



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

HYDROGELY MODIFIKOVANÉ AMFIFILNÍMI STRUKTURAMI

HYDROGELS MODIFIED BY AMPHIPHILIC STRUCTURES

DIZERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. Richard Heger

ŠKOLITEL

SUPERVISOR

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.

BRNO 2023

Zadání dizertační práce

Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie Akademický rok: 2023/24
Student: **Ing. Richard Heger**
Studijní program: Fyzikální chemie
Studijní obor: Fyzikální chemie
Vedoucí práce: **prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.**

Název dizertační práce:

Hydrogely modifikované amfifilními strukturami

Zadání dizertační práce:

Prostudovat vliv přídavku amfifilních molekul (tenzidy, fosfolipidy) na vlastnosti vybraných hydrogelů, zejména vlastnosti reologické a transportní. Výsledky diskutovat i z hlediska uplatnění hydrogelů jako modelů biologického prostředí.

Termín odevzdání dizertační práce: 30.11.2023:

Ing. Richard Heger
student

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 3.7.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Předložená dizertační práce se zabývá vlivem amfifilních struktur na hydrogelové vlastnosti. Přidávky různých amfifilních látek spojené s tvorbou vysoce uspořádaných struktur ovlivňují mechanické, transportní a strukturní vlastnosti hydrogelů. Hlavní inspirací pro tento typ práce byla živá tkáň, přesněji extracelulární matrice, která se hydrokoloidy velmi často mimikuje, a právě její vysoká uspořádanost může za její unikátní vlastnosti. Poznatky získané z této tkáně byly aplikovány do hydrogelových systémů studovaných v této práci. Vhodnými zástupci pro tuto práci byly různě síťované hydrogelové matrice (fyzikálně síťovaná agaróza a želatina, iontově síťovaný alginát a chemicky síťovaná směs polyvinylalkoholu s chitosanem). Tyto hydrogelové systémy byly modifikovány přidávky různých amfifilních látek. Lidskému tělu vlastním fosfolipidem, lecitinem, anebo různě nabitými klasičtějšími tenzidy (CTAB, SDS a Triton X-100). Experimentálně je tato práce rozdělena do tří oblastí, studium mechanických vlastností pomocí reologie, popis transportních vlastností pomocí uvolňovacích a prostupovacích experimentů s využitím různých modelových léčiv (rhodamin 6G, eosin B, amidová čern 10B, methylenová modř a riboflavin) a morfologická charakterizace pomocí SEM. Charakterizace hydrogelových systémů byla podpořena dalšími technikami, které byly v této práci využity, jako jsou např. sušící a botnací experimenty nebo sorpce plynů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hydrogel, amfifily, reologie, viskoelasticita, mechanické vlastnosti, transportní vlastnosti, SEM

ABSTRACT

The submitted dissertation deals with the influence of amphiphilic structures on hydrogel properties. Additions of various amphiphilic substances associated with the formation of highly ordered structures affect the mechanical, transport and structural properties of hydrogels. The main inspiration for this type of work was living tissue, more precisely the extracellular matrix, which is often mimicked by hydrocolloids, and its high orderliness is responsible for its unique properties. The knowledge obtained from this tissue was applied to the hydrogel systems studied in this work. Various cross-linked hydrogel matrices (physically cross-linked agarose and gelatin, ionically cross-linked alginate and chemically cross-linked mixture of polyvinyl alcohol and chitosan) were suitable representatives for this work. These hydrogel systems were modified by the addition of various amphiphilic substances. The human body's own phospholipid, lecithin, or variously charged more classic surfactants (CTAB, SDS and Triton X-100). Experimentally, this work is divided into three areas, the study of mechanical properties using rheology, the description of transport properties via release and flow experiments using various model drugs (rhodamine 6G, eosin B, amido black 10B, methylene blue and riboflavin), and morphological characterization using SEM. The characterization of hydrogel systems was supported by other techniques used in this work, such as drying and swelling experiments or gas sorption.

KEYWORDS

Hydrogel, amphiphiles, rheology, viscoelasticity, mechanical properties, transport properties, SEM

HEGER, R. *Hydrogely modifikované amfifilními strukturami*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2023. 200 s. (přílohy 41 s.). Vedoucí dizertační práce prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Dizertační práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího dizertační práce a děkana FCH VUT.

.....
Ing. Richard Heger

Na tomto místě bych velmi rád poděkoval mému vedoucímu dizertační práce, prof. Ing. Miloslavu Pekařovi, CSc., za vedení, cenné rady a čas, který mi věnoval během celého doktorského studia. Mé poděkování patří taktéž Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D. za cenné rady, konzultace a připomínky při řešení experimentální části této práce.

Rád bych také poděkoval mé rodině, která mě během celého studia podporovala.

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	CÍLE PRÁCE	9
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
3.1	Gely.....	10
3.1.1	Gelace	10
3.1.2	Hydrogely	11
3.1.3	Agaróza.....	13
3.1.4	Želatina	14
3.1.5	Alginát sodný.....	15
3.1.6	Polyvinylalkohol.....	16
3.1.7	Chitosan	17
3.2	Amfifily.....	17
3.2.1	Amfifilní uspořádávání	18
3.2.2	Micely	19
3.2.3	Amfifilní struktury.....	20
3.2.4	Lecitin	21
3.2.5	Klasické tenzidy.....	24
3.3	Reologie	25
3.3.1	Viskoelastická.....	27
3.3.2	Reologie gelů	27
3.3.3	Amplitudový deformační test	28
3.3.4	Frekvenční test.....	28
3.3.5	Tří intervalový tixotropní test.....	29
3.3.6	Creepový test	30
3.4	Difúze.....	31
3.4.1	Fickovy zákony.....	31
3.4.2	Difúzní modely	32
3.4.3	Volná difúze.....	33
3.4.4	Difúzní koeficient	33
3.5	Morfologická charakterizace	34
4	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY.....	35
4.1	Hydrogelové matrice s hydrofobními doménami	35
4.2	Hydrogely s vnitřními strukturami.....	38
4.3	Aplikační potenciál	41
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	43
5.1	Použité chemikálie	43
5.1.1	Hydrogelová matrice	43
5.1.2	Amfifilní látky	43

5.1.3	Barviva.....	43
5.1.4	Ostatní.....	43
5.2	Příprava vzorků.....	43
5.2.1	Fyzikálně síťované hydrogely	43
5.2.2	Iontově síťované hydrogely	44
5.2.3	Chemicky síťované hydrogely.....	44
5.3	Charakterizace zkoumaných látek	45
5.3.1	Použité přístroje a techniky	45
5.3.2	Reologie.....	45
5.3.3	UV/Vis spektrometrie	46
5.3.4	Rastrovací elektronová mikroskopie	47
5.3.5	Plynová sorpce.....	47
5.3.6	Sušící a botnací experimenty	48
6	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	49
6.1	Lecitin jako modifikátor hydrogelových vlastností	49
6.1.1	Fyzikálně síťované hydrogely	49
6.1.2	Iontově síťované hydrogely	54
6.1.3	Chemicky síťované hydrogely.....	57
6.1.4	Uvolňovací experimenty.....	60
6.1.5	Difúzní cely	71
6.1.6	Morfologická charakterizace	76
6.2	Tenzidy jako modifikátory hydrogelových vlastností	82
6.2.1	Amplitudové deformační testy	82
6.2.2	Frekvenční testy.....	89
6.2.3	Tří intervalové tixotropní testy	92
6.2.4	Creepové testy	98
6.2.5	Sušení a rehydratace hydrogelů modifikovaných tenzidy.....	102
6.2.6	Difúze hydrogelů modifikovaných tenzidy	106
6.2.7	Morfologická charakterizace	114
7	ZÁVĚR.....	119
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	121
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	142
10	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	144
11	SEZNAM OBRÁZKŮ	146
12	SEZNAM TABULEK.....	150
13	VĚDECKÁ A PUBLIKAČNÍ ČINNOST.....	152
13.1	Články v impaktovaném časopise	152
13.2	Konferenční příspěvky	152
13.3	Projekty.....	153
14	PŘÍLOHY.....	154

„Progress is made by trial and failure; the failures are generally a hundred times more numerous than the successes; yet they are usually left unchronicled.“

William Ramsay

1 ÚVOD

Hydrogely jsou již celou řadu let velmi aktuálním tématem, a to zejména díky jejich širokému aplikačnímu potenciálu v medicíně, zemědělství, potravinářství či v chemickém průmyslu. Jejich viskoelastické vlastnosti, botnací potenciál nebo hydrofilní charakter je dělá velmi žádaným materiálem vhodným zejména pro biomedicínské odvětví, konkrétně jako nosiče léčiv, skafoldy nebo obvazový materiál pro mokré hojení. I přes jejich velmi zjevný a žádaný potenciál, se řada výzkumných týmů setkává s četnými výzvami při jejich návrhu a přípravě. Největším problémem při medicínských aplikacích je unikátnost jak lidského těla, tak i samotných hydrogelů. V závislosti na materiálu nebo způsobu přípravy nemusí výsledný hydrogel vyhovovat konkrétnímu úkolu, pro který byl navržen. Z tohoto důvodu stále roste množství přístupů a postupů při navrhování hydrogelových systémů. Stále se hledají doposud neprozkoumané směry a modifikace, které by hydrogelovou přípravu mohly zjednodušit a zdokonalit. Modifikace hydrogelů je obrovským tématem a bohužel i z toho důvodu je připravováno spousta hydrogelů, které excelují v jednom odvětví, ale v dalším směru strádají.

Inspiraci pro řešení tohoto výzkumného úkolu lze nalézt v přírodě u extracelulární matrice, která má na starost řadu pochodů, které se my v laboratorních podmínkách snažíme napodobit a zdokonalit, co možná nejjednodušší cestou. Extracelulární matrice má charakter hydrokoloidu a bývá hydrogely často simulována. Bohužel má také poměrně složité složení a některé složky „pouze“ regulují biochemické děje, a naopak jiné spoluvytvářejí či ovlivňují její vlastnosti. Samotné pochopení fyzikálně chemických vlastností extracelulární matrice je velmi složité a doposud ne dobře popsáno. Hydrogely v této práci se snaží využít poznatky získané ze správného fungování živého organismu a následně je převést do vyvíjených hydrogelů, nikoliv samotnou extracelulární matici napodobit.

Velká část unikátních vlastností vychází z uniformní a unikátní struktury této živé tkáně. Snaha o převedení této uniformity do hydrogelů je vedena přes přídavky amfifilních látek, které v závislosti na jejich koncentraci a podmínkách během přípravy svým uspořádáním tuto uniformitu zajišťují.

Předložená práce představuje jak teoretický základ do studia nejběžnějších hydrogelových systému a v této práci použitých, hydrogelových materiálů, tak také experimentálně získané závěry ze studia těchto systémů modifikovaných amfifilními strukturami. Zohledněny byly různé typy síťování hydrogelové matrice i budoucí aplikační potřeby hydrogelových systémů. Hydrogely byly modifikovány amfifilními strukturami, které byly pro možné budoucí aplikační potřeby přednostně zaměřeny na bázi fosfolipidů, které na rozdíl od klasických tenzidů zpravidla nebývají ve větších koncentracích škodlivé lidskému tělu. Práce je postavena na třech pilířích charakterizujících mechanické vlastnosti pomocí reologie, transportní vlastnosti pomocí řady difúzních technik a na strukturní charakterizaci pomocí rastrovací elektronové mikroskopie.

2 CÍLE PRÁCE

Dizertační práce se zabývá studiem hydrogelových systémů, jenž jsou modifikovány amfifilními strukturami a snaží se odpovědět na otázku, zdali amfifilní látky, použité při přípravě hydrogelových systémů, jsou schopné ovlivnit hydrogelové vlastnosti a propůjčit jim dostatečnou uniformitu potřebnou pro vhodnou modifikaci vlastností potřebných pro aplikační využití hydrogelů. Dostupná literatura představuje různá řešení tohoto problému pomocí složitých, časově náročných nebo komplikovaných úprav. Tomu se tato práce snaží zamezit a přistoupit k problému s co nejjednodušším řešením, kterým je modifikace pouhým přídatkem amfifilních látek, které svými micelárními nebo kapalně krystalickými strukturami vedou ke zvýšení hierarchie a ovlivnění celého systému. Jedná se o alternativní řešení k lipozomům, které se zde nevyužívají. Amfifily tímto modelují „vliv samotných buněk“ na vlastnosti hydrogelu, potažmo extracelulární matrice.

Hlavním typem síťování gelotvorné hydrogelové matrice bylo, z důvodů biodegradability a bioaktivity, pracováno hlavně s fyzikálně síťovanými hydrogely, avšak značné množství práce a experimentů bylo provedeno na iontově a chemicky síťovaných hydrogelech, aby bylo možné diskutovat rozdíly mezi různými přístupy přípravy a tvorby hydrogelů. Pro modifikaci hydrogelových vlastností byla využita řada amfifilních látek. Druhy amfifilních látek dělí tuto práci na dvě části. Na první část, která se zabývala látkou, která je na rozdíl od řady tenzidů lidskému tělu vlastní, a není problém s jejím využitím i při vyšších koncentracích, a tedy ponechává širší prostor pro potenciální aplikační využití daného modifikátoru. Takovou látkou byl lecitin, jehož vliv byl studován jak na fyzikálně síťovaných, tak také na iontově a chemicky síťovaných hydrogelech. Druhá část se zabývala klasickými¹ tenzidy, využívanými v celé řadě průmyslových odvětvích, ale zejména v čistících prostředcích. Jednalo se o tři zástupce, kteří se lišili svým nábojem. Kladně nabitý CTAB, záporně nabitý SDS a neutrální Triton X-100. Vliv těchto povrchově aktivních látek byl studován pouze na fyzikálně síťovaných hydrogelech.

Z pohledu aplikačního využití hydrogelů, jsou nejdůležitějšími vlastnostmi mechanické a transportní vlastnosti. Mechanické vlastnosti jsou na hydrogelech nejběžněji zkoumány za využití reologických technik v různém uspořádání a nastavení. V této práci byla reologie stěžejní technikou, která popisovala rozdíly daných hydrogelových matic, a také samotných amfifilních látek, mezi sebou. Z tohoto důvodu byla do výzkumu aplikována řada testů, a to amplitudové deformační, frekvenční, tři intervalové tixotropní nebo creepové testy.

Transportní vlastnosti jsou rovněž velmi důležitými vlastnostmi při popisu hydrogelových systémů a také při zohlednění jejich možného aplikačního využití, například jako nosičových systémů. K tomuto účelu sloužily difúzní experimenty, které se snažily mimikovat pohyb léčiva uvnitř hydrogelových systémů. V tomto směru je opět velmi důležitý náboj. Z toho důvodu byly transportní vlastnosti studovány pomocí řady barevných sond, které napodobovaly léčiva s různými náboji. Ke kvantifikaci těchto vlastností sloužil zejména UV/Vis spektrofotometr s různými úpravami.

¹ Klasickými tenzidy jsou v této práci myšleny syntetické tenzidy neboli saponáty, které se hojně využívají k rozpouštění a odstraňování nečistot, ale své místo našly i v medicínských vědách.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Gely

Gelem se rozumí trojrozměrná makromolekulární síť, která prostupuje celým disperzním prostředím. Gely jsou definovány jako objekty, skládající se z polymeru a jeho nabitelné hmoty seskupující se do třidimenzionálních nerozpustných struktur [1].

Obecně se dá říct, že se gel skládá z trojrozměrné strukturní sítě a média, které ji vyplňuje. Gely lze klasifikovat podle mnoha různých kritérií. Jednou z možností je dělení podle druhu síťování, a tedy na gely síťované kovalentními vazbami, coulombickými silami, vodíkovými můstky, koordinačními vazbami či zapletením. Podle druhu síťování je možné se v literatuře setkat s gely fyzikálně, iontově nebo chemicky síťovanými [2]. Dále se dělí podle látek, které slouží ke vzniku gelu, a lze je rozdělit na přírodní, syntetické nebo hybridní gely. Možností dělení je i jejich samotná konfigurační velikost, tedy mikro- a makro-gely anebo podle disperzního prostředí na aerogely (plyn), hydrogely (voda) nebo organogely (organická látka) [3]. Dále je také důležité rozlišit, jaké disperzní prostředí gel obsahuje. Má-li gel kapalně disperzní prostředí, tak hovoříme o *lyogelu*. Vysušením lyogelu neboli odstraněním disperzního prostředí, dostáváme *xerogel* [4].

Schopnost tvorby gelu, tedy gelace, mají některé koloidní disperze pevných látek v kapalinách. V takovýchto útvech je spojitě disperzní prostředí i disperzní podíl. Kvůli tomuto uspořádání ztrácejí disperzní částice schopnost se volně pohybovat v disperzním prostředí. Díky tomuto uspořádání mají gely mechanické vlastnosti charakteristické pro tuhé látky [4, 5].

3.1.1 Gelace

Proces gelace je konverze kapaliny na neuspořádanou pevnou látku tvorbou sítí, které jsou propleteny chemickými nebo fyzikálními vazbami mezi molekulami nebo částicemi sestavující kapalinu. Kapalným prekurzorem se nazývá *sol* a z něj vznikající pevná forma nesoucí název *gel* [4].

Vznik síťovité struktury lze popsat alespoň třemi obecnými chemickými reakcemi. První je kondenzační reakce, při které molekula se třemi nebo více reaktivními skupinami, jako jsou například OH skupiny, reaguje se síťovadlem. Druhou reakcí je adiční polymerizace. V tomto případě se dvojná vazba otevře vlivem reakce volného radikálu, což způsobí vznik další vazby, která spojí jednotlivé monomery dohromady. Tento typ reakce, v případě výskytu pouze jedné dvojných vazby na monomer, vede ke vzniku lineárního řetězce. Pokud se ovšem na monomeru vyskytují dvě nebo i více dvojných vazeb, tak je více než pravděpodobný výskyt větvení v řetězci. Třetím druhem reakce, která vede ke vzniku rozvětvené struktury, je chemická reakce začínající s lineárním polymerním prekurzorem, který je následně síťován nebo vulkanizován zavedením chemické vazby, která je spojuje dohromady [6].

Fyzikální gely vznikají intermolekulární asociací, která vede ke vzniku síťovité struktury. Fyzikální asociace se od chemických vazeb liší v druhu vazeb. K chemickým vazbám dochází mezi dvěma atomy a typicky jsou teplotně stálé. Naopak intermolekulární asociací vznikají slabé a reverzibilní vazby nebo klastry, které jsou vytvořeny van der Waalovými silami, elektrostatickou přitažlivostí nebo vodíkovými vazbami. Pokud fyzikální asociace vede ke gelaci, tak je velmi důležité, aby uzly mezi molekulami nebyly příliš velké. Proto je třeba růst

těchto uzlů nějak omezovat. Je možné identifikovat tři různé typy interakcí, které vedou k fyzikální gelaci. Jsou to lokální helikální struktury, při kterých se jeden řetězec obtáčí kolem druhého; mikrokristaly a nodulární domény, u kterých je řetězec chemicky heterogenní a asociace se objevuje pouze na výhodných místech podél řetězce [4–6].

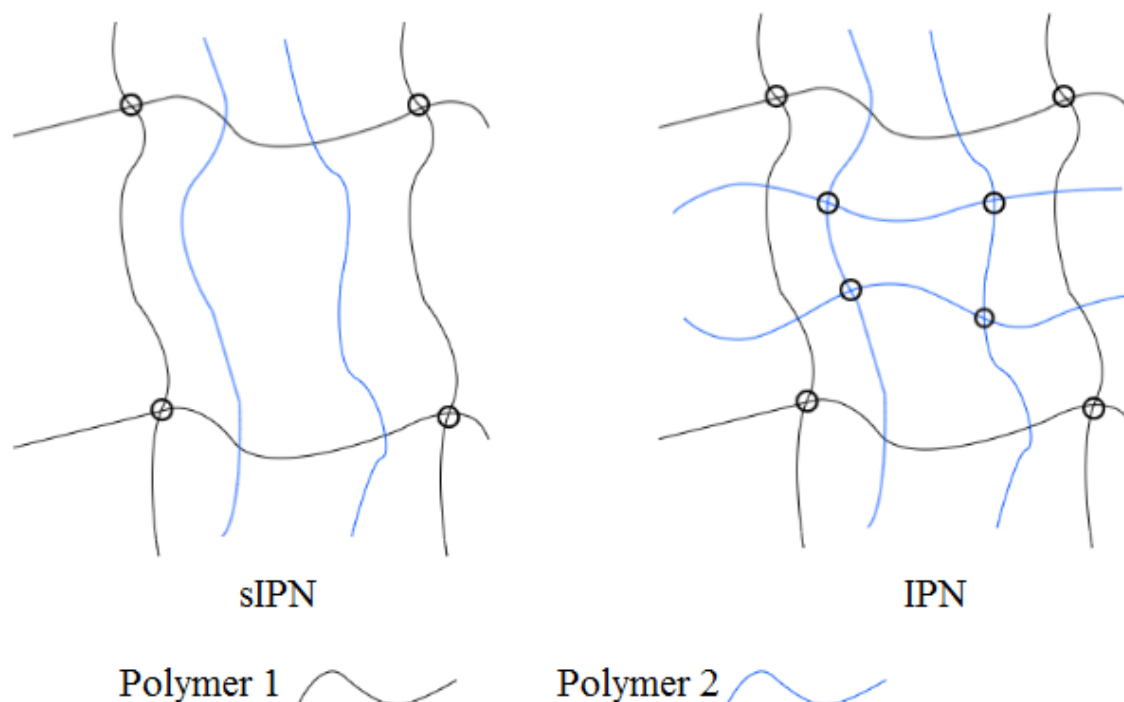
Dalším typem síťování je iontové síťování, které svou podstatou spadá pod fyzikální síťování, ale svou důležitostí je třeba se o něm zmínit. Iontové zesítění obvykle nastává mezi opačně nabitými molekulami nebo polyelektrolyty. Vytvořený systém je rozpoznán jako polyelektrolyt nebo jako polyiontové komplexy a komplexní koacerváty. Po zavedení protiiontů do systému závisí tvorba gelu na různých faktorech, jako jsou iontová síla, pH, typ protiiontu nebo hustota funkčního náboje roztoku. Tento přístup je široce využíván pro gelovací systémy *in situ*. Jedním z nejznámějších zástupců tohoto síťování je alginát, přírodní polysacharid, který tvoří iontové komplexy s dvojmocnými kationty jako např. Mg^{2+} , Ca^{2+} nebo Ba^{2+} (více viz kapitola 3.1.5), nebo také chitosan, přírodní polykationt tvořící komplexy s polyanionty (alginát, pektin, kyselina polyakrylová nebo kyselina polyfosforečná) [7].

3.1.2 Hydrogely

Hydrogely jsou vodou nabitelné polymerní materiály, které zastávají třídimenziální strukturu. Jedná se tedy o gely, ve kterých je kapalnou složkou (prostředím) voda. Díky vysokému obsahu vody mají hydrogely skvělou biokompatibilitu. Množství vody v nabitelném stavu závisí na rovnováze mezi termodynamickou silou hydratace a retrakční silou trojrozměrných sítí. Hydratační síla závisí zejména na hydrofilnosti hlavního polymerního řetězce a retrakční síle všech řetězců zapojených do trojrozměrné sítě. V důsledku toho existuje široká škála možných způsobů přípravy hydrogelů různých struktur a vlastností [8].

