016/j.gr.2021.07.004

[8] PRATA, Joana C., João P. DA COSTA, Isabel LOPES, Armando C. DUARTE a Teresa ROCHA-SANTOS. Environmental status of (micro)plastics contamination in Portugal. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2020, **200**, 110753

[vid. 2026-03-31]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:10.1016/j.eco-env.2020.110753

[9] LAW, Kara Lavender a Richard C. THOMPSON. Microplastics in the seas. *Science* [online]. 2014, **345**(6193), 144–145 [vid. 2026-03-30]. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1254065

[10] HIRAGA, Kazumi, Ikuo TANIGUCHI, Shousuke YOSHIDA, Yoshiharu KIMURA a Kohei ODA. Biodegradation of waste PET: A sustainable solution for dealing with plastic pollution. *EMBO reports* [online]. 2019, **20**(11), e49365 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1469-221X, 1469-3178. Dostupné z: doi:10.15252/embr.201949365

[11] SIDDIQUI, Jadil a Munif AL-MUNIF. Process for the preparation of polyethylene terephthalate [online]. WO2007088074A1. 9. srpen 2007. [vid. 2026-03-31]. Dostupné z: https://patents.google.com/patent/WO2007088074A1/en

[12] YAM, Kit L., ed. *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology* [online]. 1. vyd. B.m.: Wiley, 2009 [vid. 2026-03-31]. ISBN 978-0-470-08704-6. Dostupné z: doi:10.1002/9780470541395

[13] FAHIM, I.S., H. CHBIB a Hamada Mohamed MAHMOUD. The synthesis, production & economic feasibility of manufacturing PLA from agricultural waste. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* [online]. 2019, **12**, 100142 [vid. 2026-03-31]. ISSN 23525541. Dostupné z: doi:10.1016/j.scp.2019.100142

[14] NANDA, Sonil a Franco BERRUTI. Thermochemical conversion of plastic waste to fuels: a review. *Environmental Chemistry Letters* [online]. 2021, **19**(1), 123–148 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1610-3653, 1610-3661. Dostupné z: doi:10.1007/s10311-020-01094-7

[15] ZIMMERMANN, Lisa, Georg DIERKES, Thomas A. TERNES, Carolin VÖLKER a Martin WAGNER. Benchmarking the in Vitro Toxicity and Chemical Composition of Plastic Consumer Products. *Environmental Science & Technology* [online]. 2019, **53**(19), 11467–11477 [vid. 2026-03-31]. ISSN 0013-936X, 1520-5851. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b02293

[16] JOSEPH, Blessy, Jemy JAMES, Nandakumar KALARIKKAL a Sabu THOMAS. Recycling of medical plastics. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research* [online]. 2021, **4**(3), 199–208 [vid. 2026-03-31]. ISSN 25425048. Dostupné z: doi:10.1016/j.aiepr.2021.06.003

[17] RAGAERT, Kim, Laurens DELVA a Kevin VAN GEEM. Mechanical and chemical recycling of solid plastic waste. *Waste Management* [online]. 2017, **69**, 24–58

[vid. 2026-03-31]. ISSN 0956053X. Dostupné z: doi:10.1016/j.wasman.2017.07.044

[18] EFSA PANEL ON FOOD CONTACT MATERIALS, ENZYMES AND PROCESSING AIDS (CEP), Claude LAMBRÉ, José Manuel BARAT BAVIERA, Claudia BOLOGNESI, Andrew CHESSON, Pier Sandro COCCONCELLI, Riccardo CREBELLI, David Michael GOTT, Konrad GROB, Marcel MENGELERS, Alicja MORTENSEN, Gilles RIVIÈRE, Inger-Lise STEFFENSEN, Christina TLUSTOS, Henk VAN LOVEREN, Laurence VERNIS, Holger ZORN, Vincent DUDLER, Maria Rosaria MILANA, Constantine PAPASPYRIDES, Maria de Fátima TAVARES POÇAS, Alexandros LIOUPIS a Evgenia LAMPI. Safety assessment of the process rPET InWaste, based on the NGR technology, used to recycle post-consumer PET into food contact materials. *EFSA Journal* [online]. 2022, **20**(5) [vid. 2026-03-31]. ISSN 18314732, 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2022.7273