Hydrogely, jež jsou připraveny ať už ze syntetických polymerů nebo biopolymerů a jsou podobné a kompatibilní biologickým tkáním, jsou velmi důležitými materiály pro nosiče léčiv a tkáňové inženýrství. Jejich vysoký obsah vody umožňuje extrakci nežádoucích látek a také snadnou penetraci malých molekul jako je voda, elektrolyty nebo metabolity. Hydrogely jako takové se využívají jako kontaktní čočky, implantáty, kryty na hojení ran, membrány pro dialýzu a další. Speciálně navržené a upravené hydrogely, které jsou schopné reagovat na změnu pH, teploty, iontové síly, magnetického pole, elektrického pole, ultrafialového světla, a další, jsou ideálními kandidáty pro biomateriálové aplikace [9, 10].

V závislosti na druhu přípravy mohou být hydrogely klasifikovány jako homopolymery, kopolymery, semi-interpenetrované polymerní sítě (sIPN) a interpenetrované polymerní sítě (IPN). Homopolymery ve své struktuře obsahují pouze jeden typ monomeru a jsou založeny pouze na monomeru a technice použité na jeho polymerizaci. Jeho struktura může být síťována. Jak i název napovídá, tak kopolymery se sestávají ze dvou různých monomerů, ze kterých alespoň jeden je hydrofilního charakteru. Třetím druhem jsou sIPN, které se vytváří, když lineární polymer penetruje jinou zesíťovanou strukturu bez jakýchkoliv chemických vazeb. Kombinací dvou polymerů může dojít ke vzniku IPN, a to za předpokladu, že jeden z polymerů je již v roztoku přítomen a ten druhý je nasyntetizován nebo zesíťován *in-situ* (Obrázek 1) [11].



Obrázek 1: Schématická reprezentace sIPN a IPN

Všechny polymerní řetězce v hydrogelech jsou vzájemně zesíťovány, proto se hydrogel chápe jako jedna molekula nezávisle na jeho velikosti. Z tohoto důvodu neexistuje molekulová hmotnost hydrogelu, proto je možné se setkat s pojmem nekonečně velká molekula nebo super makromolekula. Pouze i malá změna v podmínkách prostředí může vést k rychlým, avšak reverzibilním, změnám v hydrogelu. Změna parametrů prostředí, jako je pH, teplota, elektrický signál, přítomnost enzymu nebo jiné nabitě látky může vést ke změně fyzické struktury gelu. Tyto změny mohou nastat v makroskopickém měřítku jako tvorba sraženiny, změna velikosti a obsahu vody. Změna koncentrace mobilních iontů v hydrogelovém prostředí způsobí změnu pH, což vede k ovlivnění objemu. Hydrogely s kyselými nebo zásaditými funkčními skupinami reagují na výkyvy pH v okolním prostředí. Stupeň ionizace funkčních skupin určuje botnací profil hydrogelu, a tedy jeho samotný objem. Příkladem může být kyselina polyakrylová, jejíž hydrogel je velmi citlivý na pH. Její botnací profil se velmi mění v závislosti na ionizaci karboxylových skupin na polymerním řetězci [12].

Mechanické vlastnosti hydrogelů by měly být takové, aby si hydrogel byl schopný zachovat svou fyzickou strukturu po celou dobu potřeby jeho aplikace. Jeho vlastnosti je možné ovlivnit stupněm zesíťování. Zvýšením stupně síťování je možné docílit silnějšího hydrogelu, avšak tímto zvýšením dojde k procentuálnímu snížení schopnosti elongace, což vede ke vzniku křehčí struktury. Proto je potřeba najít vhodný stupeň zesíťování, který by dal dostatečně silný, ale zároveň i elastický hydrogel. Kopolymerace s ko-monomerem může způsobit vznik vodíkových vazeb uvnitř hydrogelu, které je možné využít k dalšímu ovlivnění vlastností hydrogelu. Mechanické vlastnosti hydrogelů jsou velmi důležité zejména pro potřeby farmaceutického a biomedicínského průmyslu. Různé mechanické vlastnosti jsou potřeba v různých aplikacích od opravy vazů a šlach, přes obvazový materiál na rány až po tkáňové inženýrství jako např. náhrada chrupavek [12, 13].

Aplikačně je velmi důležité, aby hydrogely byly biokompatibilní a netoxické. Je třeba, aby prošly různými cytotoxickými testy či *in-vivo* testy toxicity. Biokompatibilita se v základu skládá ze dvou faktorů, které ji popisují. Prvním je tzv. biologická bezpečnost, tedy vhodná odpověď na specifický podnět, nejen systémový, ale i lokální, nepřítomnost cytotoxicity, mutagenezí nebo karcinogenů. Druhým faktorem je bio-funkce, tedy schopnost materiálu provádět takové úkony, které se od něj požadují. Většina problémů, které s biokompatibilitou nastávají, jsou nezreagované monomery, oligomery a iniciátory, které unikají během aplikace [12].

Jak je zřejmé a částečně i naznačeno v předešlých odstavcích, tak hydrogely mají neskutečně široký aplikační potenciál. Je možné je nalézt i v odvětvích, která by málokdo očekával. Jedním z takových odvětví, které využívají absorpčních schopností hydrogelů, je výroba pln [14]. Další ne zcela zřejmou aplikací, která využívá jejich botnací vlastností, je parfémový průmysl [15]. Dalším už známějším a očekávanějším odvětvím je kosmetický průmysl [16]. Hojně se uplatňují i v medicíně. Přesněji v plastické chirurgii [17]. Uplatnění našly také v imunoterapii [18]. Zcela běžně se také využívají v gelové elektroforéze [19]. Velké uplatnění a potenciál nalézají jako nosiče léčiv [20], v zemědělství [21] nebo v elektronice [22].

3.1.3 Agaróza

Agaróza je polysacharid, který je purifikován z agaru, který je získáván z různých druhů červených řas [23]. M. Duckworth a W. Yaphe ji ve své publikaci [24] definovali jako směs agarových molekul s nejnižším obsahem náboje, a tedy s největší schopností gelovat, frakcionovanou z celého komplexu molekul agaru, které se všechny liší v rozsahu substituce nabitými skupinami.

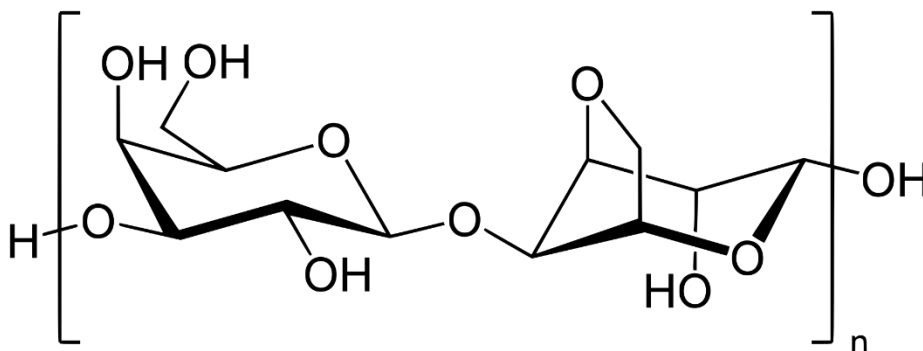
Zájem o agarózu se začal projevovat až od roku 1962 [25], kdy Hjertén hledal vhodný, elektricky neutrální polysacharid pro elektroforézu a chromatografii. Právě agaróza splnila jeho požadavky a své výsledky publikoval v práci *Agarose as an anticonvection agent in zone electrophoresis*.

Agaróza je schopná velmi jednoduše tvořit gely. Mechanismus gelace byl popsán Reesem a následně také demonstrován Arnottem a jeho skupinou. Gelace začíná posunem řetězce z náhodné smyčky do dvoušroubovice, což je následně doprovázeno shlukem dvoušroubovic ke konci gelace. Velikost pórů závisí na koncentraci a typu agarózy, ale většinou se jedná o velikost 100 až 300 nm. Agaróza je schopna tvořit poměrně pevné gely i při nízké koncentraci ($\leq 6\%$). Pevnost gelu je definována jako síla, která musí být aplikována, aby došlo k roztržení gelu. Ke ztrátě pevnosti gelu dochází se stárnutím vzorku tím, že dochází ke spontánní hydrolýze polysacharidového řetězce. K rozpuštění agarózového gelu je potřebná určitá energie, která se zvyšuje s rostoucí koncentrací gelu. Teplota gelace je taktéž ovlivněna koncentrací [26].

3.1.3.1 Struktura agarózy

Agaróza je biokopolymer skládající se ze střídajících se jednotek β -D-galaktózy a 3,6-anhydro- α -L-galaktózy (Obrázek 2). Na hlavní řetězec jsou nepravidelně substituovány sulfátové estery, methylové estery nebo pyruvátové zbytky. Molekuly lineární agarózy agregují ve zředěných roztocích a v solové fázi vytvářejí dlouhá klubka vláken. U mikrogelových domén dochází

k tvorbě vodíkových můstků, které drží strukturu pohromadě. Při gelaci dochází k agregaci vláknenných klubek a mikrogelových domén do stálých pevných strukturních jednotek [27].



Obrázek 2: Strukturní vzorec agarózy [28]

3.1.3.2 Využití agarózy

Agaróza je termoreverzibilní a může být modifikována, aby se rozpouštěla a gellovala při různých teplotách. To umožňuje její použití v celé řadě aplikací v mnoha různých průmyslových a vědeckých odvětvích, mezi které patří potravinářský průmysl, molekulární biologie, buněčná biologie a tkáňové inženýrství. Jelikož je agaróza bez náboje a hydrofilní, dělá to z ní ideálního kandidáta pro gelovou elektroforézu nebo různé buněčné testy, při kterých je buněčná adheze nežádoucí. Právě její využití při gelové elektroforéze je naprosto zásadní a v tomto směru je jí věnována obrovská pozornost (např. [29–31]) [32].

Pro agarózové gely je důležitými parametry koncentrace, velikost pórů a mechanické vlastnosti. Velmi důležitým poznatkem je to, že tyto vlastnosti jdou kontrolovat a upravovat, a to zejména pro potřeby aplikace v tkáňovém inženýrství. Už v roce 1997 Pernodet studoval agarózové póry pomocí mikroskopu atomárních sil (AFM). Zde zjistil, že velikost pórů velmi závisí na koncentraci hydrogelu [33]. Právě této skutečnosti se hojně využívá ke zdokonalení elektroforetické účinnosti a regulaci transportních vlastností. To je užitečné zejména při skafoldové architektuře, se kterou je důležité pracovat tak, aby určitým způsobem napodobovala extracelulární matici (ECM) a docházelo k dostatečnému přísunu živin. Věnuje se tomu celá řada autorů (příkladem [34–36]) [32].

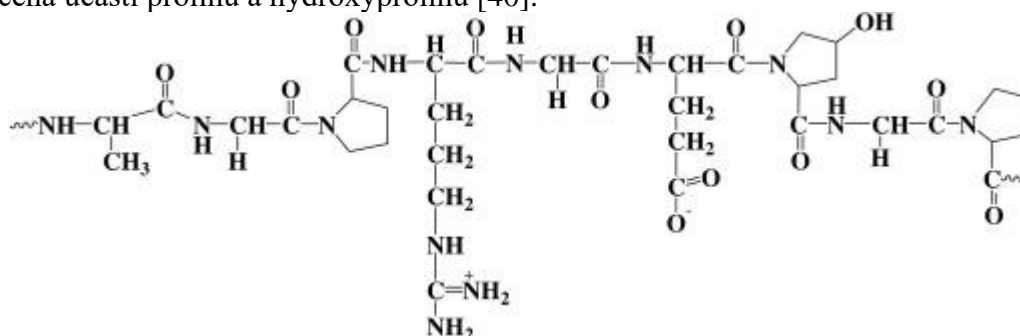
3.1.4 Želatina

Želatina je rozpustná proteinová sloučenina získaná částečnou hydrolyzou kolagenu, což je hlavní vláknitá proteinová složka v kostech, chrupavkách anebo kůžích. Proto je zřejmé, že vlastnosti želatiny jsou výrazně ovlivněny jeho zdrojem, a to zejména věkem zvířete a typem kolagenu. K dnešnímu datu bylo identifikováno až 27 různých typů kolagenu, kolagen typu I je nejběžněji se vyskytujícím kolagenem v pojivové tkáni [37].

Želatina vzniká spojením několika polypeptidových řetězců, které tvoří trojitou helikální konformaci. Každý ze tří řetězců v trojité helikální šroubovici vyžaduje přibližně 21 zbytků k dokončení jednoho vrutu. Skládá se z řad 50–1000 aminokyselin, které jsou vzájemně spojeny. Kolagen typu I je produkován z kůže a kostí skládajících se ze dvou řetězců $\alpha 1$ (I) a jednoho řetězce $\alpha 2$ (I). Každý z těchto dvou řetězců má molekulovou hmotnost 95 kDa o šířce okolo 1,5 nm a délce okolo 0,3 μm [38].

Při teplotě nad 40 °C a ve vodě při koncentraci až do 300 g·dm⁻³ tvoří želatina nízko viskozitní roztoky. Ty při ochlazení až na laboratorní teplotu začnou přecházet na transparentní, gumovité, termoreverzibilní gely. Tvorba vnitřních sítí je způsobena tvorbou segmentů mezimolekulární trojitě šroubovice. Ty pak mají stejnou strukturu jako kolagen [39].

Chemickou strukturu želatiny je možné vidět níže (Obrázek 3). Na základně chemického složení se želatina liší od kolagenu. V kolagenu se struktura skládá ze tří α řetězců, na rozdíl od želatiny, kde jsou tři řetězce různé. Tyto řetězce jsou α , β a γ řetězce. Želatina je strukturně složena z řetězců tří opakujících se aminokyselin složených z glycinu, prolinu a hydroxyprolinu. Funkční vlastnosti želatiny a stabilita trojitě šroubovice je do značné míry určena účastí prolinu a hydroxyprolinu [40].



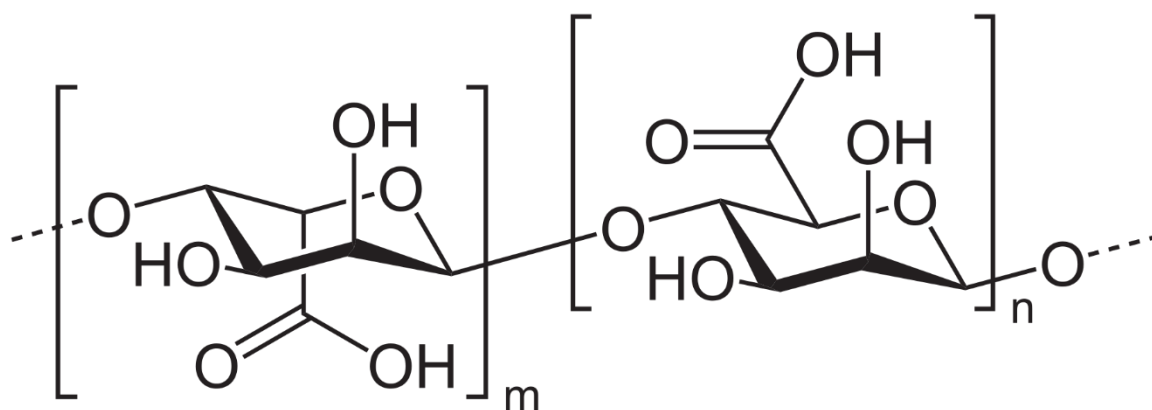
Obrázek 3: Želatina [41]

3.1.5 Alginát sodný

Jedná se o přírodně vyskytující se polysacharid z hnědých mořských řas. Je hydrofilní a při hydrataci vytváří viskózní gumový materiál. S kovy, jako jsou sodík či vápník, se jeho soli označují jako algináty. Jeho barva se pohybuje od bílé až po žlutohnědou. Po celém světě se sbírá mnoho hnědých mořských řas třídy *Phaeophyceae*, které se zpracovávají a převádějí na alginát sodný. Ten se používá v mnoha průmyslových odvětvích včetně potravin, krmiv pro zvířata, hnojiv, textilního tisku a farmacie. Potravinářský alginát je schválenou přísadou využívanou při zpracování a výrobě potravin [42]. Je významnou složkou biofilmů produkovaných bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, které jsou hlavním patogenem nacházejícím se v plicích lidí, kteří mají cystickou fibrózu [43].

Strukturně se jedná o lineární kopolymer s homopolymerními bloky (1→4) síťovaných β -D-manuronových (M) a α -L-guluronátových (G) zbytků kovalentně spojených dohromady v různých sekvencích nebo blocích. Monomery se mohou vyskytovat v homopolymerních blocích G-zbytků, M-zbytků nebo střídajících se M a G zbytků (Obrázek 4).

Iontově indukovaná gelace je jednou z nejdůležitějších funkčních vlastností alginátu a je důvodem jeho obrovského aplikačního potenciálu. Obecný gelační mechanismus alginátu je dobře známý jako model „egg-box“, což by se dalo volně přeložit jako *krabice na vejce*, který byl navržen **Grantem a spol.** [44] v roce 1973 a popisuje gelaci alginátu pomocí Ca^{2+} kationtů. Alginát je také schopen vytvářet gely prostřednictvím iontově indukované gelace s jinými dvojmocnými nebo vícemocnými kationty, jako jsou Ba^{2+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} atd. [45]. Alginátové gely vytvořené pomocí těchto kationtů vykazují podobnosti a odlišnosti v jejich gelovém mechanismu, síle gelu, viskoelasticitě a biokompatibilitě [46].

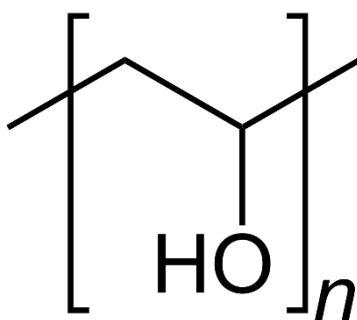


Obrázek 4: Chemická struktura alginátu, která vykresluje spojení manuronových a guluronátových zbytků

Své využití našly algináty při obalování ovoce a zeleniny, jako vedlejší produkty mikrobiální a virové ochrany, a také jako gelující, zahušťující, stabilizační nebo emulgační činidlo v potravinářství. Uplatnění našly také ve farmaceutickém průmyslu, kde mají funkci při ustáleném uvolňování léčiv nebo při hojení ran, kde plní funkci obvazového materiálu [47].

3.1.6 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (PVAL) je ve vodě rozpustný syntetický polymer. Jedná se o ataktický materiál, který vykazuje krystalinitu. Má vynikající filmotvorné, emulgační a adhezivní vlastnosti. Je odolný vůči olejům, tukům a rozpouštědlům. Má vysokou pevnost v tahu a pružnost, a také dobré bariérové vlastnosti. Tyto vlastnosti jsou ovšem závislé na vlhkosti, kdy voda absorbovaná při vyšších hodnotách vlhkosti, působí jako změkčovadlo, které snižuje pevnost polymeru v tahu, ale zvyšuje jeho tažnost a pevnost v roztržení. Jedná se o hojně využívaný polymer, což způsobuje zvýšený zájem o jeho toxicitu a biodegradabilitu. Roztoky s koncentrací vyšší než 5 % PVAL jsou toxické pro ryby [48]. Je biodegradabilní, ale rozkládá se poměrně pomalu [49].

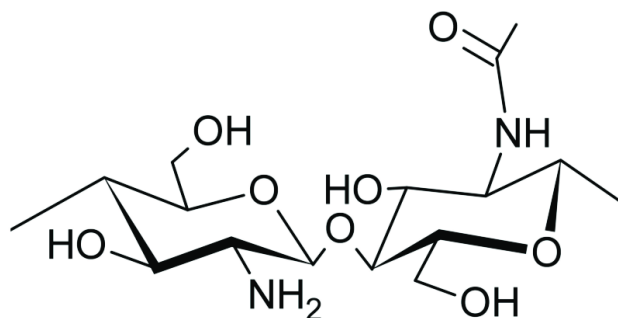


Obrázek 5: Polyvinylalkohol

Tento biokompatibilní, syntetický polymer, obsahuje velké množství hydroxylových funkčních skupin (Obrázek 5), které mohou být zesíťovány za vzniku hydrogelů. Díky jeho jedinečné struktuře lze mechanické vlastnosti PVAL dále zlepšit na základě zajištění dobré biokompatibility [50]. PVAL hydrogely demonstrují vysokou pevnost a houževnatost s vynikajícími základními vlastnostmi a funkcionalizací, což tomuto materiálu předurčuje vysoký aplikační potenciál v mnoha oblastech [51, 52].

3.1.7 Chitosan

Chitosan je lineární polysacharid, který se skládá z náhodně se střídajících jednotek β -(1 \rightarrow 4)-vázaného D-glukosaminu (deacetylovaná část) a N-acetyl-D-glukosaminu (acetylovaná jednotka) (Obrázek 6). Vyrábí se ošetřením chitinových schránek krevet a jiných korýšů alkalickou látkou (např. hydroxidem sodným). Chitosan má řadu komerčních a biomedicínských využití, jako např. v zemědělství, kde se využívá jako prostředek k ošetření semen a jako biopesticid, který pomáhá rostlinám bojovat s houbovými infekcemi. Při výrobě vína může být použit jako čerící prostředek, který také pomáhá předcházet kažení. Využívá se také v samoopravitelném polyuretanovém nátěru. V lékařství se používá v obvazech ke snížení krvácení a jako antibakteriální činidlo, nebo také jako pomocné činidlo pro nosiče léčiv skrze kůži [53, 54].



Obrázek 6: Chitosan [55]

Chitosan je jediným přírodním kationtovým polymerem, který našel četné aplikační využití díky svým jedinečným vlastnostem. Je rozpustný ve vodných roztocích, takže lze snadno připravit jeho vodné roztoky nebo také hydrogely. Jeho antibakteriální a antioxidační vlastnosti jej činí vynikajícím kandidátem pro hydrogelové biomedicínské aplikace [56, 57].

3.2 Amfifyly

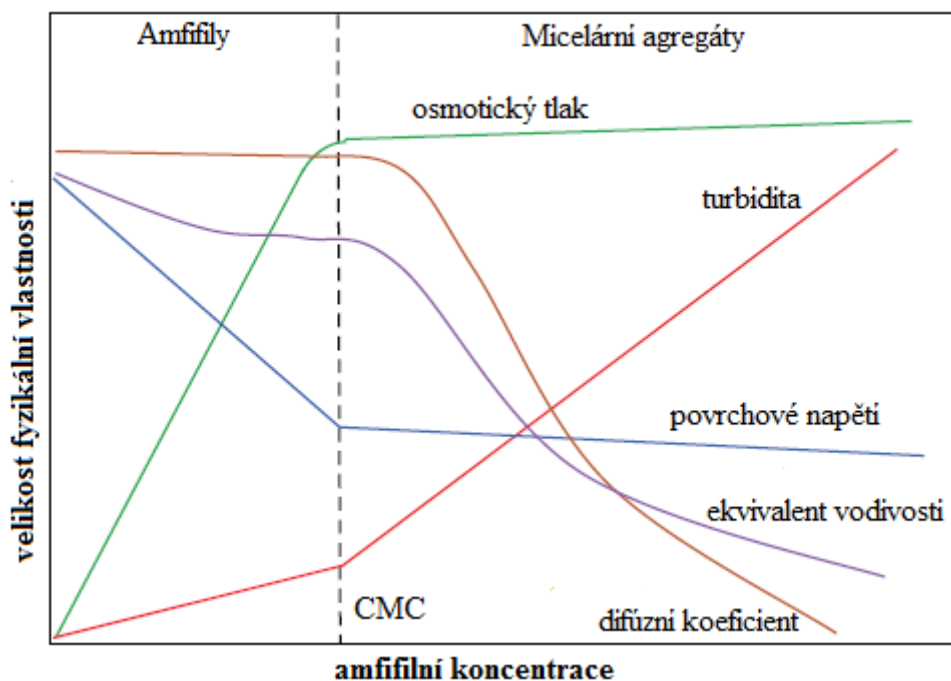
Amfifyly jsou sloučeniny, které mají jak hydrofilní, tak lipofilní (taktéž hydrofobní) vlastnosti. U konvenčních amfifilů skládajících se z hlavové části a ocasové části, se lipofilní část obvykle skládá z dlouhého uhlíkového řetězce, a hydrofilní hlavová část obvykle bývá buďto iontová nebo neiontová. Neiontové tenzidy se obvykle skládají buďto z polyetherových nebo polyhydroxylových částí. Valná většina konvenčních neiontových tenzidů se skládá z hydrofilního polyethylenoxidového řetězce, který je spojen pomocí hydrofobního alkylového řetězce. Aniontové tenzidy se běžně skládají ze záporně nabitých hlavových skupin a kladně (opačně) nabitých iontů (jako jsou sodné, draselné, nebo amoniové ionty). Jako polární skupiny se běžně používají karboxyláty, sulfáty, sulfonáty a fosfáty. Kationtové tenzidy se skládají z kladně nabitých hlavových skupin, mezi které patří kvartérní amoniové soli, a halidové ionty bývají opačně nabitými ionty. Dalším druhem jsou zwiterionické amfifyly, u kterých má hlavová skupina jak pozitivní, tak negativní náboj. Příkladem je fosfolipidový fosfatidylcholin (PC) schopný tvořit vezikuly. Pokud zwiterionity obsahují karboxyláty a protonovaný amoniový iont, tak se může chovat jako anion v případě vysokého pH, a naopak jako kation při nízkém pH [58, 59].

Amfifilita, též povrchová aktivita, způsobuje, že polární hlavová skupina interaguje s vodou, zatímco nepolární lipofilní řetězec bude migrovat nad rozhraní (ve vzduchu nebo v nepolární

tekutině). V tomto případě narušení kohezivní energie na rozhraní upřednostňuje separaci mikrofáze mezi rozpouštědlem a dispergovanou fází amfifilu a následnou tvorbou mnoha menších uzavřených rozhraní nebo agregátů podobných micelám. Kvůli jejich schopnosti snižovat amfifilní mezifázové napětí se často nazývají surfaktanty, jako povrchově aktivní látky. Tyto jejich vlastnosti je přímo uzpůsobují k využití jako emulgátory, detergenty, dispergátory, smáčedla nebo pěnící činidla [58, 59].

3.2.1 Amfifilní uspořádání

Samouspořádání je proces, který narušuje stavební bloky řídicí se specifickými vzájemnými interblokovými interakcemi, čímž dochází k tvorbě uspořádaných struktur spontánní organizací. Hlavním požadavkem na vhodnou spontánní organizaci vedoucí k samouspořádané struktuře je minimum energetické konfigurace v rovnováze. Lépe řečeno, samouspořádaná struktura má nižší entropii než izolované složky, kdežto okolí obsahuje více neuspořádanou konfiguraci, která má vyšší entropii. Z termodynamického pohledu je samouspořádání a tvorba micel amfifilních molekul řízena konkurencí mezifázové energie jádra micely s rozpouštědlem a konformační deformační energií rozpustných řetězců vyzařovaných z jádra. Amfifilní samouspořádání je možné experimentálně demonstrovat pomocí měření diskontinuity, která je spojována s tvorbou micel při dané koncentraci CMC (kritická micelární koncentrace) a teplotě CMT (kritická micelární teplota). Společně s teoretickým modelováním a simulacemi a také dalšími experimentálně získanými daty z měření konduktivity, osmotického tlaku, povrchového napětí a fluorescence chromoforu je možné odhadnout CMC, jak je zřejmé i z obrázku níže (Obrázek 7) [59].

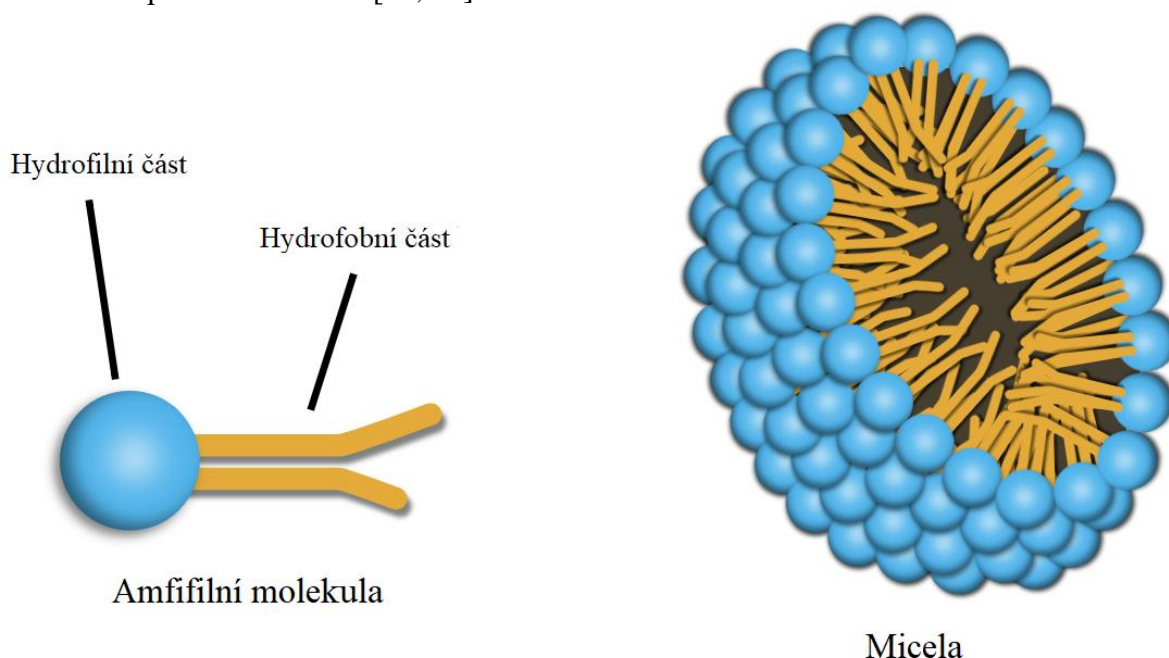


Obrázek 7: Změna fyzikálních vlastností a jejich diskontinuita spojená s tvorbou micel při CMC amfifilů ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59])

3.2.2 Micely

Micely jsou agregáty (nebo supramolekulární celky) molekul povrchově aktivních látek (PAL) dispergovaných v kapalině tvořící koloidní suspenzi (též asociativní koloidy). Zastávají malý průměr, běžně v rozmezí od 5 do 100 nm [60], v závislosti na typu hlavních skupin a délce alkylových řetězců. Jejich molekuly povrchově aktivních látek mohou být agregovány buď kationtovými, aniontovými, zwitteriontovými nebo neiontovými skupinami [61]. Ve vodném roztoku může být nepolární uhlovodíkový řetězec („ocas“) uspořádán do středu kulovité struktury a polární část („hlava“) směrem ven, za účelem vytvoření micely, protože má hydrofobní vlastnosti (Obrázek 8). Mohou být vytvořeny z mastných kyselin, fosfolipidů nebo jiných podobných molekul.

Při tvorbě micelární struktury může interakce mezi skupinami polárních hlav a okolní vodou způsobit oddělení mezi hydrofobními a hydrofilními složkami. Výsledkem jsou flexibilní a porézní micely. Tyto micely jsou považovány za vhodný model pro biologické aplikace a nosiče léčiv, protože mohou zvýšit rozpustnost léčiva, snížit toxicitu, prodloužit dobu cirkulace a zlepšit cílení nosičů [62, 63].

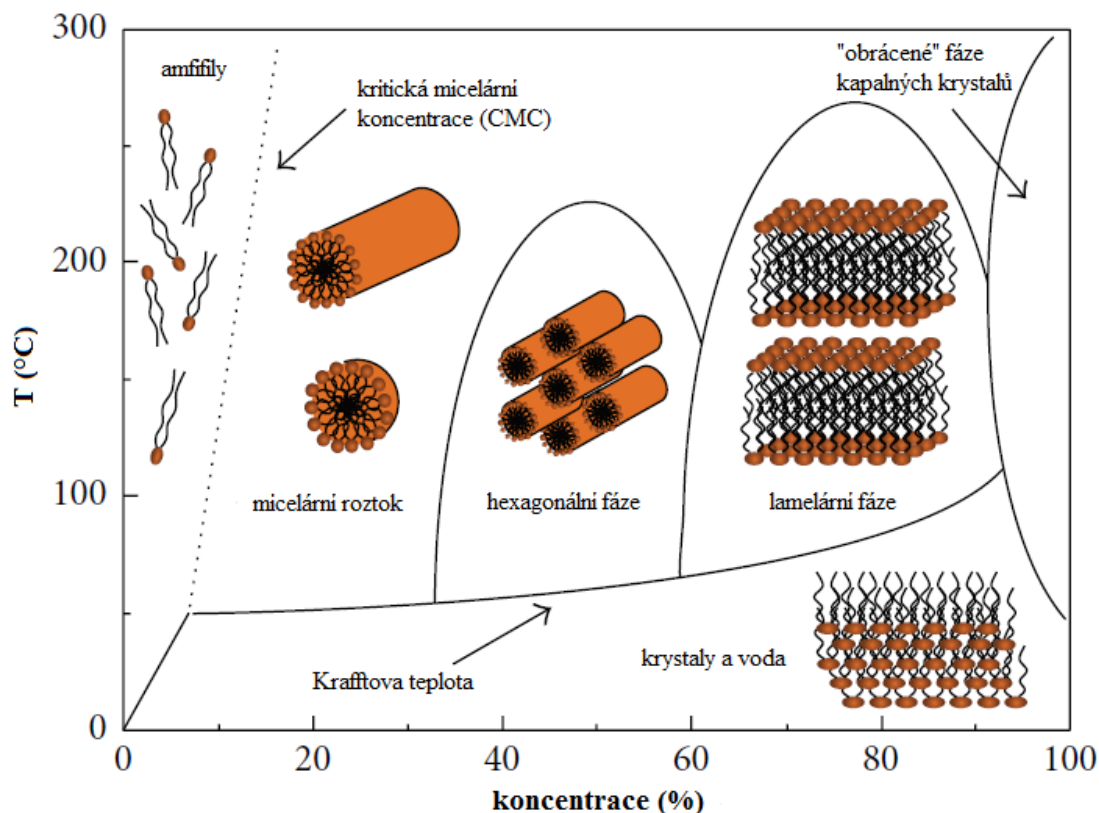


Obrázek 8: Struktura micely (převzato z [64])

Micely jsou většinou složeny z amfifilních molekul ve vodném roztoku, které se skládají do struktury obsahující jak hydrofobní, tak hydrofilní segmenty. V případě snížení koncentrace jsou amfifily přítomny jako malé jednotky (monomery) v pravém roztoku, zatímco při vysoké koncentraci dochází k agregaci a samouspořádání, což vede ke tvorbě micel. Kritická koncentrace potřebná k vytvoření micel se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC). Micely vytvořené nad jejich CMC jsou poháněny dehydratací hydrofobních ocasů, čímž dochází k entropickému stavu. Kromě toho bude jádro micel tvořeno van der Waalsovými vazbami. V konečné struktuře je hydrofilní obal tvořen zesíťovanými vodíkovými můstky s vodou obklopující jeho vnější povrch. Micely mohou být sestaveny v různých morfologiích, jako jsou koule, tyčinky, tubuly, lamely a vezikuly, v závislosti na kvalitě rozpouštědla, délce řetězce a teplotě [60, 65, 66].

3.2.3 Amfifilní struktury

Prvně je třeba zmínit, že množství amfifilních molekul ovlivňuje morfologii samouspořádaných struktur. Při nízkých koncentracích jsou molekuly náhodně rozptýleny. Se zvyšující koncentrací amfifilu dochází k samoseskupování nanostruktur, které jsou velmi podobné termotropickým kapalným krystalům. Hlavním předpokladem pro tvorbu fází kapalných krystalů je anizotropie. Zatímco pro termotropické kapalně krystaly není vyžadováno žádné rozpouštědlo, tak pro lyotropní kapalně krystaly (LLC, z aj. *lyotropic liquid crystal*) vytvořené z amfifilních molekul ve vybraném rozpouštědle, je anizotropie založena hlavně na různých rozpustných vlastnostech různých zakončeních amfifilů a na intermolekulárních interakcích [59, 67].



Obrázek 9: Typický LLC fázový diagram amfifilů rozpuštěných ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59])

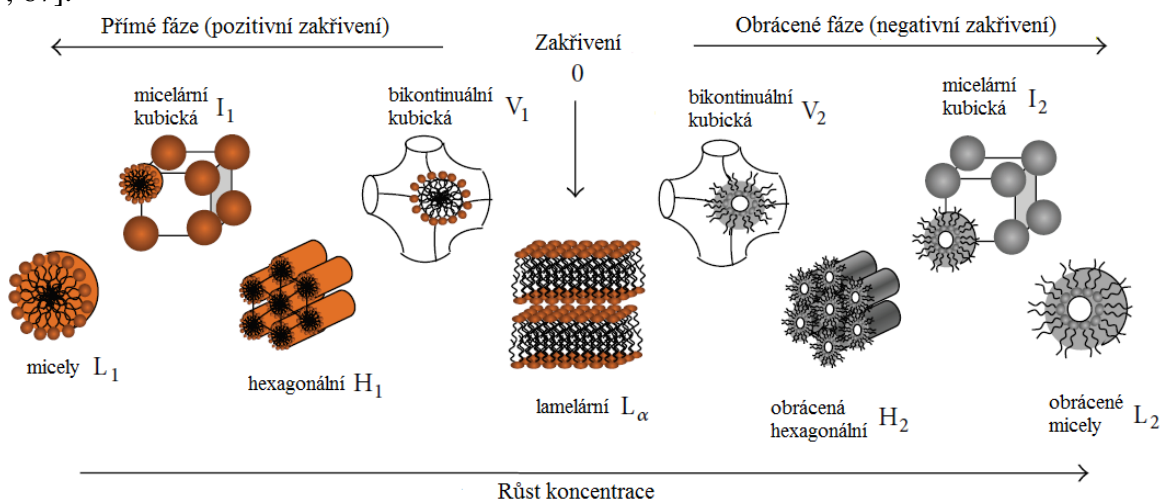
Rozdílné druhy lyotropních krystalových fází surfaktantových systémů je možné pozorovat po celém koncentračním rozsahu. Obrázek 9 vykresluje typický fázový diagram LLC. Surfaktanty rozpustné ve vodě obvykle vykazují Krafftovu teplotu, definovanou jako teplotu (T_K), pod kterou jsou amfifilní krystaly nerozpustné ve vodě. Rozebereme-li fázový diagram (Obrázek 9), tak při extrémně vysokých koncentracích je možné obvykle pozorovat obrácenou (nebo převrácenou) LLC fázi.

Kubická LLC fáze nese jméno podle kubicky uspořádaných molekulárních agregátů složených z „normálních“ micel ve vodě (I_1 fáze). Kubická LLC fáze může také obsahovat obrácenou micelární fázi (I_2 fáze), která se obvykle vyskytuje mezi obrácenou hexagonální (H_2) a obrácenou micelární fází (L_2). Kubické fáze jsou viskóznější než přilehlé hexagonální nebo lamelární fáze.

V hexagonální LLC fázi tvoří amfifily nekonečně dlouhé micelární válce, které se uspořádají do hexagonální mříže, jejichž rozstup je závislý na relativním množství vody a surfaktantu. Stejně jako u kubické, tak i hexagonální fáze má dva různé druhy struktur. A to „přímou“ hexagonální fázi (H_1) a obrácenou hexagonální fázi (H_2), kde jsou micelární válce obrácené s hydrofobními řetězci vystupující ven z válce. Hexagonální LLC typicky obsahují 30-60 % vody, a i přesto jsou poměrně viskózní.

Některé systémy mohou obsahovat mezi hexagonální a lamelární fází hustou, vysoce viskózní izotropní fázi, ve které dochází k tvorbě koulí. Tyto kulovité útvary se můžou na sebe nabalovat, čímž dochází ke vzniku bikontinuální kubické fáze (V_1 a V_2).

Poslední ze struktur je lamelární LLC fáze (L_α), která se skládá z vrstev uspořádaných amfifilů a obvykle bývá méně viskózní než hexagonální LLC, jelikož paralelní vrstvy jsou pro kluz přes sebe přívětivější (Obrázek 10). Právě lamelární struktury jsou velmi důležité konfigurace, protože se jedná o struktury, které se vyskytují i v biologických membránách. V buněčných biomembránách, tvořených převážně kapalnými krystalickými fosfolipidovými dvojvrstvami, nejsou uhlovodíkové řetězce rigidní a k přechodu na gelovou fázi dochází při teplotě gelace T_{gel} . Pod teplotou T_{gel} se hlavová skupina orientuje uspořádaně tak, aby docházelo k přímé konformaci s uhlovodíkovými řetězci. Tekutost biomembrán ovlivňuje pohyb makromolekul, které jsou přítomné uvnitř fosfolipidové matrice (např. membránové proteiny) [59, 67].

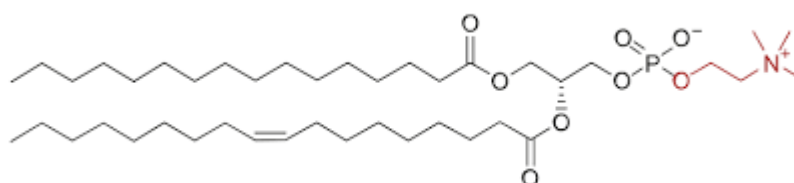


Obrázek 10: Schématické znázornění typické progresse fází jako funkce koncentrace amfifilu rozpuštěného ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59])

3.2.4 Lecitin

Lecitin (fosfatidylcholin) je hlavní složkou surového sójového oleje. Avšak surové lecitiny jsou komplexní směsí lipidů, jmenovitě fosfatidylcholinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylethanolaminu a fosfatidylinositolu jako hlavních složek. Jedná se o amfifilní látku, jejíž hlavová skupina je hydrofilní a ve vodě rozpustná a jejíž ocasová nepolární skupina je hydrofobní a rozpustná v tucích (Obrázek 11). Lecitin hraje důležitou roli v normálním metabolismu, tvoří například součást membránových fosfolipidů a některé metabolity jsou nosiče informací v buňkách. Cholin odvozený z lecitinu hraje roli v mozkových buňkách při resyntéze nových molekul fosfatidylcholinu potřebných pro buňky, které obalují axony neuronů [68, 69].

Lecitin se používá jako emulgátor v potravinářských i farmaceutických aplikacích. Primárním zdrojem lecitinu jsou sójové boby, vejce, rýže, slunečnicová semínka a řepkové semeno. Navzdory jeho širokému použití jako potravinářské složky, byly alergické reakce na sójový lecitin popsány pouze při několika příležitostech. Z těchto informací vyplývá, že lecitin je tělu vlastní, a tudíž při jeho konzumaci nebo jiném kontaktu s lidským tělem, i ve větších koncentracích, nehrozí negativní reakce. To činí lecitin skvělým aditivem pro přípravu medicínských materiálů s ovlivnitelnými vlastnostmi [70].



Obrázek 11: Vzorec lecitinu (fosfatidylcholinu) [71]

Složením sójového lecitinu se již zabývala řada publikací a nejběžněji se uvádí, že se skládá z triglyceridů, mastných kyselin, pigmentů, sterolů, sterolových glykosidů, esterů, tokoferolů a sacharidů. Procentuální zastoupení různých látek lze shrnout do následující tabulky (Tabulka 1) [72].

Tabulka 1: Procentuální zastoupení látek v sójovém lecitinu [72]

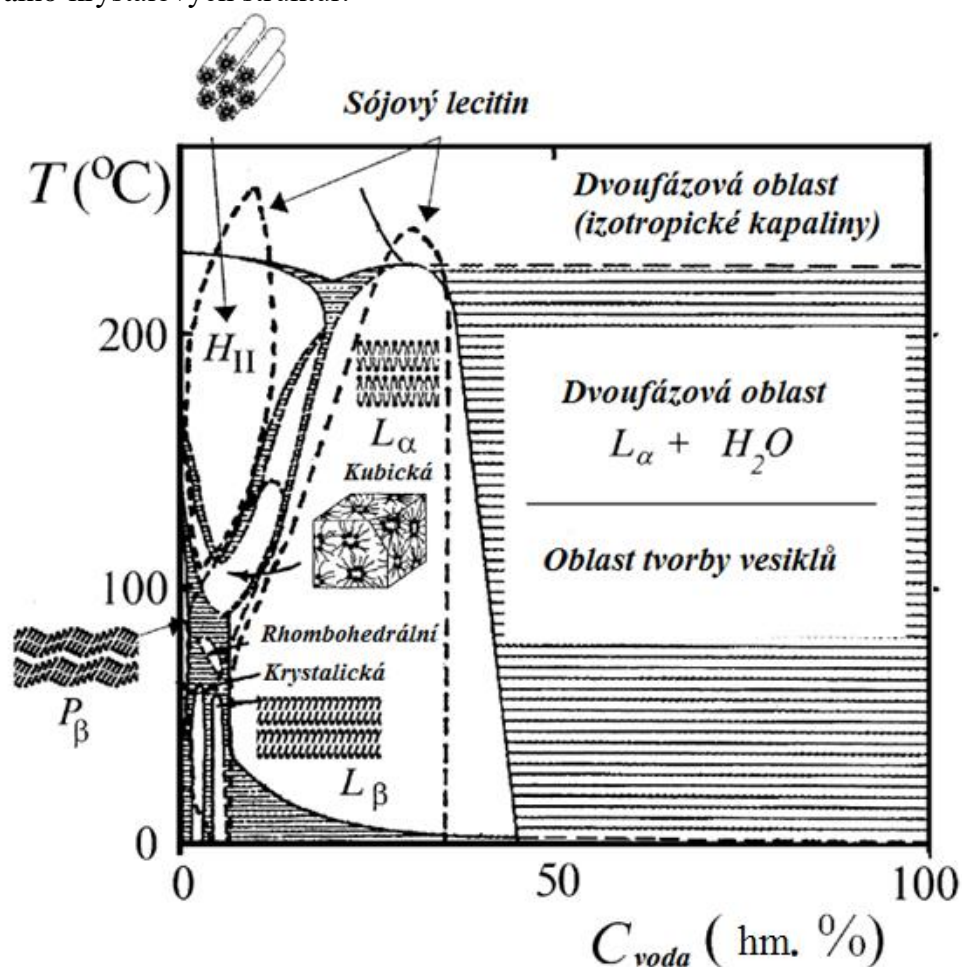
	%
Fosfatidylcholin	19–21
Fosfatidylethanolamin	8–20
Inositol fosfatidy	20–21
Další fosfatidy	5–11
Sójový olej	33–35
Steroly	2–5
Volné uhlovodíky	5
Vlhkost	1

Ve stopových množstvích se ve směsi vyskytují také tokoferol, biotin, kyselina listová, thiamin, riboflavin, kyselina pantothenová, pyridoxin a niacin [72].