[19] THOMPSON, Richard C., Ylva OLSEN, Richard P. MITCHELL, Anthony DAVIS, Steven J. ROWLAND, Anthony W. G. JOHN, Daniel MCGONIGLE a Andrea E. RUSSELL. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* [online]. 2004, **304**(5672), 838–838 [vid. 2026-04-07]. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1094559

[20] TONG, Huiyan, Qianyi JIANG, Xingshuai HU a Xiaocong ZHONG. Occurrence and identification of microplastics in tap water from China. *Chemosphere* [online]. 2020, **252**, 126493 [vid. 2026-03-31]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126493

[21] ZIANI, Khaled, Corina-Bianca IONIȚĂ-MÎNDRICAN, Magdalena MITITELU, Sorinel Marius NEACȘU, Carolina NEGREI, Elena MOROȘAN, Doina DRĂGĂNESCU a Olivia-Teodora PREDA. Microplastics: A Real Global Threat for Environment and Food Safety: A State of the Art Review. *Nutrients* [online]. 2023, **15**(3), 617 [vid. 2026-04-12]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu15030617

[22] COLE, Matthew, Pennie LINDEQUE, Claudia HALSBAND a Tamara S. GALLOWAY. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2011, **62**(12), 2588–2597 [vid. 2026-03-31]. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2011.09.025

[23] ROZMAN, Ula, Sabine FILKER a Gabriela KALČÍKOVÁ. Monitoring of biofilm development and physico-chemical changes of floating microplastics at the air-water interface. *Environmental Pollution* [online]. 2023, **322**, 121157 [vid. 2026-03-31]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2023.121157

[24] COX, Kieran D., Garth A. COVERNTON, Hailey L. DAVIES, John F. DOWER, Francis JUANES a Sarah E. DUDAS. Human Consumption of Microplastics. *Environmental Science & Technology* [online]. 2019, **53**(12), 7068–7074 [vid. 2026-03-31]. ISSN 0013-936X, 1520-5851. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b01517

[25] WEBB, Hayden, Jaimys ARNOTT, Russell CRAWFORD a Elena IVANOVA. Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). *Polymers* [online]. 2012, **5**(1), 1–18 [vid. 2026-03-31]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym5010001

[26] DE SOUZA MACHADO, Anderson Abel, Werner KLOAS, Christiane ZARFL, Stefan HEMPEL a Matthias C. RILLIG. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology* [online]. 2018, **24**(4), 1405–1416 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1354-1013, 1365-2486. Dostupné z: doi:10.1111/gcb.14020

[27] RAGUSA, Antonio, Alessandro SVELATO, Criselda SANTACROCE, Piera CATALANO, Valentina NOTARSTEFANO, Oliana CARNEVALI, Fabrizio PAPA, Mauro Ciro Antonio RONGIOLETTI, Federico BAIOCCO, Simonetta DRAGHI, Elisabetta D'AMORE, Denise RINALDO, Maria MATTA a Elisabetta GIORGINI. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment International* [online]. 2021, **146**, 106274 [vid. 2026-03-31]. ISSN 01604120. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2020.106274

[28] CORRADINI, Fabio, Pablo MEZA, Raúl EGUILUZ, Francisco CASADO, Esperanza HUERTA-LWANGA a Violette GEISSEN. Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **671**, 411–420 [vid. 2026-03-31]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.368

[29] NGUYEN, Van-Trong, Truong Thi Truc LINH, The-Ky VO, Quoc Hung NGUYEN a Thanh-Khue VAN. Analytical techniques for determination of heavy metal migration from different types of locally made plastic food packaging materials using ICP-MS. *Food Science & Nutrition* [online]. 2023, **11**(7), 4030–4037 [vid. 2026-03-31]. ISSN 2048-7177, 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.3391

[30] CHEN, Xi, Shujat ALI, Leiming YUAN, Fengyi GUO, Guangzao HUANG, Wen SHI a Xiaojing CHEN. Characterization and source analysis of heavy metals contamination in microplastics by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Chemosphere* [online]. 2022, **287**, 132172 [vid. 2026-03-31]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2021.132172

[31] KUTRALAM-MUNIASAMY, Gurusamy, Fermín PÉREZ-GUEVARA, I. Elizalde MARTÍNEZ a V.C. SHRUTI. Overview of microplastics pollution with heavy

metals: Analytical methods, occurrence, transfer risks and call for standardization. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2021, **415**, 125755 [vid. 2026-03-31]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2021.125755

[32] BRUNNBAUER, Lukas, Jhanis GONZALEZ, Hans LOHNINGER, Julia BODE, Carla VOGT, Michael NELHIEBEL, Silvia LARISEGGER a Andreas LIMBECK. Strategies for trace metal quantification in polymer samples with an unknown matrix using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2021, **183**, 106272 [vid. 2026-03-31]. ISSN 05848547. Dostupné z: doi:10.1016/j.sab.2021.106272

[33] ETI, Shamima Akther, Muhammad Saiful ISLAM, Jahid Hasan SHOUROVE, Badhan SAHA, Swapan Kumer RAY, Shahin SULTANA, Md Aftab ALI SHAIKH a Mohammad Mahbubur RAHMAN. Assessment of heavy metals migrated from food contact plastic packaging: Bangladesh perspective. *Heliyon* [online]. 2023, **9**(9), e19667 [vid. 2026-03-31]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2023.e19667

[34] *Commission Regulation (EU) 2020/1245 of 2 September 2020 amending and correcting Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food (Text with EEA relevance)* [online]. 2. září 2020 [vid. 2026-03-31]. Dostupné z: http://data.europa.eu/eli/reg/2020/1245/oj. Legislative Body: SANTE, COM

[35] JENKE, D., C. RIVERA, T. MORTENSEN, P. AMIN, M. CHACKO, T. TRAN a J. CHUM. A Compilation of Metals and Trace Elements Extracted from Materials Relevant to Pharmaceutical Applications such as Packaging Systems and Devices. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* [online]. 2013, **67**(4), 354–375 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1079-7440. Dostupné z: doi:10.5731/pdajpst.2013.00927

[36] COUNCIL OF EUROPE. *European Pharmacopoeia*. 11th Edition. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM)., 2022. ISBN 978-92-871-9096-3.

[37] *ICH Q3D Elemental impurities - Scientific guideline | European Medicines Agency (EMA)* [online]. 12. leden 2015 [vid. 2026-04-01]. Dostupné z: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3d-elemental-impurities-scientific-guideline

[38] BONTA, Maximilian a Andreas LIMBECK. Metal analysis in polymers using tandem LA-ICP-MS/LIBS: eliminating matrix effects using multivariate calibration. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2018, **33**(10), 1631–1637 [vid. 2026-03-31]. ISSN 0267-9477, 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/C8JA00161H

[39] DI FUSCO, Giorgia a Angela CALIA. Advances in (LA)-ICP-MS techniques and applications for the in elemental analysis the field of cultural heritage: A review. *Talanta* [online]. 2026, **303**, 129492 [vid. 2026-03-31]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi: 10.1016/j.talanta.2026.129492

[40] LIMBECK, Andreas, Patrick GALLER, Maximilian BONTA, Gerald BAUER, Winfried NISCHKAUER a Frank VANHAECKE. Recent advances in quantitative LA-ICP-MS analysis: challenges and solutions in the life sciences and environmental chemistry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2015, **407**(22), 6593–6617 [vid. 2026-03-31]. ISSN 1618-2642, 1618-2650. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-015-8858-0

[41] *LSX-213 G2+* [online]. [vid. 2026-04-01]. Dostupné z: https://www.teledynephotonmachines.com/what-we-do/laser-ablation/lsx-213-g2+