Lecitin je rozpustný nebo rozptýlitelný v prakticky všech rozpouštědlech, jako jsou alifatické rozpouštědla, halogenové a aromatické uhlovodíky, alkoholy, estery, ethery, voda a vodné roztoky. Jediným rozdílem mohou být aceton a některé ketony. Právě aceton se využívá k precipitaci lecitinu z roztoků a k separaci z látek rozpustitelných v acetonu [73, 74]. Lecitin se samouspořádává do různých koloidních struktur a jejich roztoků. To velmi silně závisí na typu a druhu rozpouštědla. K tomu navíc přítomnost různých nečistot nebo dalších fosfolipidů (PL) velmi výrazně ovlivňuje fázové chování a vlastnosti vytvářejících se struktur.

Binární fázový diagram kombinující lecitin ze sójových bobů a vaječného žloutku s vodou, je prezentován v následujícím obrázku (Obrázek 12). Lecitin vytváří pravé roztoky při velmi malých koncentracích, protože má silnou náchylnost k samouspořádání do agregátů.

Micelární agregáty se běžně nevyskytují ve vodných roztocích. Obvykle se samouspořádává do kapalno-krytalových struktur.



Obrázek 12: Binární fázový diagram pro lecitin z vaječného žloutku a sójových bobů. Lecitin ze sójových bobů je vyznačen v obrázku přerušovanou čarou. Jak je zřejmé z obrázku, tak se fázové chování obou lecitinů mezi sebou výrazně neliší [73]

Lecitin je velmi zajímavý pro svou schopnost tvořit různé kapalno-krytalové struktury při přijatelné koncentraci a laboratorní teplotě. Toho by bylo možné využít i aplikačně, čehož se tato práce snaží přiblížit. V roce 1967 Donald M. Small publikoval své výsledky chování hydratovaného i suchého lecitinu v závislosti na množství přítomné vody a teploty. Dokázal, že suchý lecitin se do teploty okolo 40 °C vyskytuje v alespoň částečné krystalické formě. Nad touto teplotou (do 88 °C) se uspořádává do jakési fáze, která je podobná vosku. Při teplotě 88–109 °C tvoří viskózní izotropickou fázi, která se uspořádává do kubických útvarů. Poté až do své teploty tání (231 °C) tvoří lamelární útvary [75, 76].

Hydratovaný lecitin vesměs tvoří lamelární struktury (výjimkou je malá zóna kubické fáze při nízké koncentraci vody a vysoké teplotě). Tato fáze při teplotě 20 °C obsahuje až 45 % vody. Směsi obsahující větší množství vody se rozdělují na dvě fáze, na lamelární krystalickou fázi a vodu [75].

Má emulgační a lubrikační vlastnosti a zároveň je povrchově aktivní látkou. U lidí může být úplně metabolizován, tudíž je lidmi dobře tolerován a není toxickým při požití. Uplatnění nalézá

v potravinářství, ve farmaceutickém průmyslu, v průmyslu barev nebo v krmivech pro zvířata [77].

3.2.5 Klasické tenzidy

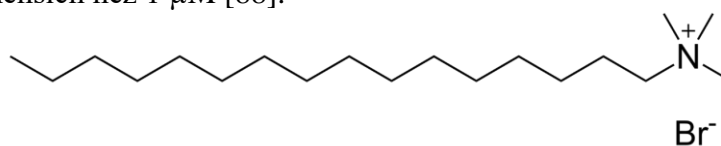
Pod pojmem „klasický“ tenzid si člověk představí látky, obvykle nalezitelné v čistících prostředcích. Povrchově aktivní látky jsou chemické sloučeniny, které snižují povrchové napětí mezi dvěma kapalinami, mezi plynem a kapalinou nebo mezipovrchové napětí mezi kapalinou a pevnou látkou. Povrchově aktivní látky mohou působit jako detergenty, smáčedla, emulgátory, pěnidla nebo dispergátory. Snížení povrchového napětí je způsobeno jejich amfifilními vlastnostmi, protože se skládají jak z hydrofilních, tak i hydrofobních částí.

Používají se v široké škále průmyslových aplikací [78]. V zemědělství se například fytosanitární prostředky aplikují ve formě aerosolu, který někdy obsahuje dispergovanou organickou fázi k rozpouštění herbicidů a insekticidů [79]. V potravinářských výrobcích přispívají ke kondicionování krémů, suspenzí, emulzí a rozpustných nebo dispergovatelných prášků [80]. V těžebních procesech hrají důležitou roli při flotaci a vyluhování kovů, jako je železo, zinek neb uran [81]. Také v textilním průmyslu se využívají ke zlepšení výkonosti různých operací a zdokonalení vlastností různých výrobků [82]. I přes tyto informace může být jejich využití v medicínských aplikacích, kdy by přicházely do kontaktu s lidským tělem ve větším množství, problémová, a to zejména kvůli jejich toxicitě [83]. Proto je vhodné upozornit, že jejich použití ve většině případů slouží spíše jako modelové nežli přímo aplikační.

3.2.5.1 CTAB

Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) je kvartérní amoniový, kladně nabitý, tenzid (Obrázek 13). Jako většina surfaktantů, tak také on tvoří ve vodném roztoku micely. Kritická micelární koncentrace CTAB je 0,9–1,0 mM [84]. Své uplatnění nalézá v řadě různých odvětví od kosmetiky až po syntézu nanočástic. Konkrétně se s ním můžeme setkat například v medicínských aplikacích při izolaci DNA z tkáně obsahující velké množství polysacharidů [85], nebo při syntéze nanočástic, kde tenzidy mají klíčovou roli tím, že se adsorbují na povrch tvořící se nanočástice, čímž snižují její povrchovou energii [86].

Vzhledem k jeho častému použití v humánních produktech spolu s dalšími aplikacemi je nezbytné uvést informace o jeho toxicitě. Testy na zvířatech prokázaly, že požití méně než 150 g látky může vést k nepříznivým zdravotním účinkům nebo dokonce až ke smrti tím, že CTAB způsobí chemické popáleniny v jícnu a gastrointestinálním traktu. CTAB je také špatně absorbovatelné. Stejně jako i další kvartérní amoniové soli se CTAB využívá v kosmetice v koncentracích až 10 %. Kosmetika s takto vysokou koncentrací smí být pouze splachovacího typu, jelikož jako bezpečné se považují pouze do koncentrace 0,25 % [87]. Studie toxicity proběhly také na vlivu nanočástic připravených pomocí tenzidů na lidské kožní buňky. Tyto testy dokázaly, že CTAB zůstává toxické již při koncentraci 10 μM a netoxické při koncentracích menších než 1 μM [88].



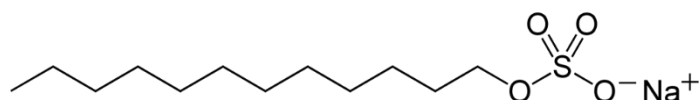
Obrázek 13: Strukturální vzorec CTAB

3.2.5.2 SDS

Dodecylsírán sodný (SDS) je záporně nabitá povrchově aktivní látka (Obrázek 14) velmi často se vyskytující v čistících nebo hygienických výrobcích. Stejně jako ostatní amfifilní látky, tak i SDS má uhlovodíkový ocas a polární hlavu, která z něj dělá užitečný čistící prostředek. SDS je schopné tvorby micel po překročení kritické micelární koncentrace, která je pro tento tenzid 8,0–8,2 mM [84].

Jak bylo naznačeno výše, tak se SDS využívá hlavně v pracích prostředcích na prádlo. Je také součástí mýdel na ruce, zubních past, šamponů, krémů na holení a přípravků do koupele, a to zejména díky své schopnosti pěnit, pro své povrchové aktivní vlastnosti a částečně také pro svůj zahušťující účinek [48]. Kromě toho našel své uplatnění také v potravinářství jako emulgátor a pomocný prostředek pro šlehání [89], při laboratorních aplikacích v čistících procesech pro extrakci RNA a DNA nebo při denaturaci proteinů při elektroforéze v SDS-PAGE [90].

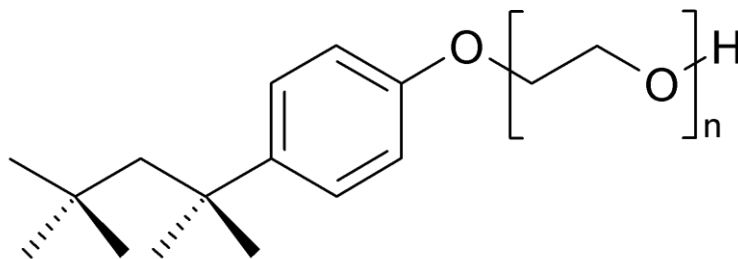
Stejně jako všechny detergenty je SDS schopné odstraňovat olej z pokožky, a může tedy způsobit podráždění očí a kůže [91]. Při požití SDS (např. v zubní pastě) může dojít ke vzniku aftů [92].



Obrázek 14: Strukturní vzorec SDS

3.2.5.3 Triton X-100

Jedná se o povrchově aktivní látku bez náboje, která má hydrofilní polyethylenoxidový řetězec a aromatickou uhlovodíkovou hydrofobní skupinu (Obrázek 15). Stejně jako téměř všechny povrchově aktivní látky, tak i Triton X-100 se používá jako čistící prostředek v laboratořích [93], ale také při lýze buněk k extrakci proteinu nebo organel, nebo k permeabilizaci membrán živých buněk [94]. Tvorba micel u tohoto neionogenního tenzidu nastává při jeho koncentraci 0,24–0,27 mM [84].



Obrázek 15: Strukturní vzorec Tritonu X-100

3.3 Reologie

Autorem pojmu „reologie“ je profesor Eugene C. Bingham, který také tuto vědu definoval. Jedná se o studium deformace a toku hmoty. Tuto definici přijala Americká reologická společnost (*American Society of Rheology*) v roce 1929 při svém vzniku [95].

Látky se při působení vnější síly mohou chovat různě. Pro popis látek existují dva mezní typy chování. Prvním z nich je *elastické chování*. To nastává, pokud účinkem vnější síly nastane

deformace, která vratně vymizí po jejím odstranění. Elastické chování vykazují pevné látky, u kterých se tedy vynaložená energie na deformaci ukládá, a následně po relaxaci látky se opět uvolní. Naopak pokud působením síly hmota teče a tok se zastaví po odstranění vnější síly, tak mluvíme o *viskózním chování*. Toto chování je typické pro kapaliny, u kterých je vynaložená energie disipována jako teplo. Avšak existují i látky, které existují mezi těmito typy chování. Jedná se o látky *viskoelastické* a u těchto látek je odezva na aplikovanou zátěž závislá na době působení vnější síly [4].

Popis výše zmíněného je možný díky pracím dvou mužů. Tím prvním byl Robert Hooke, který v roce 1678 publikoval práci s názvem „*True Theory of Elasticity*”. V této práci konstatoval, že síla každé pružiny je ve stejném poměru k jejímu napětí. Z této práce vyplívá tzv. Hookův zákon, který popisuje deformaci ideálně elastických pevných látek. Tento zákon říká, že deformace je přímo úměrná napětí materiálu a lze jej popsat pomocí vztahu:

$$\varepsilon = \frac{\sigma_n}{E}, \quad (1)$$

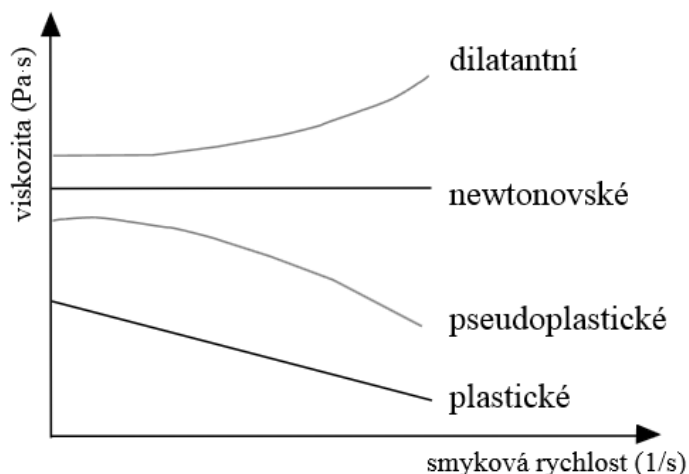
kde σ_n je normálové napětí, ε je relativní prodloužení, které lze také zapsat jako $\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}$ (příčemž Δl je prodloužení a l je délka), a E je tzv. Youngův modul pružnosti v tahu [95, 96].

Druhým mužem byl Isaac Newton, který se naopak od Hooka zabýval kapalinami a své bádání shrnul v publikaci „*Principia*”, která také vyšla v roce 1687. Zde představil svou hypotézu, že odpor, který vzniká z nedostatku klouzavosti stejných částí kapaliny, je úměrný rychlosti, s jakou jsou části kapaliny odděleny. Nedostatkem klouzavosti se v jeho hypotéze, v dnešní terminologii, myslí viskozita. Z tohoto textu také vznikl zákon, který nese jméno po autorovi a nazývá se Newtonův zákon a lze jej popsat následovně:

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma}, \quad (2)$$

kde σ je smykové napětí, η je dynamická viskozita a $\dot{\gamma}$ smyková rychlost [96].

Newtonův zákon platí pro ideálně viskózní látky, kterým se proto také říká newtonovské. Látky jde tedy rozdělit podle změn jejich viskozity při různé smykové rychlosti. Právě viskozita newtonovských látek je nezávislá na smykové rychlosti a je po celou dobu konstantní. Látky, jejichž viskozita je závislá na smykové rychlosti, a tedy neřídí se newtonovým zákonem, se říká nenewtonovské látky. Je možné je dále dělit na pseudoplastické, plastické a dilatantní. Viskozita pseudoplastických látek vykazuje newtonovské chování při nízkých smykových rychlostech, ale se zvyšujícími hodnotami se viskozita snižuje. Plastickým látkám se viskozita se zvyšující se smykovou rychlostí snižuje, a naopak dilatantním látkám se viskozita zvyšuje (Obrázek 16) [97].



Obrázek 16: Viskozitní křivky pro různé látky (překresleno z [97])

3.3.1 Viskoelasticita

V reálném světě se všechny materiály nějakým způsobem odchylojí od Hookova zákona. Například tím, že se chovají zároveň jako viskózní, tak i elastické látky. Viskózní část dodržuje Newtonův zákon a elastická část dodržuje Hookův zákon. Příkladem viskoelastického materiálu mohou být gely, které stejně jako většina polymerních systémů vykazují viskoelastické chování. Pro viskoelastické materiály platí, že vztah mezi amplitudou deformace a napětím je závislý na čase [98, 99].

Pro popis viskoelasticity se běžně používají viskoelastické moduly. Elastická část je popisována jako G' , tedy paměťový (elastický) modul, a viskózní část jako G'' , též ztrátový (viskózní) modul. Spojením těchto modulů je možné definovat komplexní modul G^* , který popisuje mechanickou odolnost vzorku. Lze jej popsat vztahem:

$$G^* = G' + iG'' \quad (3)$$

Pro vyjádření poměru mezi ztrátovým a paměťovým modulem se využívá veličina nazývaná ztrátový úhel δ . Vztahové vyjádření pro tuto veličinu [96, 99]:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (4)$$

3.3.2 Reologie gelů

Gely jsou obecně „měkké“ a „vlhké“, což platí dvojnásob u hydrogelů. Z těchto důvodů může být poměrně obtížné s nimi pracovat. Dále jsou náchylné k velké a nelineární deformaci nebo úplnému rozpadu už při poměrně nízkých deformacích. Dalším problémem může být i to, že nemusí být stabilními a jejich vlastnosti se mohou výrazněji měnit, dojde-li k jejich vysušení [100].

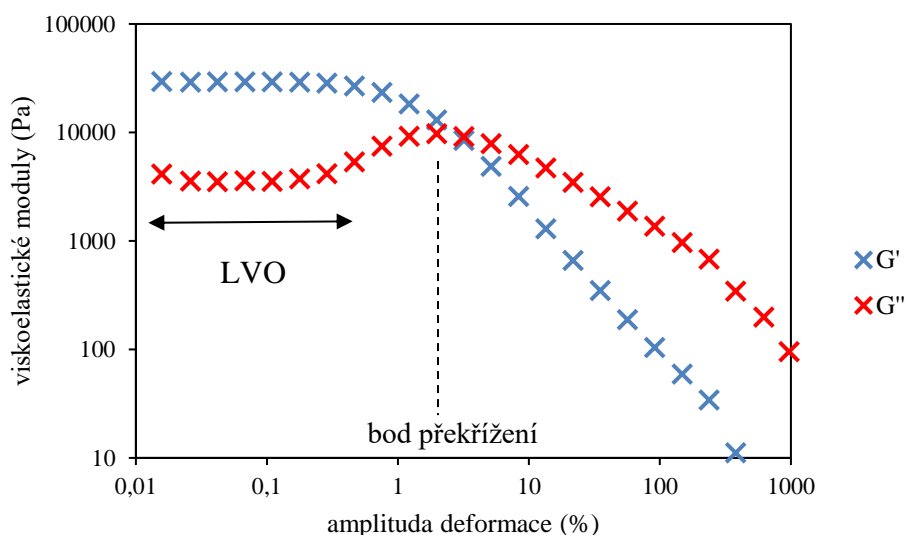
Chemické a také některé fyzikální gely vykazují závislost na mocninném modelu, tedy frekvenční závislost lineárních viskoelastických modulů G' a G'' na přechodu ze solu na gel. Proto je možné je zcela charakterizovat exponentem mocninného modulu n a relaxační silou S . Konstanty n a S se systematicky mění s molekulovou hmotností prepolymeru a s poměrem prepolymeru k síťovadlu.

Co se týče reologických vlastností fyzikálních gelů, které mají své spojovací skupiny podél celého řetězce, tak ty je obecně složitější nějak charakterizovat, což je částečně způsobeno citlivostí na přípravu a mnohdy poměrně špatnou reprodukovatelností [6].

3.3.3 Amplitudový deformační test

Jedná se o základní test, který se v praxi využívá zejména k popisu chování disperzí, past a gelů. Hojně se využívá v potravinářském, kosmetickém, farmaceutickém a lékařském průmyslu. Během tohoto testu dochází při každém bodu ke zvýšení amplitudy deformace zatím co je frekvence oscilace udržována konstantní.

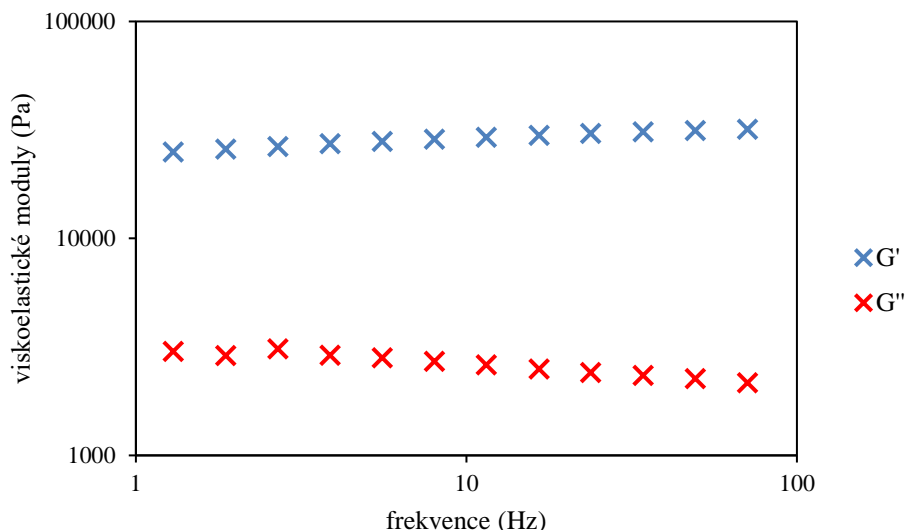
Výsledky měření jsou obvykle prezentovány v grafu závislosti paměťového (G') a ztrátového (G'') modulu na amplitudě deformace (γ), s oběma osami v logaritmickém měřítku. Hlavním výstupem je stanovení lineární viskoelastické oblasti (LVO). Jedná se o oblast, ve které nedochází k deformaci vzorku. V této oblasti jsou křivky pro paměťový a ztrátový modul rovnoběžné a mají konstantní hodnotu, tzv. plató hodnotu. Gelové vzorky v tomto testu vykazují gelový charakter, který je možné rozpoznat tak, že $G' > G''$. A tedy, že elastické chování dominuje nad viskózním chováním, a struktura vykazuje určitou tuhost (Obrázek 17) [99, 101].



Obrázek 17: Typický graf amplitudové deformace pro agarózové hydrogely

3.3.4 Frekvenční test

Obecně se jedná o testy, které popisují časově závislé chování vzorku v nedestruktivní oblasti. Vysoké frekvence se hojně využívají k simulaci rychlého pohybu v krátkých časových intervalech, zatímco nízké frekvence simulují pomalý pohyb v dlouhých časových intervalech nebo v klidu [102]. Z amplitudového deformačního testu je zvolena hodnota amplitudy deformace, která spadá do LVO. Při této hodnotě je pak prováděn celý frekvenční test (Obrázek 18).



Obrázek 18: Typický graf frekvenčního testu pro agaróзовые gely

Jelikož je velikost sítě jedním z nejkritičtějších parametrů při charakterizaci hydrogelů, tak za využití relaxačních spekter (relaxační modul G_E a relaxačního času λ) získaných z oscilačních frekvenčních testů v souladu s Maxwellovým modelem [103], ji lze popsat. Frekvenční test (závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací) je možné interpolovat kontinuálními relaxačními spektry pomocí vhodného reologického softwaru (zde TRIOS, TA Instruments, New Castle, DE, USA).

Pomocí optimalizačních experimentů dojde k výběru vhodného počtu Maxwellových prvků, aby došlo k příslušnému proložení frekvenčních testů hydrogelů. Podle počtu zvolených prvků dojde pomocí analýzy k získání relaxačních modulů. Pro stanovení hustoty zesítění je třeba vypočítat sumu relaxačních modulů [104] podle rovnice (5), kde ρ_x ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$) je hustota zesítění a poskytuje informaci o hustotě uzlů v nabotnalém hydrogelu, G (Pa) je suma prvků relaxačních modulů, R ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) představuje univerzální plynovou konstantu a T je termodynamická teplota (K).

$$\rho_x = \frac{G}{RT} \quad (5)$$

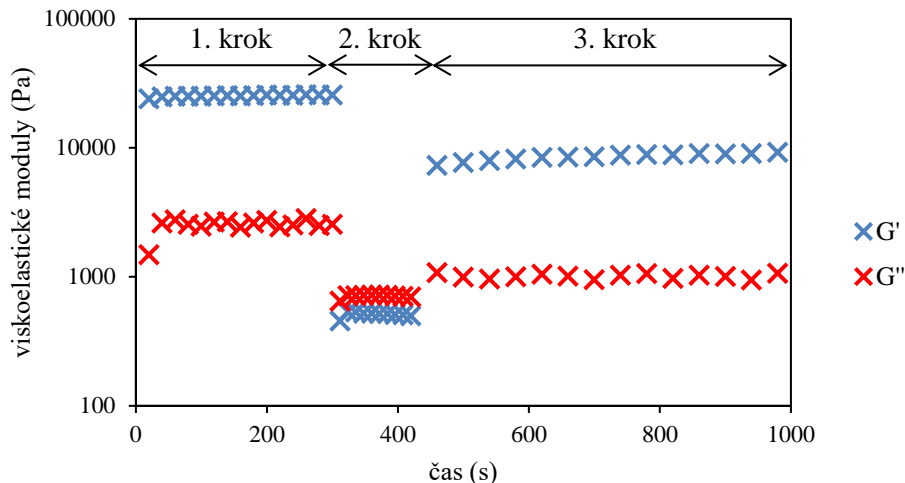
Pokud jsou splněna všechna kritéria (zejména měření frekvenčních testů je prováděno v lineární viskoelastické oblasti a mechanické vlastnosti hydrogelů s různým síťováním jsou v souladu s teorií elasticity pryže [105]), je možné získat velikost pórů za využití rovnice níže (6), kde ξ je velikost pórů (m) a N_A představuje Avogadrovu konstantu.

$$\xi = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi\rho_x N_A}} \quad (6)$$

3.3.5 Tří intervalový tixotropní test

Tento test slouží ke sledování časové závislosti na chování studovaných vzorků. Test se skládá ze tří kroků (Obrázek 19). Při prvním kroku se simuluje chování vzorku v klidu. Při tomto kroku působí na vzorek malá hodnota amplitudy deformace, která byla vybrána z LVO. Při druhém kroku je vzorek namáhán vysokou hodnotou amplitudy deformace, která byla vybrána mimo

LVO. Poslední krok představuje regeneraci vzorku po zátěži a jeho nastavení je stejné jako u prvního kroku. Frekvence oscilace je totožná pro všechny kroky testu [102]. Následně se vyhodnocuje, jak byl vzorek schopný zregenerovat po námaze. Tedy na kolik procent vzorek zregeneroval po deformačním kroku. Test se využívá k popisu chování studovaného materiálu při aplikaci napětí schopného vzorek deformovat a jeho následné regeneraci.