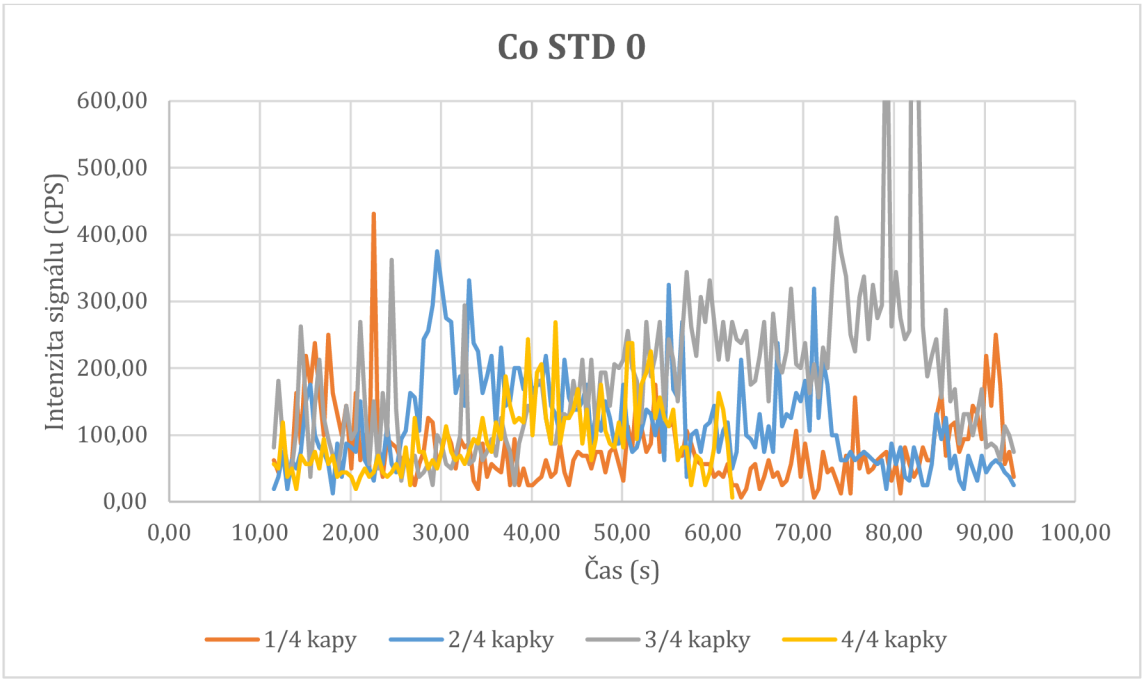
[42] *Agilent 7900 ICP-MS | Agilent* [online]. [vid. 2026-04-01]. Dostupné z: https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms/icp-ms-instruments/7900-icp-ms?Campaign_Source=PAN_PSM_Brand_G&gclsrc=aw.ds&gad_source=1&gad_campaignid=21858641715&gbraid=0AAAADSHcWd7Pf9UkfMQA4WeygkRlbS5a&gclid=Cj0KCQiAwYrNBhDcARIsAGo3u30XaRiijbfbDsg2HHBCPa5ApqwYyLPA4aKQYwvQdSTHEH3Y7wL0KcIaAqT7EALw_wcB

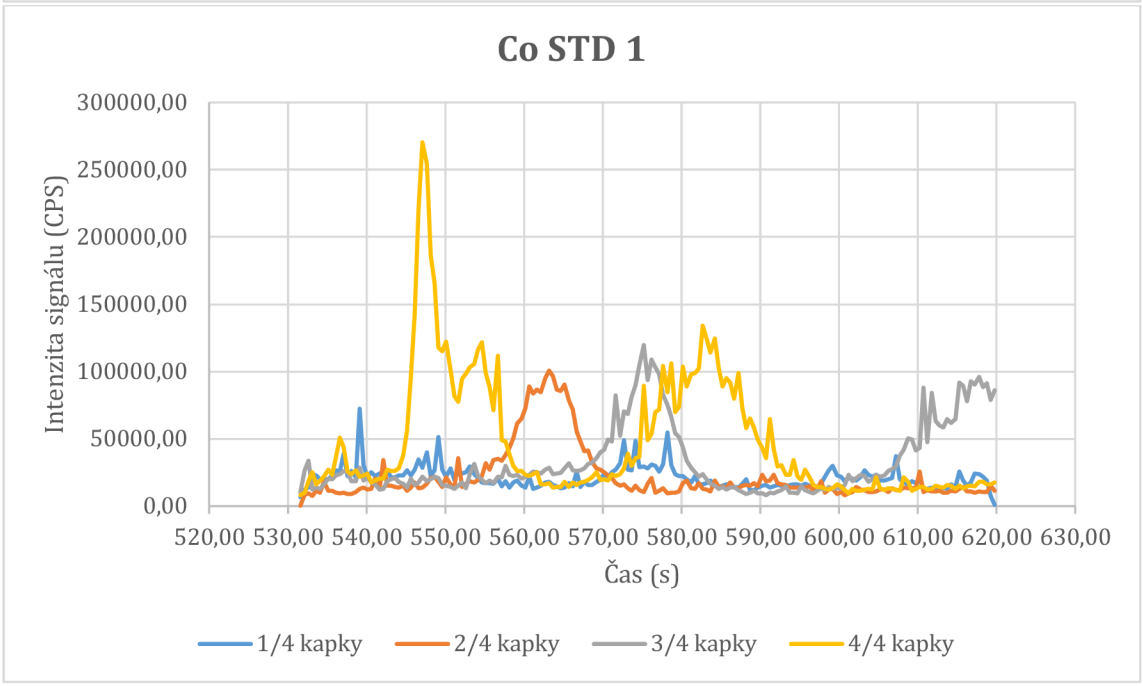
[43] KARIM, Syed Shujaat, Sarah FARRUKH, Takeshi MATSUURA, Muhammad AHSAN, Arshad HUSSAIN, Sehar SHAKIR, Lai Fatt CHUAH, Mudassir HASAN a Awais BOKHARI. Model analysis on effect of temperature on the solubility of recycling of Polyethylene Terephthalate (PET) plastic. *Chemosphere* [online]. 2022, **307**, 136050 [vid. 2026-03-31]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2022.136050

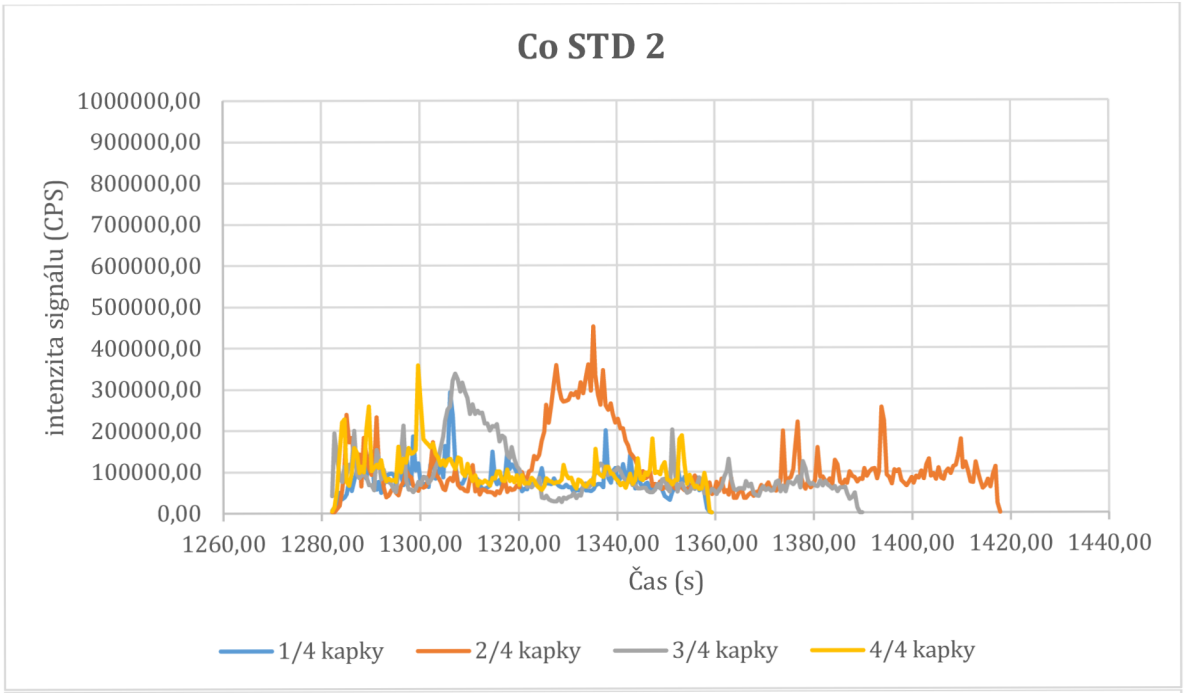
[44] YANG, Mingwei, Dejian CHEN, Jie HU, Xinyu ZHENG, Zu-Jin LIN a Haomiao ZHU. The application of coffee-ring effect in analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2022, **157**, 116752 [vid. 2026-03-31]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2022.116752