Obrázek 19: Typický graf tří intervalového tixotropního testu pro agarózový hydrogel

K vyhodnocení tohoto testu sloužily dvě veličiny. První z nich byl deformační stav (D_r , %):

$$D_r = \frac{G_0}{G_i} \cdot 100, \quad (7)$$

kde G_0 je hodnota paměťového modulu ihned po deformaci aplikovaným napětím (hodnota G' na počátku 3. kroku), G_i je hodnota paměťového modulu na počátku experimentu (hodnota G' v 1. kroku) a D_r tedy popisuje stav hydrogelu okamžitě po deformaci vůči původnímu stavu hydrogelu.

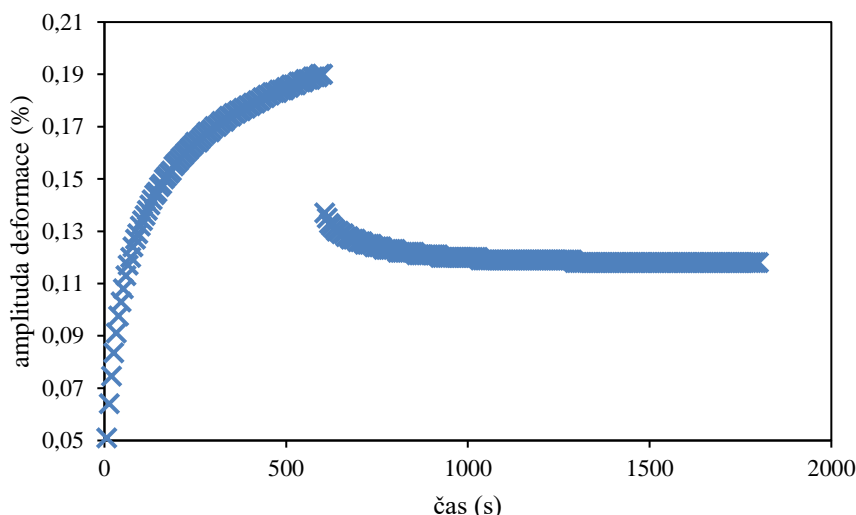
Druhou veličinou byl relaxační (regenerační) stav (R_r , %):

$$R_r = \frac{G_k}{G_i} \cdot 100, \quad (8)$$

kde G_k je hodnota paměťového modulu na konci 3. kroku, a R_r udává stav hydrogelu na konci experimentu vůči původnímu stavu hydrogelu.

3.3.6 Creepový test

Jedná se o relaxační test, při kterém je na viskoelastický materiál aplikováno konstantní napětí a odezva na tuto deformaci je tzv. *creep* (Obrázek 20). Nejčastěji nachází tento test uplatnění zejména u kovových materiálů, avšak uplatnění lze pro něj najít u všech viskoelastických materiálů. Během testu je po určité době aplikováno konstantní smykové napětí. Test musí proběhnout v lineární viskoelastické oblasti, kde zůstává mikrostruktura neporušena. Pro popis výsledků se nejčastěji využívá tzv. creepová poddajnost $J(t)$, která značí poměr naměřené míry deformace a aplikovaného napětí, ovšem lze se setkat také s hodnotovým porovnáním amplitudy deformace mezi prvním a druhým krokem [105].



Obrázek 20: Typický graf creepového testu pro agarózový hydrogel

3.4 Difúze

Difúze je proces, při kterém dochází k přesunu hmoty z jedné části systému do jiné, což je z velké většiny způsobeno náhodnými molekulovými přesuny. Hnací silou difúze je různá koncentrace rozpuštěných látek v systému, tedy koncentrační gradient. Difúze probíhá nejrychleji v plynech, poté v kapalinách a v pevných látkách probíhá výrazně nejpomaleji. Je známé a dokázané, že difúze závisí na teplotě, tlaku, velikosti rozpuštěné látky a viskozitě. Polymerní difúze je velmi komplexní a pro popis obtížná. Její rychlost by se měla vyskytovat mezi kapalinami a pevnými látkami. V tomto případě je rychlost ovlivňována hlavně koncentrací a stupněm nabobtnání polymeru [106].

Pro vyjádření rychlosti difúze ve stacionárním poli se využívá difúzní tok, J_i . Je možné jej definovat jako látkové množství difundující složky dn_i , které za jednotku času, dt , projde jednotkovou plochou, A , kolmou ke směru difúze (9). Difúzní tok je dále roven součinu střední rychlosti toku částic, u_i , a jejich koncentrace c_i (10) [106, 107]:

$$J_i = \frac{dn_i}{A \cdot dt} \quad (9)$$

$$J_i = u_i \cdot c_i \quad (10)$$

3.4.1 Fickovy zákony

První, kdo se zabýval matematickým popisem difúze, byl Adolf Fick. Cílem jeho práce bylo vytvořit základní a fundamentální zákon, který by popsal difúzi. Při tomto počínu si povšimnul spojitosti mezi difúzí a pochodem tepla nebo elektřiny, a tak se difúzi snažil popsat podobnými matematickými zákony jako je Fourierův zákon pro vedení tepla nebo Ohmův zákon pro elektřinu. Když udržoval tuto analogii, tak navrhl, že tok hmoty je úměrný gradientu koncentrace s faktorem proporcionality, což podle Ficka byla konstanta závislá na povaze látek. Produktem jeho počínání byly tzv. Fickovy zákony, které slouží k získání difúzního koeficientu D [108].

3.4.1.1 1. Fickův zákon

Pro jednodimenzionální difúzi definoval Fick zákon, který nese název po něm a značí se jako první:

$$J = -Aj = -AD \frac{\partial c}{\partial z}, \quad (11)$$

kde A značí velikost plochy, přes kterou látka difunduje, j je tok přes jednotkovou plochu, c je koncentrace, z je vzdálenost a D je difúzní koeficient, který udává míru mobility molekul v dané látce. Bez vlivu proudění lze tento zákon zapsat také jako:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial z}, \quad (12)$$

kde $\frac{\partial c}{\partial z}$ reprezentuje parciální derivaci změny koncentrace v ose z [109, 110].

3.4.1.2 2. Fickův zákon

Jelikož první zákon popisoval změnu difundující látky pouze v ose z , a také se předpokládalo, že nedochází ke změně koncentračního gradientu v čase, tak bylo třeba definovat další vztah. Pro vyjádření časové změny koncentrace difundující látky při nestacionární difúzi, definoval Fick další zákon, který je běžně jmenován jako druhý Fickův zákon. Tento zákon platí, pokud je difúzní koeficient nezávislý na koncentraci.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial z^2} + \frac{1}{A} \cdot \frac{\partial A}{\partial z} \cdot \frac{\partial c}{\partial z} \right) \quad (13)$$

Pokud by nedocházelo ke změně plochy A , tak lze vztah zjednodušit [109, 110]:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right) \quad (14)$$

3.4.2 Difúzní modely

Aplikace Fickových zákonů a samotné řešení difúzních rovnic může být poměrně komplikované. Pro řešení těchto problémů je velmi jednoduché nalézt poměrně velké množství různých modelů. Avšak pro ilustraci řešení difúzních problémů je vhodné se seznámit s okrajovými modely, kterými jsou model difúze skrze tenký film a tzv. volná difúze, zde si je možné představit difúzi v jednom směru do nekonečně dlouhého média. Modely jsou limitními představami na totožné uspořádání difúzního experimentu. Modely jsou nastaveny tak, aby jeden byl vhodný pro krátké a druhý pro dlouhé časy. Aplikace těchto modelů na hydrogelové systémy může být ovšem mnohdy komplikovaná kvůli např. zakalenosti, nedostatečné homogenitě nebo tvarovatelnosti hydrogelů.

3.4.2.1 Difúze skrze tenký film

Prvním okrajovým modelem je difúze skrze tenký film. Jedná se o poměrně jednoduchý model. Využití tohoto modelu je vhodné pro jednosměrnou difúzi, která probíhá mezi dvěma roztoky o různé koncentraci stejné látky, oddělenými tenkým filmem. Tímto modelem lze stanovit kolik rozpuštěné látky projde právě skrz tenký film a také koncentrační profil rozpuštěné látky v tenké vrstvě. Sledovaná látka difunduje z místa s vyšší koncentrací do místa s nižší koncentrací. Z rovnice (14) dostáváme:

$$0 = D \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2} \quad (15)$$

Za předpokladu okrajových podmínek, kde c_1 je koncentrací na konci difúze, c_{10} symbolizuje počáteční koncentraci a c_{1l} koncentraci během difúze. Tloušťka bariéry je značena l o souřadnicích jedné strany $x = 0$ a druhé $x = l$. Potom tedy platí $c_1 = c_{10}$ pro $x = 0$ a $c_l = c_{1l}$ pro $x = l$. Dostáváme:

$$c_1 = c_{10} + (c_{1l} - c_{10}) \frac{x}{l} \quad (16)$$

Spojením rovnic (15) a (16) a následnou úpravou jsme schopni zjistit, že koncentrační profil je ve filmu lineární a pouze závislý na okrajových koncentracích a tloušťce filmu [109].

$$j_1 = -D \frac{\partial c_1}{\partial x} = \frac{D}{l} (c_{10} - c_{1l}) \quad (17)$$

3.4.3 Volná difúze

Druhým hraničním modelem je volná difúze. Tento model představuje dlouhé médium začínající rozhraním, kterým může být plyn, kapalina i pevná látka.

Při spuštění experimentu je po celém médiu stejná koncentrace. Zvýšíme-li nárazově koncentraci média, tak dojde k vytvoření koncentračního gradientu, což způsobí, že látka začne difundovat hlouběji do média. Dojde ke změně koncentrace na rozhraní, což vede ke vzniku časové změně koncentračního profilu v médiu. Tento model nám dopomáhá zjistit, jak se mění koncentrační profil difundující látky se změnou její koncentrace na rozhraní s časem.

Počítáme-li s okrajovými podmínkami, kdy při čase $t = 0$, $x = \langle 0; \infty \rangle$ je $c_1 = c_{1\infty}$ a při čase $t > 0$, $x = 0$ je $c_1 = c_{10}$ a posledně pro $x = \infty$ je $c_1 = c_{1\infty}$, tak po úpravě Fickovy rovnice získáváme:

$$\frac{c_1 - c_{10}}{c_{1\infty} - c_{10}} = \operatorname{erf} \frac{x}{\sqrt{4Dt}} \quad (18)$$

$$j_1 = \sqrt{\frac{D}{\pi t}} e^{-(x^2/4Dt)} (c_{10} - c_{1\infty}) \quad (19)$$

Z výše zmíněného plyne, že difúzní tok je funkcí jak polohy, tak i času [109, 110].

3.4.4 Difúzní koeficient

Difúzní koeficient je faktorem úměrnosti ve Fickově zákoně. Přesněji jde o úměrnost mezi difúzním tokem a koncentračním gradientem. Jedná se o fyzikální konstantu, která je závislá na velikosti molekul a dalších vlastnostech difúzní substance, dále také na teplotě a tlaku. Difúzní koeficienty jsou běžně stanovovány experimentálně a prezentovány v různých tabulkách [111].

Pro samotnou představu, v jakých jednotkách se pohybujeme, tak pro plyny, je difúzní koeficient okolo $0,1 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, pro kapaliny okolo $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ a pro pevné látky $10^{-30} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ s vysokou závislostí na teplotě. Mezi hodnotami pro kapaliny a pevné látky se nachází koeficient pro polymery a skla, tedy okolo $10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, jejichž hodnoty mohou být výrazně ovlivněny koncentracemi rozpuštěných látek [110, 111].

Nejnámějším vztahem, který se využívá pro ideální, tedy kulovité, částice je tzv. Stokesův-Einsteinův vztah (20). Jak již jeho název napovídá, tak se jedná o vztah složený spojením

Einsteinovy rovnice vyjadřující závislost difúzního koeficientu na koncentraci a vztahu pro frikční koeficient kulovitých částic, který odvodil Stokes:

$$D = \frac{k_B T}{f} = \frac{k_B T}{6\pi\mu R_0}, \quad (20)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta, f je frikční koeficient, μ je viskozita systému, R_0 je poloměr difundující látky a T stojí pro termodynamickou teplotu.

Stanovení difúzního koeficientu je poměrně jednoduché a pro jeho získání existuje řada snadných a přesných metod. Do výčtu těchto metod patří např. celá řada spektroskopických metod, metod založených na rozptylu světla, metody založené na potenciometrii, nebo i nukleární metody [109, 110].

3.5 Morfologická charakterizace

Vzhledem k tomu, že struktura hydrogelu ovlivňuje vlastnosti, které jsou rozhodující pro hydrogelové aplikace, určení morfologie hydrogelu je jednou z nejdůležitějších charakteristik. Existuje řada přímých (mikroskopie) a nepřímých (rozptylové techniky) metod k charakterizaci hydrogelové morfologie [112]. Několik technik přímé vizualizace (světelná mikroskopie, laserová rastrovací konfokální mikroskopie, a mikropočítačová tomografie), které si poradí s nabotnalými hydrogely, mají značné nevýhody (např. omezené rozlišení) [113]. Na druhou stranu, běžně používaná rastrovací elektronová mikroskopie zahrnuje kritický krok (tj. tuhnutí vzorku pomocí sušení nebo zmrazení, při kterých může dojít ke zhroucení struktury nebo k vytvoření artefaktů) [114, 115]. **Kaberová a spol.** [116] testovali použitelnost rastrovací elektronové mikroskopie a dospěli k závěru, že výsledky z této metody by měly být vždy potvrzeny mikroskopickými technikami použitelnými pro gely v jejich nabotnalém stavu.

Pro charakterizaci suchých vzorků se obvykle používá specifický povrch získaný plynovou sorpcí (podle Brunauer-Emmet-Teller; BET). Specifický povrch není vhodnou charakterizační veličinou hydrogelů, kvůli již zmíněným artefaktům, které se objevují při lyofilizaci. Lze je však použít například pro charakterizaci materiálů používaných ve vysušeném stavu, které mohou tvořit hydrogel (adsorbent) [117], nebo pro potvrzení reverzibilní pórovitosti [118].

Jelikož je popis hydrogelové struktury základní hydrogelovou charakteristikou, jak ihned po přípravě, tak také v jejich vysušeném (xerogelovém) stavu, tak se jako vhodná technika jeví rastrovací elektronová mikroskopie. Snímání xerogelových vzorků je bezproblémové, jelikož je ze vzorků šetrně odstraněna voda. Při studiu hydrogelů ovšem dochází lyofilizací ke vzniku artefaktů, které mohou mírně ovlivňovat výsledné snímky a mohly by ovlivnit porovnání jednotlivých hydrogelů mezi sebou. Tyto artefakty je ovšem možné ignorovat, jelikož předpokládáme, že při dodržení stejného zacházení se vzorky jak během přípravy, tak během měření, dochází ke stejnému poškození u všech vzorků ve stejné podobě [119, 120].

4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V poslední době se hydrogelům dostává zvýšené pozornosti, protože se jedná o velmi atraktivní materiály pro své vlastnosti a aplikovatelnosti v biomateriálovém nebo medicínském průmyslu, zejména pro svůj obrovský obsah vody.

4.1 Hydrogelové matrice s hydrofobními doménami

Hydrogely jsou hydrofilní polymery s trojrozměrnou síťovou strukturou, které mají schopnost absorbovat velký objem vody díky přítomnosti hydrofilních částí, což z nich činí zvláště vhodné materiály pro biomedicínské aplikace (např. skafoldy) [121]. Výběr vhodných složek pro přípravu finálního hydrogelu je důležitý pro funkční a použitelný materiál s jedinečnými vlastnostmi (např. biokompatibilita, biodegradabilita). Tyto přesně přizpůsobitelné funkce činí tyto materiály vhodnými a žádoucími pro širokou škálu oblastí použití (tkáňové inženýrství, farmacie, úprava vody, materiálové inženýrství atd.).

Neméně důležitou vlastností hydrogelů je jejich schopnost simulovat a napodobovat biologické systémy, jakým je např. extracelulární matrice (ECM), která je ve skutečnosti strukturní a podpůrná síť složená z různých proteinů, sacharidů a dalších složek. ECM reguluje buněčné procesy včetně přežití, růstu, proliferace, migrace a diferenciací [120]. Vytvoření *in vitro* prostředí napodobujícího organizovanou strukturu ECM je obrovskou výzvou a tíženým cílem. Protože skafoldy musí nabídnout relevantní vlastnosti dostatečné pro buněčnou funkci, tak hydrogely mají výhodu jako potenciální materiály díky jejich fyzikálně-chemickým (elektrický náboj a velikost pórů) a mechanickým (tuhost, pevnost v tahu) vlastnostem [122]. Většina hydrogelů je také biokompatibilní, například přírodní polymery, jako je agaróza, alginát, chitosan, kolagen, fibrin, želatina, kyselina hyaluronová nebo dextran, stejně jako biokompatibilní syntetické gely na bázi polyethylenglykolu (PEG), polyvinylalkoholu (PVAI) a polyhydroxyethylmethakrylátu (PHEMA) [123].

Vzhledem k tomu, že 3D síťová struktura hydrogelů je zodpovědná především za jejich mechanické vlastnosti a porézní mikrostrukturu, tak jednou z možností jak upravit, nebo vylepšit hydrogely k požadovaným vlastnostem, je začlenění hydrofobních nebo micelárních domén do gelové struktury [10].

Hydrogely s čistou hydrofobní asociací (HA) představují fyzikálně zesíťované hydrogely tvořené hydrofobními interakcemi, které zastávají 5–20 % všech interakcí uvnitř polymeru. Většina hydrofobních asociačních hydrogelů se připravuje micelární kopolymerací [124]. Například **Tuncaboğlu a spol.** se pokusili vylepšit nízkou mechanickou pevnost samohojivých hydrogelů vytvořením hybridních hydrogelů se silnou hydrofobní interakcí mezi hydrofilními polymery zprostředkované hydrofobním fyzikálním síťovadlem (stearyl methakrylát) [125]. Přídavek NaCl k reakčnímu roztoku během kopolymerace velkých hydrofobů (stearyl methakrylát, C18) s hydrofilním monomerem akrylamidu (AAm) ve vodném roztoku dodecylsírany sodného (SDS) vedl k micelárnímu růstu a solubilizaci velkých micel SDS. Reologická měření ukázala, že hydrofobní asociace obklopeny povrchově aktivními micelami působily jako reverzibilní štěpitelné příčné vazby zodpovědné za rychlé hydrogelové samohojení [125].

Micelární domény upravují či zdokonalují hydrogelové vlastnosti. Jedná se o určitý typ úpravy vnitřní hydrogelové struktury. Manipulace a kontrola hydrogelových struktur je skvělým způsobem, jak si připravit hydrogely „přesně na míru“ [10].

Liu a Li [126] ve své práci využili jednoduchý agarózový hydrogel, který upravili vmícháním micel SDS. Motivací jejich počínání byla solubilizace a ochrana kamptotecinu, což je léčivo vykazující protirakovinnou aktivitu proti širokému spektru lidských malignit, které se ukládalo do nitra micel uvnitř hydrogelu. Výsledkem byl hydrogel se zdokonaleným uvolňovacím systémem, který bylo možné ovládat změnou koncentrace tenzidu. Zvýšení koncentrace zpomalilo uvolňování, jelikož došlo ke snížení difúzního koeficientu léčiva. Se zvyšujícím se počtem micel uvnitř systému docházelo ke snižování micelárního difúzního koeficientu, což bylo způsobeno zvýšenou frikci v přeplněném systému nebo jinými interakcemi mezi micelami. **Liu, Li a Cai** [127] pokračovali ve zdokonalování rozpustnosti kamptotecinu. V tomto případě jim k tomu posloužil dodecyltrimethylammoniumbromid (DTAB), který zvyšoval jeho rozpustnost. Protože se jedná o kladně nabitý tenzid, byl k některým vzorkům přidáván záporně nabitý κ -karagenan. Ten ovlivnil profily uvolnění, což bylo způsobeno elektrostatickými interakcemi mezi polymery. V dalším společném článku se **Liu a Li** [128] dále zabývali uvolňováním kamptotecinu z agarózového gelu, ale namísto DTAB použili CTAB, který taktéž zvyšoval rozpustnost léčiva.

Tadeshi a spol. [129] také pracovali s micelami, které rozptýlili do hydrogelu. Podařilo se jim potvrdit, že hydrogely s micelami mají komplexní multidoménovou strukturu, která je schopná hostit jak hydrofilní, tak i hydrofobní molekuly. Konkrétně se jednalo o polyvinylalkohol, který připravili metodou opakovaného zmrazování a rozmrazování. Takto připravený gel nechali vysušit a následně ho rehydratovali kationaktivním tenzidovým roztokem (decyltrimethylammonium bromid). Autoři dokázali, že tenzidová micelizace byla téměř nenarušena tím, že k tomu docházelo uvnitř hydrogelové sítě. Stejně tak nedocházelo k žádné interakci polymeru s tenzidem, což mělo za následek, že botnání nebylo nikterak ovlivněno změnou koncentrace tenzidu. Elektronovou paramagnetickou rezonancí (EPR) a maloúhlovým rozptylem neutronů (SANS) bylo ověřeno, že micely vytvořené uvnitř hydrogelu mají stejné vlastnosti jako micely vzniklé ve vodném roztoku. NMR difúze dokázala, že difúze micel uvnitř hydrogelu je mnohem pomalejší, než je tomu ve vodě.

Mangiapia a spol. [130] chtěli prohloubit porozumění hydrogelům s rozptýlenými micelami. Ve své práci se zaměřili na detailní strukturní popis hydrogelů metodami maloúhlového (SANS) a ultramaloúhlového rozptylu neutronů (USANS). Hydrogely z polyvinylalkoholu byly připraveny stejně jako v [129], jen roztok na rehydratování obsahoval aniontový dodecylsíran sodný. Dále i zde autoři potvrzují závěry z [129], že nedochází k žádné interakci mezi polymerním řetězcem a tenzidovými micelami. Dále bylo zjištěno, že charakteristiky micely, tedy strukturní parametry, velikost, agregační číslo a náboj nebyly ovlivněny přítomností polyvinylalkoholu. Proto lze říci, že micely uvnitř hydrogelu, které byly připraveny opakovaným zmrazováním a rozmrazováním nebyly nikterak ovlivněny tenzidovou náturou.