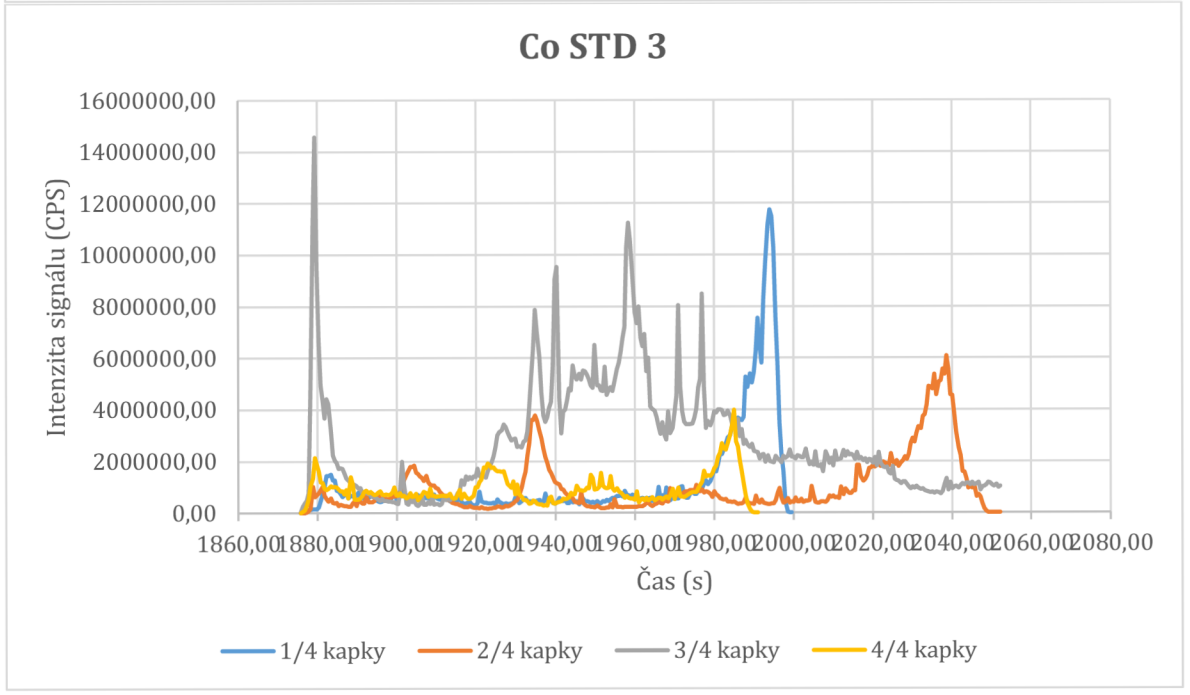
Příloha A Doplňující grafy optimalizace laserové ablace

A.1 Grafy homogenity standardních kapek PS

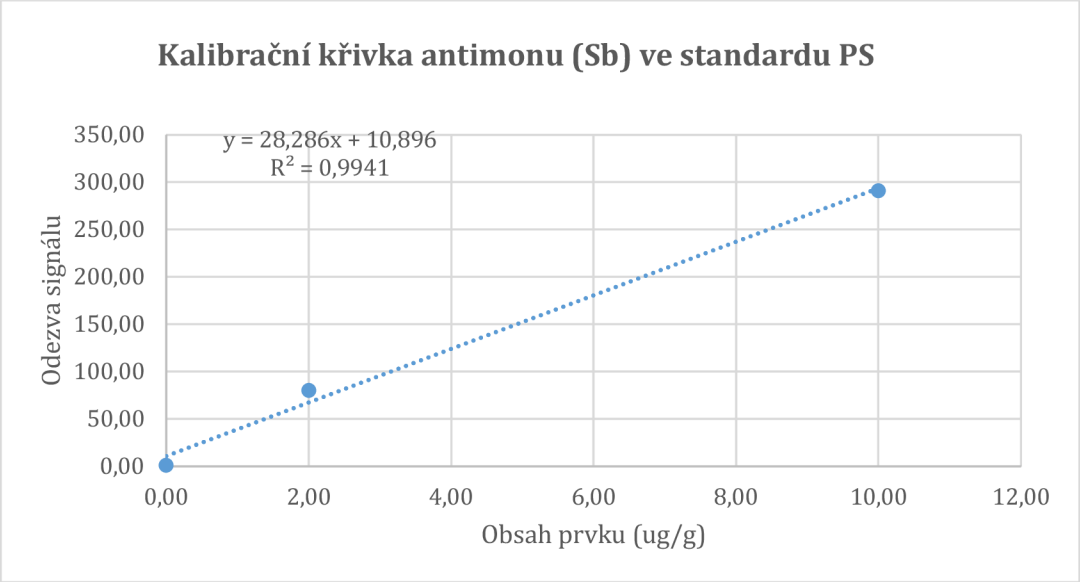





Co STD 2
intenzita signálu (CPS)
1000000,00
900000,00
800000,00
700000,00
600000,00
500000,00
400000,00
300000,00
200000,00
100000,00
0,00
1260,00 1280,00 1300,00 1320,00 1340,00 1360,00 1380,00 1400,00 1420,00 1440,00
Čas (s)
1/4 kapky
2/4 kapky
3/4 kapky
4/4 kapky


Co STD 3
Intenzita signálu (CPS)
16000000,00
14000000,00
12000000,00
10000000,00
8000000,00
6000000,00
4000000,00
2000000,00
0,00
1860,00 1880,00 1900,00 1920,00 1940,00 1960,00 1980,00 2000,00 2020,00 2040,00 2060,00 2080,00
Čas (s)
1/4 kapky
2/4 kapky
3/4 kapky
4/4 kapky

A.2 Test lineární regrese – kalibrační křivka Sb ve standardu PS



Příloha B Doplňující výsledky a porovnání

B.1 Koncentrace prvků v extraktech (mg/L)

Vzorek	Médium	Al	Ti	Co	Zn	Cd	Sn	Sb	Ba
DI	HCl	0,14	0,0051	0,015	0,0407	0,0002	0,005	0,014	0,0054
DI	NaOH	0,32	0,018	0,0003	0,038	0,0001	0,0086	0,0071	0,001
PRCL	HCl	0,03	0,0038	0,003	0,053	0,0008	0	0,11	0,0069
PRCL	NaOH	0,63	0,025	0,0006	0,013	0,0004	0,015	0,06	0,0003
PRC	HCl	0,02	0,0028	0,0036	0,0608	0,0005	0	0,05	0,0045
PRC	NaOH	1,3	0,037	0,0019	0,02	0,0003	0,016	0,078	0
Čína	HCl	0,26	0,0041	0,0018	0,071	0,0002	0,001	0,008	0,0101
Čína	NaOH	0,33	0,056	0,0007	0,104	0,0009	0,0095	0,0093	0,0023
PVC	HCL	2,3	0,0028	0,0017	0,019	0,0002	0,034	0,0009	0,0035
Tab.	HNO_3	0,28	0,062	0,014	0,17	0,001	0,0042	0	0,201