Stoppel a spol. [131] se zaměřili na vliv nenabitých tenzidů na transport proteinů a malých molekul uvnitř hydrogelové matrice. Tento výzkum přinesl poznatky pro použití tohoto systému při vývoji nosičového systému pro léčiva, biomateriály a skafoldy pro tkáňové

inženýrství. V jejich výzkumu byly použity micely Pluronic F-68 (P-F68), které byly inkorporovány do alginátových hydrogelů. Experimentální výsledky dokázaly, že se transport malých molekul, uvnitř hydrogelu, mírně zlepšil po přidavku P-F68. Dále autoři předpokládají, že použití vyšší tenzidové koncentrace nebo větší molekulové hmotnosti tenzidů (např. Pluronic F-108 nebo F-127), by mělo dále zdokonalovat difúzní koeficient a transportní charakteristiky. Také zmiňují, že v případě více malých hydrofobních molekul by změny v difúzním chování byly velmi ovlivňovány velikostí komplexu skládajícího se z micely a solubilizované malé hydrofobní molekuly. Z pohledu mechanických vlastností, bylo dokázáno, že přídavek P-F68 nad 2 % může vést k nevhodným vlastnostem. Protože přídavek 5% P-F68 vedl ke snížení paměťového modulu o 57 % a ke zvýšení ztrátového úhlu o 24 %, při frekvenci 1 Hz. Zajímavým poznatkem je, že výraznější změny ve viskozitě roztoku bylo možné pozorovat při přidavku P-F68 pod 2 %, tak tedy tyto interakce nebyly dominantními v hydrogelové formě. Avšak interakce uvnitř roztoku se prokládaly do gelového stavu prostřednictvím zvětšeného ztrátového úhlu a zvýšeným poměrem smrštění, který měl vliv na jeho nosnost kvůli změnám ve vlastnostech zadržování vody. Přídavek pluronik měl minimální účinky na transport riboflavinu. Naopak významné změny v transportu byly pozorovány u séra hovězího albuminu, u kterého se snížila nosnost a uvolňovací schopnosti se v závislosti na metodě gelace buďto zvýšily nebo snížily.

Mezi další autory, kteří se zabývali rozptýlenými micelami v hydrogelu, konkrétněji polymerními micelami, patří **Frisman a spol.** [132], kteří pracovali s kopolymerem Pluronic F-127 (P-F127), **Ju a spol.** [133] pracující s Poloxamerem 407 a **Wang a spol.** [134], kteří pracovali s amfifilním blokovým kopolymerem poly(ϵ -kaprolaktonem) (PCEC).

Problémem, který často sužoval vytvořené micely v hydrogelu, byla povětšinou limitovaná stabilita vytvořených micel, což se přisuzovalo jejich difúzi ven z hydrogelu. Jako řešení se **Yom-Tov a spol.** [135] pokusili zkombinovat jednoduché vkládání micel a kotvení některých micel do hydrogelové sítě. Aby dosáhli tohoto cíle, tak musela být část molekul tenzidového monomeru funkcionalizována tak, aby došlo k vytvoření koncových skupin, se kterými by síť byla schopná reagovat. Jako tenzid pro potřeby výzkumu byl použit P-F127 ve své čisté a diakrylované formě. Akrylace byla způsobena reakcí tenzidu se značným přebytkem akryloyl chloridu a triethylaminu (přebytkem vůči hydroxylové skupině). Vhodný poměr směsi čistého a akrylovaného tenzidu byl při nízké teplotě (4 °C) smíchán s roztokem hydrogelového prekurzoru. Směs byla takto udržována až do doby, dokud nedošlo k úplné disociaci, kdy byl následně přidán fotoiniciátor. Výsledný roztok byl zahříván (37 °C), což způsobovalo tvorbu micel, a následně ozařován UV světlem, aby došlo k chemickému síťování. Výsledná koncentrace tenzidu byla konstantě udržována na 10 %. Hydrogelovým prekurzorem v této práci byl diakrylovaný polyethylenglykol-proteinová (fibrinogen) směs.

Integrací domén, které jsou tvořeny hydrofobními segmenty přímo na prekurzoru tvořící gel, se zabývala řada autorů. Jmenovitě **Shukla a spol.** [136], kteří připevnili hydrofobní domény na polyvinylalkoholový řetězec pomocí efektivního redoxního systému. **Inoue a spol.** [137] se zabývali přípravou hydrofobně modifikovaného a pH citlivého hydrogelu založeném na hydrofobních oligomerech připevněných na polyelektrolytovou hydrogelovou matici. Dále také **Kim a spol.** [138] pracovali s micelárními strukturami, které vkládali na želatinové hydrogely, nebo **Guo a spol.** [139] se na stejném principu zaměřili na zdokonalení

mechanických vlastností hydrogelů pro biomateriálové aplikace, čehož docílili zahrnutím silných, ale reverzibilních interakcí do nanoskopických domén. **Bromberg a spol.** [140] se zabývali tvorbou mikrogelových částic, což by našlo uplatnění při vývoji nových systémů pro orální chemoterapii. Dalšími byli **Thomas a spol.** [141], kteří připravovali mísitelné směsi polymerů, které obsahovaly hydrofilní a hydrofobní skupiny.

Dalším typem hydrogelů jsou hydrogely s micelárním zesítním. Jedná se o hydrofobní domény, které přímo tvoří fyzikální nebo chemické zesítnění hydrogelové sítě. Např. **Lee a spol.** [142] se snažili zdokonalit špatné mechanické vlastnosti hydrogelů připravených z pluronik. O to se pokoušeli použitím pluronikových kopolymerů. Ty byly konjugovány s tyraminem, který může být enzymaticky zesíťován mezi dvě sousedící micely obsahující modifikované kopolymery. **Missirlis a spol.** [143] pracovali s nanočásticemi založenými na pluroniku, které připravili obrácenou emulzní fotokopolymerací s polyethylenglykolem (PEG). Autoři primárně využívali micely jako solubilizační médium pro hydrofobní léčiva s prodlouženým časem cirkulace. Touto přípravou se snažili překonat nevýhody přímého použití těchto micel, jako jsou např. nízká stabilita nebo předčasné vylučování ledvinami, vytvořením jakéhosi „mostu“ mezi micelami za vzniku makromolekulárních nanogelů. Ve své práci **Hao a Weiss** [144] využili hydrofobní asociace fluorovaných uhlovodíkových hydrofobů ve vodném médiu ke tvorbě nanodomén, které sloužily jako multifunkční fyzikální síťovadla. **Li a spol.** [145] zase publikovali své poznatky o biodegradabilním, micely obsahujícím PEG hydrogelu, který byl syntetizován Michaelovou adicí. **Tuncaboğlu a spol.** [125] připravili hydrogel schopný samohojivých vlastností silnou hydrofobní interakcí mezi dvěma hydrofilními polymery. Hydrofobní monomer byl kopolymerizován s hydrofilním monomerem pomocí micelární polymerizace ve vodném tenzidovém roztoku. Inkorporace hydrofobních sekvencí uvnitř hydrofilních řetězců způsobuje silné hydrofobní interakce, které zabraňují rozpadu fyzikálních gelů ve vodě. Dynamická povaha spojovacích zón poskytla homogenitu a samohojivé vlastnosti.

Kromě výše zmíněných prací se inkorporaci micelárních struktur do hydrogelů zabývá stále více lidí [146–148]. Jak je zřejmé i z výše uvedeného, tak hlavní zájem je v odvětví uvolňování léčiv.

4.2 Hydrogely s vnitřními strukturami

Stále více pozornosti se přikládá materiálům, které jsou inspirovány materiály a látkami vyskytujícími se v přírodě, a to pro jejich robustní funkčnosti a možnosti aplikace jako umělé tkáně. Pro přírodní materiály je typická vysoká uspořádatelnost, které se docílují seskládáním různých jednotek do hierarchické struktury dodržující definovaný vzor.

Bohužel nejběžnější měkké a mokré hydrogely vykazují velmi nevhodné funkce, které jsou způsobeny jejich amorfni strukturou, tedy náhodným síťováním polymerních řetězců na molekulární úrovni. Jak již bylo zmíněno dříve, tak v kontrastu k tomu, si je možné představit biologické tkáně, které mají dobře definovanou hierarchickou strukturu již od molekulové úrovně až po makroskopické měřítko. Dobře organizované anizotropní struktury biologických tkání umožňují funkci řadě složitých orgánových procesů. Příkladem může být aktin a myosin, které mají anizotropickou strukturu kapalného krystalu ve svalovém sarkomeru, který přispívá k hladkému pohybu svalových vláken a svalové kontrakci specifickým směrem [149].

Polymerní tenzidy obvykle ve vodném prostředí podstupují samouspořádání a vytváří lamelární domény mikro rozměrů s určitými periodickými mezerami. Zároveň také dochází k barevné iridescenci. Pokud jsou vystaveny hydrogelovému prostředí, tak rigidní lamely rozptylují viditelné světlo, což vede k zajímavému zbarvení hydrogelu. Pravidelně uspořádané jednoosé dvojvrstvy v hydrogelu nejen rozptylují viditelné světlo, ale také slouží jako reverzibilní vazby, díky kterým může hydrogel mít vynikající mechanické vlastnosti, jako je pevnost nebo schopnost vrácení do původního stavu po namáhání. Vrstvená struktura měkké a tvrdé vrstvy navíc umožňuje hydrogelu vykazovat vynikající anizotropní vlastnosti, jako je jednodimenzionální botnání či schopnost ladění barev, způsobené mechanickými stimuly [149]. Speciálně samouspořádání a jeho ovlivňování intermolekulárními interakcemi se zabývali **Hassan a Gawali** [150]. Poukazují na fakt, že ovlivněním těchto interakcí je možné upravit geometrii a různé vlastnosti. Tímto způsobem lze získat řadu různých struktur, mezi které patří koule, tyče, „červy“, stuhy nebo vezikly. Velkým přínosem samouspořádajících struktur je schopnost tvořit hydrofobní a hydrofilní jednotky uvnitř roztoku. Velká část těchto vlastností byla již studována pomocí solubilizace různých látek.

Celá řada autorů se věnuje vývoji hydrogelů, které by měly dostačující sílu a tuhost. Mnohým se to i podařilo, ale stále tyto hydrogely obsahovaly amorfní strukturu na rozdíl od té u biologických tkání. Proto je vývoj dobře definované struktury v hydrogelu, který je schopný vykonávat složité úkony, náročným problémem [149]. Níže jsou rešeršně zmíněny práce a autoři zabývající se tematikou hydrogelů s vnitřními strukturami, které jsou uspořádány do struktur kapalných krystalů. Jedná se o ukázkou složitosti problému. Představené práce jsou poměrně složitým řešením zadaného cíle a je tedy potřeba hlubšího porozumění a dalšího výzkumu.

Modifikací hydrogelů tak, aby obsahovaly vnitřní lamelární strukturu, se zabývala řada autorů. **Wangovi a spol.** [151] se podařilo připravit lamelární hydrogel interakcí α -cyklodextrinu a amfifilních fytosterolových ethoxylátů. Pomocí délky řetězců nebo koncentrací jednotlivých složek byli schopni kontrolovat čas gelace, morfologii, viskoelasticitu, mechanickou pevnost a termocitlivost. Další, kdo pracovali s lamelárními hydrogely, byli **Ilyas a spol** [152]. Ti studovali, jak dehydratace ovlivní strukturu a mechanické vlastnosti anizotropních lamelárních hydrogelů, které byly připraveny z amfifilního poly(dodecyl glyceryl itakonátu) (PDGI) a hydrofilních polyakrylamidových (PAAm) sítí. Dokázali, že pomalá dehydratace nemá vliv na změnu lamelární struktury. Dále **Tsujii a spol.** [153] objevili lamelární strukturu mikroskopického měřítka ze samouspořádajícího se tenzidu ve vodném roztoku, kterou je možné dopravit do síťovité struktury hydrogelu polymerací ve směsi roztoku monomeru. Autoři využili toho, že monomer dodecyl glyceryl itakonátu (DGI) ve vodě a v přítomnosti nabitého tenzidu SDS, tvoří barevný lamelární tekutý krystal. Následně byla tato směs fotopolymerizována UV světlem a tato lamelární struktura byla vložena do gelové sítě akrylamidového gelu. Takto připravené gely měly výrazně zdokonalené mechanické vlastnosti oproti standardním polymerním gelům. Také **Haque a spol.** [154] se podařilo připravit anizotropický PDGI/PAAm gel s jednosměrnou orientací. Tento gel připravili volnou radikálovou polymerací z vodného roztoku DGI, SDS, akrylamidu (AAm), *N,N'*-metylenbis akrylamidu (MBAA) a iniciátoru. Anizotropický gel s dobrými mechanickými vlastnostmi připravili podle práce provedené **Tsujii a spol.** [153] a upravili ho různými přísadami DGI, SDS

a MBAA a UV iniciátoru. Tato směs byla ponechána ve vodní lázni při teplotě 55 °C asi čtyři hodiny, dokud nedošlo k vytvoření stabilních lamelárních dvojvrstev. Směs byla následně napipetována do reakční cely o tloušťce 0,5 mm. To způsobilo, že se lamelární dvojvrstvy orientovaly paralelně ke skleněným stěnám. Stabilita byla zajištěna ozářením UV světla po dobu 8 hodin při 50 °C v argonové atmosféře. Závěrem lze říci, že se autorům podařilo nasyntetizovat multifunkční anizotropní PDGI/PAAm hydrogel s obrovským obsahem dokonale orientovaných lamelárních dvojvrstev.

S hexagonálními strukturami uvnitř hydrogelů pracovali např. **Nascimento a spol.** [155], kteří připravovali hydrogely s kyselinou hyaluronovou (HyA), P-F127 a Puronicem F-108. Pomocí SAXS (maloúhlový rozptyl rentgenového záření) dokázali, že inkorporace HyA způsobuje přechody v organizaci z lamelární na hexagonální. **Misbah a spol.** [156] se zase zabývali amfifilní rekombinantní verzí polymeru podobného elastinu. Zjistili, že zvyšující koncentrací jsou schopni měnit jeho morfologii, a s dostatečnou koncentrací jsou schopni docílit hexagonální struktury. Naposledně také **Zhang a spol.** [157] pracovali s hydrogelovými nanostrukturami polyethylenglykol diakrylátu z hexagonální LLC struktury.

Kubickými strukturami se zabývali **Forney a spol.** [158]. Studovali teplotně citlivé poly(*N*-isopropylakrylamid) (PNIPAM) hydrogely připravené fotopolymerizací do bikontinuálního kubického LLC templátu. Takto připravené hydrogely měly zdokonalené mechanické a teplotní vlastnosti. **Sanandaji a spol.** [159] dokázali, že kubický LLC vytvořený monooleinem a vodou zdokonaluje hydrogelovou strukturu a gelové vlastnosti.

Mathews a Mertins [160] se zabývali přípravou bikontinuální kubické fáze. K hydrogelům připravených z fosfolipidů a vody přidávali chitosan, který podporoval vznik dobře definované molekulární organizace. Hydrogely byly připraveny opačnou fázovou evaporací [161], což vedlo ke vzniku vodní suspenze obsahující lipozomy. Nejprve dojde ke vzniku obrácených micel v organickém rozpouštědle. Po odpaření organického rozpouštědla dojde ke kolapsu micelárního koncentrátu a vytvoří se hydrogel složený ze směsi lipidů a vody. V nepřítomnosti chitosanu se struktura uspořádává do L_{α} , protože lecitin s vodou při 25 °C k této molekulární organizaci spěje. Avšak přídavek chitosanu mění strukturu. Chitosan způsobí, že micely obsahují chitosan ve svém vodním jádře, a tedy že polymerní řetězce jsou ve vodě obaleny amfifilními lipidy, u kterých polární hlavy interagují s vodními kapsulemi. Také to způsobí, že acylové ocasy umožní disperzi struktury v organickém rozpouštědle, což vede ke vzniku „mléčné“ emulze. Zjednodušeně řečeno byl poměr lipid-voda konstantní a botnání lipidové dvojvrstvy bylo vymezeno začleněním molekul polymeru do struktury. Různé koncentrace chitosanu ovlivňují velikost a tvary kubických struktur. 3D struktury byly kontrolovány a studovány pomocí SAXS.

Alternativním přístupem ke zvýšení odolnosti hydrogelové sítě je zavedení částic, jako dalších bodů vedoucích k zesílení (např. latexové částice, nanočástice) [124]. Latexové částice (LP, z anglického *latex particles*), které se obvykle připravují emulzní polymerací, zajišťují účinnost disipací energie a poskytují hydrogelům vyšší mechanické vlastnosti. **Gu a spol.** [162] navrhli způsob, který zahrnuje adsorpci hydrofobních alkylových řetězců z hydrofobních monomerů na povrchu latexových mikrokuliček a jejich následné stabilizace v přítomnosti povrchově aktivních látek, čímž se vytvoří hydrofobní asociační centra, jako první síťovací body. Aniontové sulfátové radikály (pocházející z disociace persíranu) byly přitahovány ke

kationtovým řetězcům latexových mikrokuliček (získaných emulzní kopolymerací styrenu bez povrchově aktivních látek s vinylidenovými komonomery nesoucími postranní kationovou skupinu), což vedlo ke vzniku sekundárních síťovacích center. Začlenění kationtových latexových mikrokuliček vedlo ke zlepšení pevnosti v tahu a tlaku modifikovaného hydrogelu ve srovnání s čistým hydrofobním asociačním hydrogelem.

Vzhledem k tomu, že anorganické nanočástice mají vysoký specifický povrch, jejich zabudování do hydrogelové sítě může taktéž zlepšit mechanické chování ve vztahu k povrchu struktury a nabíjení [124]. Hydrogelovou adhezi může podporovat zavedení uhličitanovápenatých nanočástic [163], hydroxyapatitových [164], kaolinových [165] anebo laponitových částic [166].

Na druhou stranu využití polymerních nanočástic umožňuje enkapsulaci jak hydrofobních, tak hydrofilních látek [124]. **Arno a spol.** zkoumali, jak morfologie částic (např. tvar, velikost a povrch částic) ovlivňuje adhezi a mechanické vlastnosti vápenato-alginátových hydrogelů [167]. Autoři prokázali, že 2D destičky podstatně zlepšily jak adhezi mezi hydrogelovými povrchy, tak i mechanickou pevnost materiálu po vmíchání polymeru do sítě ve srovnání s jejich 0D nebo 1D válcovými protějšky.

Vlastnosti hydrogelů, jak již bylo zmíněno dříve, lze přizpůsobit nejen prostřednictvím vhodné volby materiálů a technik síťování, ale také úpravou vnitřní struktury gelu použitím modifikátoru struktury během přípravy, jako je např. lecitin. Je třeba připomenout, že lecitin je typicky amfifilní fosfolipidovou směsí primárně obsahující distearoylfosfatidylcholin, který má dobrou biokompatibilitu a schopnost zvýšit biologickou dostupnost léčiv [168]. Lecitin se ve vodných systémech může seskupit do různých kapalných krystalů v závislosti na množství vody a teplotě. Nejpravděpodobnější struktury vytvořené za normálních laboratorních podmínek jsou lamelární kapalně krystalické struktury [73]. Změna poměru lecitinu ve vícesložkovém hydrogelovém systému může dále zlepšit použitelnost a funkčnost navržených gelů. Transportní a mechanické vlastnosti materiálů jsou dány jejich vnitřní strukturou a mohou být značně ovlivněny jeho přeskupením.

Mezi různými typy systémů na bázi lecitinu jsou nejčastějším typem právě lipozomy a mikroemulze [169]. Lipozomy jsou příkladem měkkých fosfolipidových nanočástic s typickými průměry kolem 100 nm [170]. Vzhledem k jejich uzavřené vezikulární struktuře do nich mohou být zabudovány hydrofilní aktivní sloučeniny vnitřních vodních kompartmentů, zatímco hydrofobní sloučeniny mohou být vloženy do dvojvrstvy lipozomu. Ve většině případů se lipozomální hydrogely na bázi lecitinu používají jako nosiče. Nicméně takové systémy mají stále určité nevýhody, mezi které patří např. pomalý a nekontrolovaný proces uvolňování léčiva [171]. Naproti tomu gely na bázi mikroemulze lecitinu, popř. organogely, mají některé výhody oproti lipozomálním hydrogelům, jako je snadnější příprava, nepřítomnost organických rozpouštědel a vyšší stabilita při skladování způsobená termodynamickou stabilitou mikroemulzí [172]. Matrice gelů na bázi mikroemulze lecitinu se skládá z lecitinu, který v jeho přítomnosti působí jako povrchově aktivní látka i jako gelující činidlo nepolárního organického rozpouštědla (vnější fáze) nebo polárního činidla, kterým je obvykle voda.

4.3 Aplikační potenciál

Při navrhování systémů pro řízené uvolňování a dodávání léčiv by měl být zvláštní důraz kladen na mechanismus transportu a jeho korelaci s mikrostrukturou hydrogelů. Požadované fyzikální

a mechanické vlastnosti takových systémů lze snadno zlepšit 1) přidáním modifikátorů struktury, 2) pomocí binárních systémů složených ze dvou nebo více smíšených polymerů jako vzájemně se prostupujících polymerních sítí, 3) použitím samovyztužitelných kompozitních materiálů složených z vláken uložených v matici ze stejného materiálu nebo 4) sol-gel reakcí za vzniku siliky [173]. Dalším alternativním způsobem, jak zlepšit mechanické vlastnosti hydrogelových materiálů, je začlenění nanomateriálů jako jsou oxid křemičitý, grafen, grafenové nanotrubičky, uhlíkové nanotrubičky, nanovlákna na bázi rostlinných vláken atd. Například **Mallikarjun, Jalageri a Kumar** ve svém článku popsali nový materiál pro konstrukci chrupavkových skafoldů na bázi polyvinylalkohol/polyvinylpyrolidinového (PVAI/PVP) hydrogelu vyztuženého hydroxyapatitem [174]. Přídavek hydroxyapatitových nanotyčků (HNt) zlepšuje mechanické vlastnosti a morfologii PVAI/PVP hydrogelů. **Jayash a spol.** připravili nové hybridní hydrogely na bázi chitosanu a oxidu křemičitého pomocí techniky sol-gel [175]. Takové hydrogelové systémy vykazovaly lepší degrační a mechanické vlastnosti, žádné významné cytotoxické účinky a vykazovaly vysokou účinnost vůči zatížení. **Appel a spol.** vyvinuli samosestavující hydrogely připravené nekovalentními interakcemi mezi deriváty hydroxypropylmethylcelulózy (HPMC-x) a nanočásticemi typu „core-shell“ [176]. Tento přístup umožňuje vytvoření materiálu s dvojitým plněním hydrofobních a hydrofilních molekul a také vysokou biokompatibilitou, které jsou vhodné pro aplikace s řízeným podáváním léčiv.