Pozn.: DI – materiál DI 24/04/29; PRCL – rPET PRCL 11228; PRC – rPET 6365; Čína – PET obal doplňku stravy z Číny; PVC – PVC blistr léčivého přípravku Magnesii lactici; Tab. – tablety doplňku stravy z Číny. HCl – extrakce v 0,1 M kyselině chlorovodíkové; NaOH – extrakce v 0,01 M hydroxidu sodném; HNO_3 – extrakce v kyselině dusičné

B.2 Porovnání se specifickými migračními limity (mg/kg)

Prvek	Hodnota	PRCL	PRC	DI	PET Čína	PVC blistr
Co	SML			0,05		
	Vzorek	0,0076	0,0089	0,015	0,0045	0,034
Zn	SML			5		
	Vzorek	0,13	0,15	0,41	0,18	0,37
Ba	SML			1		
	Vzorek	0,018	0,011	0,054	0,025	0,07
Al	SML			1		
	Vzorek	0,07	0,043	1,4	0,65	47
Sb	SML			0,04		
	Vzorek	0,15	0,2	0,07	0,023	0,018

Pozn.: DI – materiál DI 24/04/29; PRCL – rPET PRCL 11228; PRC – rPET 6365

B.3 Porovnání obsahu prvků v materiálech a jejich extraktech (μg/g) a podíl extrahovaného množství (%)

Prvek	Typ vzorku	PRCL	PRC	DI	Čína	PVC
Al	Materiál	16	2,3	18,8	4,3	
	Výluh	0,07	0,043	1,4	0,65	
	%	**0,44**	**1,9**	**7,4**	**15**	
Ti	Materiál	6,9	10,9	1,9	3,8	5,8
	Výluh	0,0096	0,0069	0,05	0,01	0,056
	%	**0,14**	**0,063**	**2,6**	**0,26**	**0,97**
Co	Materiál	5,9	9,7	4,4	8,8	
	Výluh	0,0076	0,0089	0,015	0,0045	
	%	**0,13**	**0,09**	**0,34**	**0,05**	
Zn	Materiál	5,9	9,5	4,4	6,6	11
	Výluh	0,13	0,15	0,41	0,18	0,37
	%	**2,2**	**1,6**	**9,3**	**2,7**	**3,36**
Cd	Materiál					0,70
	Výluh					0,004
	%					**0,57**
Sn	Materiál					373
	Výluh					0,67
	%					**0,18**
Sb	Materiál	98,1	256	118	83,3	0,54
	Výluh	0,15	0,2	0,07	0,023	0,018
	%	**0,15**	**0,078**	**0,059**	**0,028**	**3,3**
Ba	Materiál	6,6	11,5	6,5	7,5	10
	Výluh	0,018	0,011	0,054	0,025	0,07
	%	**0,27**	**0,096**	**0,83**	**0,33**	**0,7**

Pozn. I: DI – materiál DI 24/04/29; PRCL – rPET PRCL 11228; PRC – rPET 6365; Čína – PET obal doplňku stravy z Číny; PVC – PVC blistr léčivého přípravku Magnesii lactici

Pozn. II: X = prvek nebyl analyzován současně v materiálu a ve výluhu, nelze proto stanovit podíl extrahovaného množství (%)

B.4 Doplněk stravy z Číny – obsah prvků v PET obalu, jeho výluhu, výluhu tablety (μg/g) a podíl extrahovaných látek (%)

Doplněk stravy z Číny	Prvek	Obal PET	Výluh obalu	%	Výluh tablety
	Al	4,3	0,65	15	7,06
	Ti	3,8	0,01	0,26	1,5
	Co	8,8	0,0045	0,05	0,34
	Zn	6,6	0,18	2,7	4,3
	Sb	83,3	0,023	0,028	0
	Ba	7,5	0,025	0,33	5