Transportní vlastnosti obecně zahrnují viskozitu, tepelnou vodivost a difúzní koeficient (difuzivitu), které udávají rychlost, kterou se přenáší specifická (na jednotku objemu) hybnost, teplo nebo hmota [177]. Studium difúze v hydrogelech je extrémně důležité pro predikci transportu difuzantů s ohledem na jejich potenciální aplikaci jako systémů pro dodávání léčiv a také pro extrakci informací o strukturách polymerních sítí [178]. Proto je třeba mít na paměti, že výběr vhodné metody měření difúze je zásadní, neboť existuje velké množství různých metod a instrumentálních technik i jejich kombinací a žádná z nich není univerzální. Experimentální metody lze rozdělit do několika hlavních kategorií. První z nich (tradiční) jsou metody koncentračního gradientu (steady-state), kdy se difúzní ustálený tok nastaví přes gelovou membránu oddělující dvě kapalinou naplněné míchané komory a vypočítá se difúzní koeficient. Druhým jsou metody koncentračních gradientů (neustálené). Do této kategorie patří např. příjem/uvolňování z hydrogelu ponořeného do míchaného roztoku [179]. V tomto případě se měří pokles nebo zvýšení množství difuzantu ve vnějším roztoku a následně se vypočítá difúzní koeficient. Další kategorie pokrývá pokročilé instrumentální techniky, jako je NMR, která umožňuje vyhodnotit samodifúzi rozpuštěné látky [180–182], fluorescenční zotavení po fotobělení (FRAP), které zahrnuje sledování rozložení intenzity kolem fotoběleného místa v čase a také použití výkonných matematických nástrojů k charakterizaci difúzních koeficientů difuzantů [183], fluorescenční korelační spektroskopii (FCS), která umožňuje přímé měření translační difúze rozpuštěných látek [184, 185]. Poslední kategorie zahrnuje počítačové simulační studie difúze rozpuštěné látky v gelech, jako jsou hrubozrné simulace, které se široce používají k simulaci polymerních sítí a také k predikci dopadu parametrů formulace a zpracování na kinetiku uvolňování léčiva [186, 187].

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie

5.1.1 Hydrogelová matrice

Agaróza	Condalab, Madrid, Španělsko	#D00186
Želatina	PENTA, Praha, Česká republika	#BCCD8474
Alginát sodný	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#MKBZ5563V
Polyvinylalkohol	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#MKCJ9195, 130 kDa
Chitosan	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#SLBF6034V, 250 kDa

5.1.2 Amfifilní látky

Lecitin	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#BCBZ3162
CTAB	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#SLCH0757
SDS	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#MKCN5886
Triton X-100	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#STBG1336V

5.1.3 Barviva

Rhodamin 6G	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#BCBX7237
Methylenová modř	PENTA, Praha, Česká republika	#1801300113
Eosin B	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#BCCD7122
Amidová čern 10B	Merck, Darmstadt, Německo	#8597729
Riboflavin	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Švýcarsko	#1343102

5.1.4 Ostatní

Chlorid vápenatý	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#14317
Epichlorohydrin	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	#BCCB3157
Kyselina octová	Lach-Ner, Neratovice, Česká republika	#PP/2020/03599
Hydroxid sodný	PENTA, Praha, Česká republika	#2604300421

5.2 Příprava vzorků

5.2.1 Fyzikálně síťované hydrogely

Jako zástupci fyzikálně síťovaných hydrogelů byly studovány agarózové a želatinové hydrogely.

5.2.1.1 Lecitin

V případě lecitinového modifikátoru vnitřní struktury, byl jeho vliv studován na agarózových matricích. Vzorky byly připraveny navážením požadovaného množství agarózy (1 hm.%) a požadovaného množství lecitinu. Ten byl přidáván ve třech různých koncentracích² 0,5; 1 a 2 hm.%. Práškové navážky byly následně smíchány dohromady a zality disperzním médiem (vodou³). Vzorky byly pravidelně připravovány do skleněných vialek nebo kádinek (podle nároků na vzorek). Takto připravené vzorky byly vloženy na třepačky nebo na magnetickou

² Vliv koncentrace lecitinu byl porovnáván s referenčním vzorkem, tedy vzorkem bez lecitinu.

³ Pro všechny experimenty byla využívána deionizovaná voda, aby se zamezilo případným nežádoucím interakcím.

míchačku, kde byly ponechány 24 hodin třepat/míchat, dokud nedošlo k úplnému rozmíchání. Po rozmíchání byly vzorky zároveň míchány a zahřívány až na rozpouštěcí teplotu gelotvorné složky (85 °C). Na této teplotě byl roztok udržován, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění. Po rozpuštění bylo zahřívání pozastaveno a vzorky byly ponechány v klidu, aby vychladly a došlo ke gelaci. Vzorky byly přikryty parafilmem a vloženy do uzavíratelné nádoby s vodou⁴, kde byly ponechány 24 hodin (voda uvnitř nádoby pomáhala udržet konstantní vlhkost).

5.2.1.2 Tenzidy

Jedním z materiálů pro studium vlivu tenzidů na fyzikálně síťované modelové hydrogely byla zvolena agaróza, ke které, jak již bylo zmíněno dříve, byla přidávána struktury tvořící amfifilní látka. Vzorky byly připraveny navážením požadovaného množství agarózy (1 hm.%) a požadovaného množství tenzidu. Při studiu vlivu tenzidů to byly koncentrace pod CMC (lišily se podle konkrétního tenzidu); 0,5; 1; 2 a 5 hm.% Navážky tenzidů byly následně smíchány dohromady a zality disperzním médiem (vodou). Vzorky byly podle potřeby připravovány do vialek nebo kádinek. Vzorky byly poté míchány po dobu 24 hodin, dokud nedošlo k promíchání všech složek. Po dotřepání byly vzorky zároveň míchány a zahřívány až na rozpouštěcí teplotu gelotvorné složky, což v případě agaróza bylo 85 °C. Po dosažení požadované teploty byla teplota udržována, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění a smíchání všech složek. Následně bylo zahřívání ukončeno a vzorky byly ponechány temperovat a gelovat. Vzorky byly přikryty parafilmem a vloženy do nádoby s vodou, kde byly ponechány 24 hodin.

Druhým fyzikálně síťovaným hydrogelem byla želatina. Při navážce práškové želatiny (8 hm.%) byly taktéž naváženy a přimíchány navážky požadovaného množství amfifilních látek (pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%). Smíchané navážky byly zality vodním disperzním prostředím. Takto připravené navážky byly za neustálého míchání ve vodní lázni rozpuštěny při teplotě 50 °C. Následně byly vzorky na pár hodin vloženy do lednice, kde došlo ke gelaci. Zgelované vzorky byly vloženy do nádoby s vodou, kde byly před další manipulací ponechány 24 hodin.

5.2.2 Iontově síťované hydrogely

Zástupcem iontově síťovaných hydrogelů byl alginát sodný (2 hm.%), který byl síťován vápenatými ionty z roztoku chloridu vápenatého. Navážený práškový alginát byl zalit úměrným množstvím deionizované vody, aby výsledná koncentrace byla 2 hm.%. K tomuto zásobnímu roztoku byly přidávány navážky amfifilních látek (0,5; 1 a 2 hm.%). Tyto vzorky byly posléze míchány 24 hodin, aby došlo k rozmíchání amfifilních látek rovnoměrně do roztoku. Takto připravené vzorky byly přelity do Petriho misek. Na tyto vzorky bylo sprejem aplikováno takové množství roztoku chloridu vápenatého (0,1 mol·dm³), aby byl dodržen objemový poměr 2:1. Chlorid vápenatý byl aplikován sprejem, aby došlo k rovnoměrnému nanesení po celém povrchu roztoku alginátu, tedy aby došlo k homogenní tvorbě gelu v kulatém tvaru Petriho misky (z důvodu velmi rychlé gelace). Připravené vzorky byly vloženy do nádoby s vodou na 24 hodin, aby došlo k úplnému zgelování.

5.2.3 Chemicky síťované hydrogely

Chemicky síťované hydrogely byly připravovány ze směsi PVAI a chitosanu za pomoci síťovadla epichlorohydrinu. Nejprve byl navážen práškový PVAI a zalit deionizovanou vodou

⁴ Jednalo se o exsíkátor, ve kterém byl silikagel nahrazen vodou.

tak, aby výsledná koncentrace byla 7,8 hm.%. Tato směs byla zahřívána při teplotě 90 °C po dobu tří hodin, dokud nedošlo k rozpuštění PVAI. Chitosanový roztok byl připraven rozpuštěním jeho dané navážky v kyselině octové (0,4 mol·dm³) tak, aby jeho výsledná koncentrace byla 2,5 hm.%. Suspenze byla poté míchána 24 hodin, aby došlo k úplnému rozpuštění chitosanu. Polymerní směs PVAI-chit byla smíchána v poměru 2:1,5 a míchána tři hodiny při laboratorní teplotě. Poté bylo přidáno katalytické vodné médium (NaOH 1 mol·dm³) a síťovací činidlo epichlorohydrin (ECH). Tato směs byla jednu hodinu míchána při teplotě 40 °C v dusíkové atmosféře. Po uplynutí jedné hodiny byla směs přelita do Petriho misky a sušena v sušárně 72 hodin. Hotové filmy mohly být posléze rehydratovány [188]. V případě potřeby dodání amfifilní látky (0,5; 1 a 2 hm.%), byly úměrné navážky přidávány do roztoku PVAI a míchány, dokud nedošlo k úplnému rozmíchání do roztoku.

5.3 Charakterizace zkoumaných látek

5.3.1 Použité přístroje a techniky

- Reometr – MCR 92, Anton-Paar; DHR-2, TA Instruments
- UV/Vis spektrometr – Hitachi U3900H, Varian Cary 50 UV/Vis
- Optické sondy – Ocean Insight
- Lyofilizátor – VirTis 4KBTZL-105
- Rastrovací elektronový mikroskop (SEM) – ZEISS EVO LS 10
- Sušárna – ECOCELL, DUROCELL; Brněnská medicínská technika
- Analyzátor vlhkosti (sušící váhy) – IR-35, Denver Instrument
- Difúzní cely – PerneGear diffusion cells
- Analytické laboratorní váhy – TB-224A, Denver Instrument
- Vysokorychlostní plynový sorpční analyzátor plynu – NOVA 2200e, Quantachrome Instruments

5.3.2 Reologie

Všechny hydrogelové vzorky byly studovány pomocí čtyř různých reologických testů. Dvěma oscilačními a dvěma relaxačními testy. Všechny experimenty byly provedeny na reometru MCR-92 od společnosti Anton-Paar nebo DHR-2 od společnosti TA Instruments. Pro měření hydrogelů byly využity ocelová geometrie deska-deska o průměru 25 mm s kolmými vryp⁵ („mřížka“). Během měření se udržovala vzdálenost horní pohyblivé desky od spodní stacionární 1000 μm. Všechny experimenty, pokud nebylo stanoveno jinak, proběhly při teplotě 25 °C. Před každým měřením prošel vzorek relaxačním krokem, který trval minimálně tři minuty.

Jako první všechny vzorky podstoupily amplitudový deformační test. Při tomto testu dochází k deformaci vzorku smykovým napětím, které se postupně zvyšuje od 0,01 % až po 1000 %. Během celého měření byla udržována konstantní frekvence (1 Hz). Hlavním výstupem tohoto testu je určení LVO (lineární viskoelastická oblast). Jedná se o oblast, kde jsou oba moduly rovnoběžné s osou amplitudy deformace, a ještě nedochází k nevratné deformaci vzorku. Nalezení této oblasti je stěžejní pro nastavení následujících testů. Po získání LVO, mohl být proveden frekvenční test, který poskytuje informace o viskoelastických vlastnostech jako

⁵Z anglického „cross-hatched“.

funkce frekvence oscilací. Tyto testy proběhly ve frekvenčním rozsahu 0,01-100 Hz. Z tohoto testu byly dopočítány hodnoty pórovitosti⁶ neboli velikost sítě (viz 3.3.4 Frekvenční test). Hodnota smykové deformace byla vybrána právě z LVO a byla po celou dobu měření udržována konstantní. Pro popis relaxačních vlastností byly vybrány tři intervalové tixotropní testy (3ITT) a creepové testy. Tři intervalový test se skládá ze tří kroků. První krok trval 300 s a na vzorek působilo smykové napětí získané z LVO. Druhý krok trval 20 nebo 120 s a smykové napětí bylo zvoleno mimo LVO, aby došlo k deformaci vzorku. Poslední krok měl stejné nastavení jako první krok a trval 600 s. Posledním testem byl creepový test, který se skládá ze dvou kroků. Během prvního kroku bylo na vzorek působeno napětí získaného z LVO. Během druhého kroku bylo napětí odstraněno.

5.3.3 UV/Vis spektrometrie

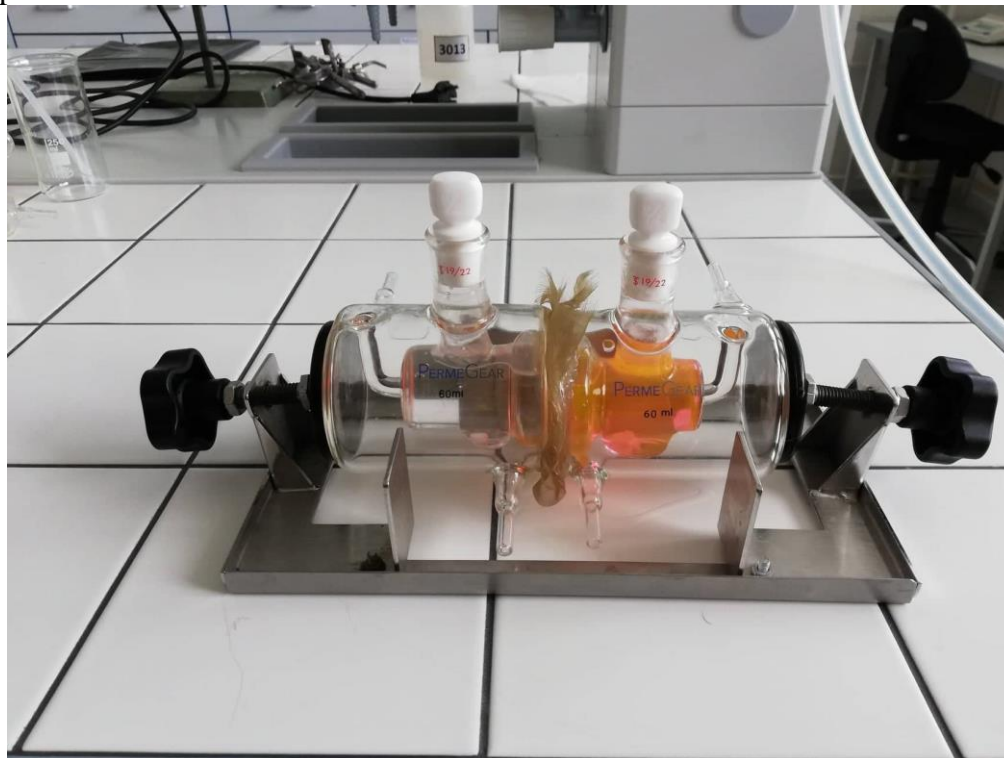
Analytickou technikou ke studiu transportních vlastností byla právě UV/Vis spektrometrie, kterou bylo možné využít v řadě různých zapojení. Pro potřeby modelace uvolňování barviva z hydrogelů studovaných v této práci se nejvíce využívaly uvolňovací a prostupovací experimenty. K těmto účelům byly využívány spektrofotometry Hitachi U3900H a Varian Cary 50, a také optické sondy Ocean Insight.

Uvolňovací experimenty byly schopné podat informaci o tom, jak se různá barviva (modely léčiv) uvolňovaly ven ze studovaných hydrogelů. Pro tento typ experimentu byla mírně upravena příprava hydrogelových vzorků. Po smíchání gelotvorného materiálu a amfifilní látky, nebyla směs zalita pouze deionizovanou vodou, ale roztokem konkrétního rozpuštěného barviva. V rámci této dizertační práce byla využita řada barviv, které modelovaly léčiva o různých molekulových hmotnostech a nábojích. Jednalo se o methylenovou modř ($319,85 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $0,01 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), rhodamin 6G ($479,02 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $0,01 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), amidovou čern 10B ($616,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $0,01 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), eosin B ($580,09 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $0,015 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) a riboflavin ($376,37 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; $0,04 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). Hydrogel s barvivem byl vložen do nádoby a zalit vodou. Tato voda byla pravidelně odebírána do kyvety (0,5; 1; 3; 6 a 24 hodin, poté vždy po 24 hodinách), která byla následně vložena do spektrofotometru, kde byl vzorek změřen. V případě xerogelů byl postup stejný, jen s rozdílem, jak často byl odebírán vzorek. Uvolňování z xerogelů bylo řádově mnohem rychlejší než z hydrogelů, a tak ruční odebírání nebylo dostačující. Z toho důvodu byly uvolňovací experimenty s xerogely provedeny v zapojení s optickými sondami, které zaznamenávaly absorbanci každých dvacet sekund bez nutnosti odebírat vzorek. V tomto nastavení byl xerogel vložen do kádinky s vodou, ve které již byla sonda, která byla propojena s detektorem a počítačem. V tomto zapojení experiment běžel alespoň jednu hodinu.

Pro prostupovací experimenty byly využívány horizontální difúzní cely (každá 60 ml) v zapojení donorová cela, hydrogel, akceptorová cela. Hydrogely byly z důvodu stability mezi celami drženy sítkou, která nebránila průběhu experimentu. Hydrogely pro tento experiment byly připraveny vždy do Petriho misky o stejném průměru (75 mm), vždy o objemu 12 ml, aby byla dodržena porovnatelnost mezi jednotlivými typy síťování. Pro přípravu hydrogelu byl dodržen postup popsán v kapitole 5.2. Hydrogel byl vložen do síťoviny tak, aby byl z obou stran plně kryt. Poté jej bylo možné vložit mezi dvě cely, které byly posléze vloženy do držáku

⁶ Pórovitost se v této práci používá jako český překlad hodnoty *mesh*, která je přebrána z odborné literatury a běžně se v literatuře nepřeekládá.

(Obrázek 21). Do obou cel byl zároveň nalit roztok barviva (donorová cela) a voda (akceptorová cela). Roztoky byly nality zároveň, aby nedošlo k ovlivnění tlaků na hydrogel. Do každé cely bylo vloženo míchadélko pro kontinuální míchání během experimentu. Do akceptorové cely byla vložena optická sonda, která byla připojena k detektoru a počítači, kam každých deset minut zapisovala absorbanci.



Obrázek 21: Zapojení horizontálních difúzních cel, akceptorová (vlevo), donorová (vpravo) a hydrogel v síťce mezi nimi

5.3.4 Rastrovací elektronová mikroskopie

Vzorky hydrogelů i xerogelů byly pozorovány pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). Snímky hydrogelových struktur byly, po šokovém zmrazení tekutým dusíkem a následné lyofilizaci a xerogelů po vysušení při laboratorní teplotě nebo v laboratorní sušárně při teplotě 40 °C, pořízeny na mikroskopu typu ZEISS EVO LS 10. Před pozorováním byla na vzorky nanášena tenká vrstva zlata pomocí vakuové naprašovačky Polaron, aby byla zajištěna vodivost vzorků. Byly zaznamenány jak povrchové morfologie, tak řezy vzorků. Pozorování byla realizována v režimu sekundárních elektronů (SE) a bylo nastaveno urychlovací napětí na 5 kV, aby se zabránilo nabíjení vzorků.

Cílem využití této techniky bylo ověření, jestli a jak různé přísady amfifilních látek ovlivňují strukturu, zejména velikost a množství pórů, v hydrogelové matici. Poznatky z této metody slouží jako důkazy podporující námi vyvozené závěry z reologických a difúzních experimentů.

5.3.5 Plynová sorpce

K popisu specifického povrchu xerogelů byl využíván vysokorychlostní plynový sorpční analyzátor plynu NOVA 2200e (Quantachrome Instruments). Do měřicí cely byly vkládány vzorky (0,05–0,1 g) a cela byla umístěna do odplyňovací stanice, kde proběhlo odplynění při

75 °C po dobu 20 hodin. Po ochlazení byl odplyněný vzorek zvážen a umístěn do měřicí stanice. Adsorpční a desorpční izotermy byly měřeny pod kapalným dusíkem (77 K) od 0,05–0,95 reaktivního tlaku P/P_0 . Získaná data byla zpracována pomocí softwaru NovaWin a měřený povrch byl vypočítán vícebodovou metodou BET. Měření bylo zprostředkováno ve spolupráci s kolegy z Ústavu materiálů, fakulty chemické VUT.

5.3.6 Sušící a botnací experimenty

Schopnost hydrogelů zadržovat, uvolňovat a absorbovat vodu byla studována několika různými způsoby. Uvolňování vody bylo studováno pomocí jednoduchých sušících experimentů. Všechny vzorky byly buď sušeny v laboratorní sušárně při 40 °C a pravidelně váženy, nebo v poloautomatickém vlhkostním analyzátoru (IR-35, Denver Instrument, Denver, CO, USA), kde byla hmotnost zaznamenávána automaticky každých 30 sekund. Posléze byla relativní hmotnost hydrogelu (x) vypočtena pomocí následujícího vzorce:

$$x = \frac{m_t}{m_0} \cdot 100, \quad (21)$$

kde m_t je hmotnost hydrogelu v čase t , a m_0 je hmotnost hydrogelu v nabotnalém stavu.

Často velmi malé ztráty hmotnosti vody z hydrogelových vzorků ztížily využití sušících vah. Z tohoto důvodu byla kinetika sušení většinou studována pomocí kombinace laboratorních sušáren a analytických vah, na kterých byly vzorky váženy v pravidelných intervalech. Poté, co byly vzorky vysušeny do xerogelové formy, byly vzorky vloženy do vodní lázně, kde byly ponechány až do doby, dokud nedošlo k maximální absorpci vody. Stupeň absorpce vody (m_a) byl zjištěn pomocí vzorce níže:

$$m_a = \frac{m_t}{m_x} \cdot 100, \quad (22)$$

kde m_t je hmotnost gelu v čase t , a m_x je hmotnost xerogelu. Hydrogelové vzorky byly pravidelně váženy na analytických vahách ke studiu kinetiky botnání.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato kapitola popisuje a diskutuje výsledky získané z měření vlastností hydrogelových matic modifikovaných amfifilními látkami. Závěry z měření jsou v následujících kapitolách rozděleny podle typu amfifilní látky a také podle metody, která daný hydrogel charakterizovala.

Kapitola je rozdělena na hlavní celky podle amfifilních přísad, tedy na lecitinovou část a část zabývající se „klasickými“ tenzidy. V těchto dvou částech jsou další podkapitoly zabývající se již konkrétními technikami a výsledky.

Jednotlivé vzorky jsou v textu, v obrázcích a v tabulkách rozlišovány pomocí jejich koncentrace amfifilní složky. Referenční vzorek je vždy značen symbolem „R“ a v případě potřeby rozlišení typu hydrogelového síťování byly použity zkratky hlavní gelotvorné složky. Fyzikální síťování bylo značeno „AG“, iontové „ALG“ a chemické „PVA1-chit“.

6.1 Lecitin jako modifikátor hydrogelových vlastností

Následující kapitola se zabývá poznatky získanými při využití lecitinu jako modifikátoru hydrogelové struktury. Lecitin jako modifikátor byl zvolen na základě rešerše provedené před samotným počátkem práce a taktéž díky jeho velké výhodě oproti jiným a tradičnějším tenzidům, tedy jeho netoxicitě vůči lidskému tělu. Jelikož hydrogelový aplikační potenciál tkví v největší míře právě v medicínských aplikacích, dává smysl zvolit jednoduchý modifikátor, který není lidskému tělu cizí a nezpůsobí problémy ani při vyšších koncentracích.

Lecitin byl do různě síťovaných hydrogelů přidáván z důvodu zvýšení uspořádání hydrogelové sítě, která je mnohdy u fyzikálního a iontového síťování poměrně nejednotná a nehomogenní. U chemického síťování, kde by ta organizovanost měla být kvůli kovalentním vazbám vyšší, byl sledován vliv na již organizovanou strukturu. Lecitin tedy do určité míry napodoboval vliv buněk v živé tkáni (např. ECM).

Vliv lecitinu na různé hydrogelové vlastnosti byl studován na třech různě síťovaných hydrogelových systémech. Bylo to fyzikální, iontové a chemické síťování. V rámci těchto matic byly hydrogely studovány v jejich nativním stavu, ve kterém mají uvnitř své struktury vodu, ale také v jejich rehydratovaném stavu, kdy byly vzorky vysušeny a následně rehydratovány. Tyto vzorky byly studovány pomocí řady technik⁷. Mezi něž patřila mechanická charakterizace pomocí reologie, kde byly studovány zejména amplitudové deformační a frekvenční testy, ze kterých byla vypočítávána pórovitost. Z důvodů studia hydrogelů před vysušením a po vysušení bylo taktéž třeba provést sušicí a rehydratační experimenty. Morfologická charakterizace byla taktéž provedena na hydrogelových i xerogelových vzorcích, což bylo doplněno výsledky z plynové sorpce. Transportní vlastnosti těchto systémů byly popsány pomocí uvolňovacích a průtokových experimentů za využití barviv rhodaminu 6G, eosinu B a amidové černi 10B.

6.1.1 Fyzikálně síťované hydrogely

Výsledky získané pomocí amplitudových deformačních testů pro fyzikálně síťované hydrogely modifikované lecitinem při aplikovaném oscilačním napětí, naznačují, že rozdíly v koncentraci lecitinu mají, z hlediska viskoelastických vlastností, minimální vliv na strukturu hydrogelu po přípravě, zejména s ohledem na šířku lineární viskoelastické oblasti (LVO). Paměťové

⁷ Výsledky byly publikovány v impaktovaných časopisech, viz. Příloha 1 a Příloha 2.

i ztrátové moduly se postupně zvyšovaly se zvyšující se koncentrací lecitinu, což mohlo být způsobeno celkově vyšším obsahem sušiny hydrogelů. Vliv koncentrace lecitinu na viskoelastickou oblast, což je rozmezí hodnot paměťového modulu, kde je hydrogel schopen odolávat aplikované oscilaci napětí a může nám tedy poskytnout informaci o síle nekovalentních hydrogelových uzlů, byl minimální. Pravděpodobně byla pevnost fyzikálně síťovaných hydrogelů zajištěna především nekovalentními slabými interakcemi (H-můstky) mezi řetězci agarózy. Lecitin měl pouze malý vliv na viskoelastické vlastnosti 1 hm.% agarózy. Hodnoty značící konec LVO byly velmi podobné pro všechny fyzikálně síťované hydrogely (Tabulka 2). Hodnoty uvedené v tabulkách byly získány buď pomocí reologického softwaru (TRIOS, TA Instruments), analýzy (bod překřížení, průměrné hodnoty modulů v LVO) nebo vypočítané. Konec LVO byl získán porovnáním průměrné hodnoty paměťového modulu v LVO s každým bodem, kde odchylka větší než 5 % znamenala konec LVO. Výpočty velikosti pórů jsou popsány v kapitole 3.3.4. Bod překřížení ($G' = G''$), bod, ve kterém byl hydrogel nevratně poškozen, byl u všech vzorků velmi podobný.

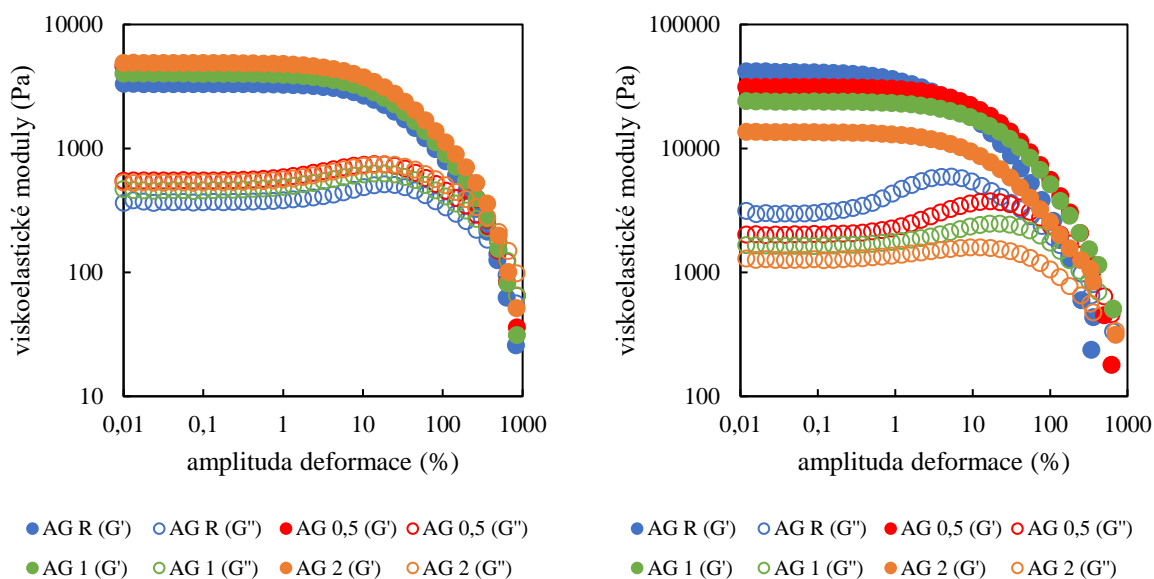
Tabulka 2: Hodnoty pro fyzikálně síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením

Lecitin (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	157,5 ± 4,1	425,8 ± 2,2	3299 ± 277	366 ± 28	2,5 ± 1,0	13,3 ± 0,1
0,5	207,9 ± 2,1	414,1 ± 4,5	4576 ± 12	551 ± 15	1,8*	13,4 ± 0,4
1	194,9 ± 10,7	433,2 ± 10,2	4002 ± 81	461 ± 4	1,8*	12,7 ± 0,1
2	224,5 ± 0,1	468,0 ± 2,9	4880 ± 27	529 ± 8	1,8*	12,9 ± 0,3

*Odchylka byla menší než 1 %.

Stejně amplitudové deformační testy byly provedeny i na vzorcích, které byly vysušeny do xerogelového stavu a opětovně rehydratovány. Na ty mělo značný vliv množství absorbované vody. Jak je možné vidět z obrázku (Obrázek 22), tak i z experimentů s obsahem sušiny (Obrázek 24), vzorky s nejvyšším obsahem lecitinu byly schopny reabsorbovat největší množství vody (dvakrát více vody než vzorek bez lecitinu). To se také odráželo ve výsledcích amplitudových deformačních testů, protože hodnoty modulů se úměrně snižovaly. Referenční vzorek měl nejvyšší hodnoty modulů, zatímco nejnižší hodnoty byly pozorovány u vzorků s nejvyššími koncentracemi lecitinu. Hodnoty modulů byly poněkud větší, nežli tomu bylo pro vzorky studované po přípravě (Tabulka 3), což bylo způsobeno zvýšenými hodnotami stupňů botnání systémů vysušených a zpětně rehydratovaných ve srovnání se vzorky studovanými hned po přípravě. Lecitin tedy podporoval absorpci vody. U fyzikálně síťovaných hydrogelů byl ovlivněn i bod překřížení a vzorky s vyššími koncentracemi lecitinu měly posunutou hodnotu bodu překřížení k vyšším hodnotám deformace. To mohlo být způsobeno účinkem interakcí mezi lecitinem a polysacharidovými řetězci, což vedlo k zesílení hydrogelových vzorků vysušených a rehydratovaných. Ve vzorcích studovaných po přípravě byl lecitin dispergován ve větší míře v kapalném prostředí bez tohoto (silného) účinku. To lze vysvětlit H-

můstky mezi polysacharidovými řetězci a lecitinem, které byly významnější pro rehydratované hydrogely kvůli absorpci vody (v xerogelu), která se do interakcí nemohla zapojit. Totéž lze pozorovat u hodnot bodu překřížení, které se opět postupně zvyšovaly s koncentrací lecitinu.



Obrázek 22: Graf amplitudového deformačního testu pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přídávky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

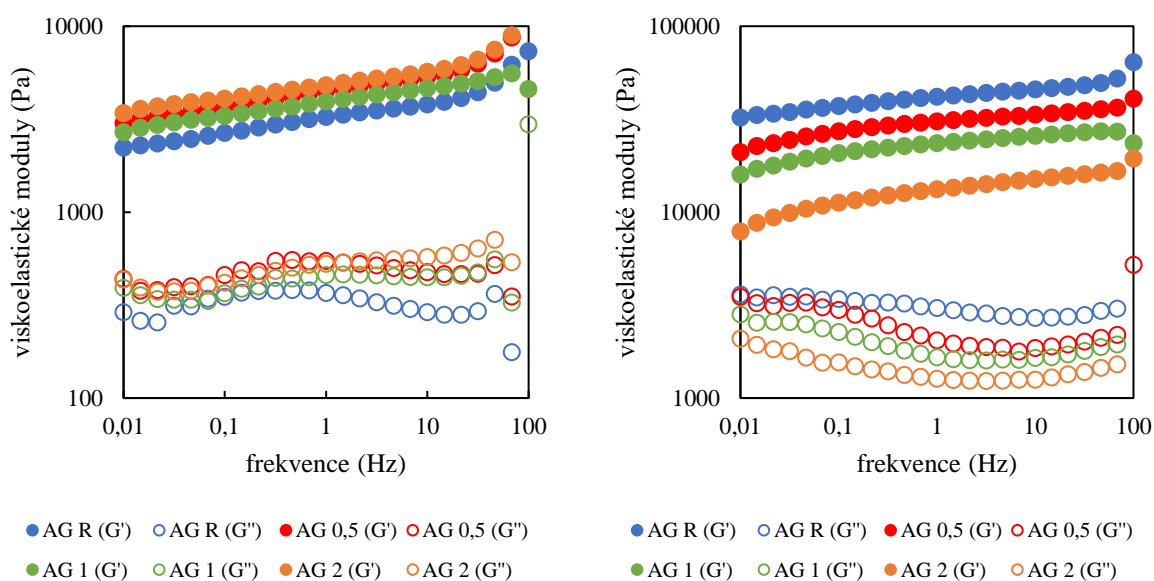
Tabulka 3: Hodnoty pro fyzikálně síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci

c_{lecitin} (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	1814,0 ± 340,6	250,4 ± 131,7	41386 ± 10517	2977 ± 707	0,3 ± 0,1	7,6 ± 1,1
0,5	1005,7 ± 142,9	718,5 ± 129,3	31216 ± 980	2010 ± 4	1,2 ± 0,5	7,6 ± 0,2
1	542,7 ± 0,1	1148,7 ± 10,0	23829 ± 3	1642 ± 118	1,4 ± 0,3	8,2 ± 0,1
2	350,8 ± 33,5	1257,6 ± 12,2	13506 ± 1217	1256 ± 122	0,9*	9,0 ± 0,3

*Odchylka byla menší než 1 %.

Výsledky frekvenčních testů je možné pozorovat na obrázku níže (Obrázek 23). Reogramy pro všechny vzorky byly velmi podobné. U všech hydrogelových vzorků byl dominantní paměťový modul, což znamená, že vzorky se jeví jako plně zesíťovaný gelový materiál s plně protkanou vnitřní strukturou. Trend hodnot modulů byl shodný s trendem, který se dal pozorovat u amplitudových deformačních testů, a tedy že přidání lecitinu do struktury zvyšovalo hodnoty paměťových i ztrátových modulů, které dobře korelovaly s vyšším obsahem sušiny, jak bylo naznačeno dříve. S rostoucí hodnotou frekvence oscilací, se hodnoty modulů zvyšovaly, což mohlo naznačovat, že vzorky nebyly zcela zrelaxovány a stupeň relaxace byl ovlivněn typem síťování. Průměrná doba relaxace hydrogelové sítě přesahovala období spojené s progresivně se zvyšující frekvencí aplikované oscilační deformace. Hodnoty velikosti pórů

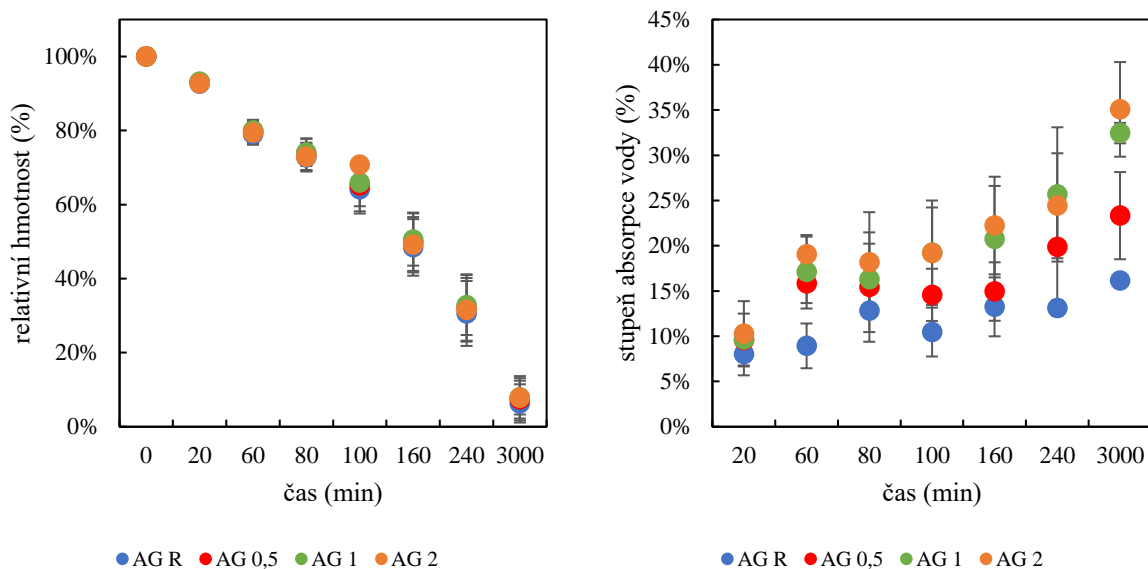
vnitřní struktury hydrogelů vypočítané z testů frekvenčních oscilací pomocí rovnic (5) a (6) byly souhrnně zaznamenány v tabulkách (Tabulka 2 a Tabulka 3). Výsledky pro čerstvě připravené hydrogely vykazovaly stejný trend jako jiné reologické údaje (tj. že velikost pórů se mezi jednotlivými vzorky podstatně nelišila), zatímco u vysušených a rehydratovaných xerogelů bylo možné pozorovat mírné zvýšení hodnot při vyšší koncentraci lecitinu, což lze vysvětlit tím, že lecitin sám vyplní prostor pórů a zvětší jejich velikost. To bylo dáno tím, že lecitin v absorbované vodě tvořil lamelární kapalně krystalické struktury spolu s již zmíněnými H-můstky mezi polysacharidovými řetězci a lecitinem. Při porovnání absolutních hodnot velikostí pórů pro čerstvě připravené a pro rehydratované hydrogely, bylo možné zaznamenat, že po rehydrataci měly hydrogely menší velikost pórů.



Obrázek 23: Graf frekvenčního testu pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

Na základě amplitudových a frekvenčních oscilačních testů provedených na čerstvě připravených agarózových hydrogelech lze pozorovat, že přísadky lecitinu, jako amfifilní přírodní složky, nevedly k podstatné změně viskoelastického chování fyzikálně síťovaných hydrogelů v rozsahu použitých koncentrací lecitinu (Obrázek 22 a Obrázek 23). U agarózy, která ve vodném prostředí tvoří termoreverzibilní fyzikálně síťované hydrogely ve formě přírodního lineárního polysacharidu, se neočekávalo, že bude významně interagovat s amfifilním lecitinem. Lecitin v tomto případě sloužil pouze jako plnivo a nikterak výrazně neovlivňoval vnitřní strukturu hydrogelu. Přesto hrál lecitin důležitou roli při rehydrataci vysušených vzorků. Vyšší obsah lecitinu ve struktuře hydrogelu způsoboval postupné snižování viskoelastických paměťových a ztrátových modulů. Přítomnost lecitinu ovlivňovala schopnost agarózových xerogelů (hydrogelů po vysušení) reabsorbovat vodu (tj. botnat) (Obrázek 23 a Obrázek 24). Konečné viskoelastické vlastnosti hydrogelů byly rozhodně ovlivněny množstvím disperzního média (vody) po nabotnutí xerogelů. Pokud se do systému přidal lecitin, jako modifikátor vnitřní architektury hydrogelů, tak byl schopen měnit botnací vlastnosti, stejně jako viskoelastické vlastnosti v důsledku různého množství vody.

Z aplikačního hlediska je toto zjištění zcela zásadní vzhledem k tomu, že díky volbě a vhodné koncentraci aditiva (lecitinu), jsme schopni připravit hydrogely s požadovanými vlastnostmi (zejména viskoelastickými) přizpůsobené konkrétnímu účelu. Jelikož má lecitin do určité míry napodobovat buňky v živé tkáni, tak lze předpokládat, že vliv buněk by byl podobný vlivu lecitinu. Tento typ hydrogelu se jeví jako možným modelem biologického prostředí, kterému lze zvýšit organizovanost a s tím i změnit jeho vlastnosti.



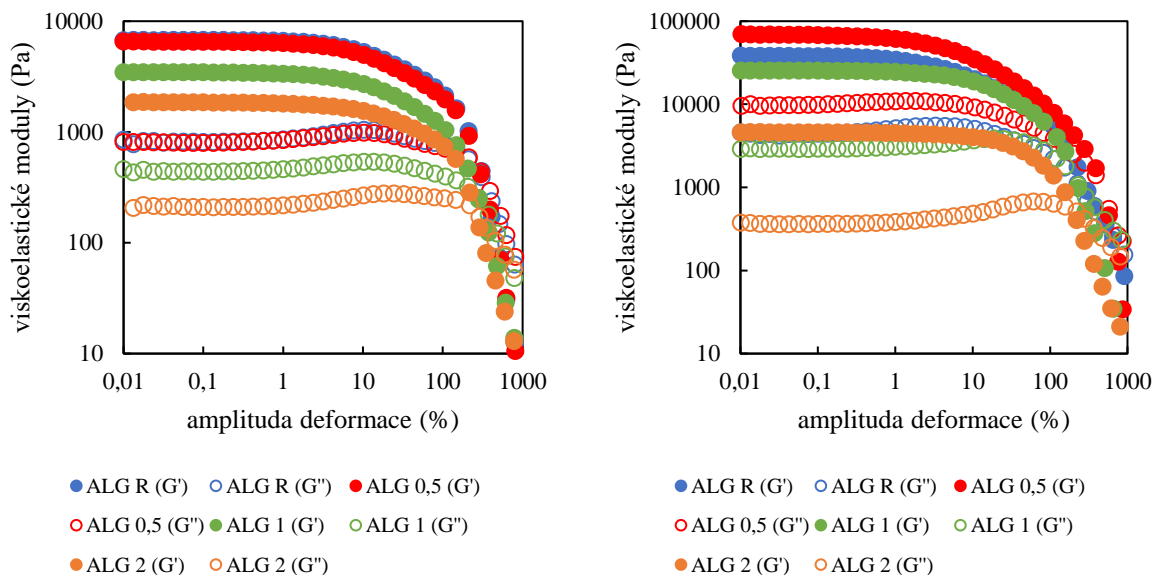
Obrázek 24: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) fyzikálně síťovaných hydrogelů (agaróza 1 hm.%) s různými přídávky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)

Množství vody a sušiny spojené se studovanými gely jsou dva nejdůležitější parametry pro charakterizaci hydrogelů a jejich potenciální budoucí použitelnosti. Sušina ovlivňuje konečné chování materiálu. Totéž platí pro vodu uvnitř hydrogelu, která výrazně ovlivňuje např. transportní vlastnosti. Jak bylo uvedeno v kapitole 4, tak tyto parametry předurčují aplikační charakter výsledného systému.

Kinetika sušení fyzikálně síťovaných hydrogelů je zobrazena na obrázku výše (Obrázek 24). Na začátku těchto experimentů byly všechny hmotnosti hydrogelů ($2 \pm 0,2$ g) a xerogelů srovnatelně stejné. Je vidět, že přidavek lecitinu neměl vliv na kinetiku sušení. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je, že voda zadržovaná lecitinem nebyla vázaná tak pevně, jako voda hydratující agarózu. Naopak během botnacího procesu hydrogel s lecitinem snadno nasával vodu (jednodušeji než agarózový hydrogel bez lecitinu), což vedlo k tomu, že vzorky lecitin-agaróza vykazovaly vyšší botnací schopnost, s čímž korelovaly i nižší hodnoty modulů (Obrázek 22 a Obrázek 23). Botnací experimenty prokázaly vliv lecitinu na kapacitu botnání. Lecitinové struktury se uspořádávaly do hydrogelových pórů čímž podporovaly příjem vody. Kinetika botnacího procesu byla u všech vzorků velmi podobná, s jedinou zvláštností vyskytující se na počátku experimentu, kdy vzorky s vyšší lecitinovou koncentrací (1 a 2 hm.%) absorbovaly vodu rychleji. Stejně systémy byly taktéž schopny absorbovat největší množství vody.

6.1.2 Iontově síťované hydrogely

Alginát sodný zesítěný chloridem vápenatým v hmotnostním poměru dvě ku jedné byl zástupcem iontově zesíťované hydrogelové matrice, kde negativně nabitě jednotky poly(guluronové) kyseliny alginátu ($-\text{COO}^-$) interagují s polyvalentními ionty (Ca^{2+}) k vytvoření vazby. Konečné vlastnosti hydrogelové matrice byly ovlivněny přidávkou amfifilního lecitinu. Studované byly vzorky hydrogelů, jak po přípravě, tak i ve vysušeném a rehydratovaném stavu.



Obrázek 25: Graf amplitudových deformačních testů pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přidávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

Iontově zesíťované hydrogely také podstoupily testy amplitudové deformace. Co je okamžitě pozorovatelné, je klesající trend modulů pro čerstvě připravené vzorky se zvyšující se koncentrací lecitinu (Obrázek 25). Jedním z důvodů byl příjem vody během gelace, který se zvyšoval u vzorků s vyšší koncentrací lecitinu (Obrázek 27), kde amfifilní složka hrála hlavní roli při přípravě iontově zesíťovaných hydrogelů. Větší přidavek lecitinu taktéž změnil některé hydrogelové vlastnosti (Tabulka 4). Průměrné hodnoty modulů z LVO s přidávkou lecitinu úměrně klesaly, což činilo studovaný gel měkčí. Nejpravděpodobnějším vysvětlením bylo, že po síťování alginátu vápenatými ionty, byl v systému stále přítomen volný chlorid vápenatý, který byl schopen interagovat s přidávanými lecitinovými micelami díky své disociované formě. Vyšší obsah lecitinu způsoboval konkurenční interakci a v důsledku toho lecitin vytěsňoval vápenaté ionty v zesítěném alginátu. Další lecitin by mohl interagovat s alginátem prostřednictvím kvartérního amoniaku nebo s vápenatými ionty prostřednictvím záporně nabitých fosfátových zbytků. Pro vysvětlení snižujících se hodnot modulů je možné navrhnout, že nově vytvořené uzly byly slabší a v menším množství, nežli tomu bylo u původního alginátového gelu. Konkurenční interakce byly pozorovatelné i během přípravy vzorku, kde byla sraženina viditelná na povrchu roztoku. Byly také potvrzeny měřeními viskozity, kde roztok chloridu vápenatého a lecitinu měl vyšší hodnoty viskozity, než se očekávalo (po srovnání s viskozitou lecitinu ve vodě a chloridu vápenatého ve vodě [188]). Ostatní reologická

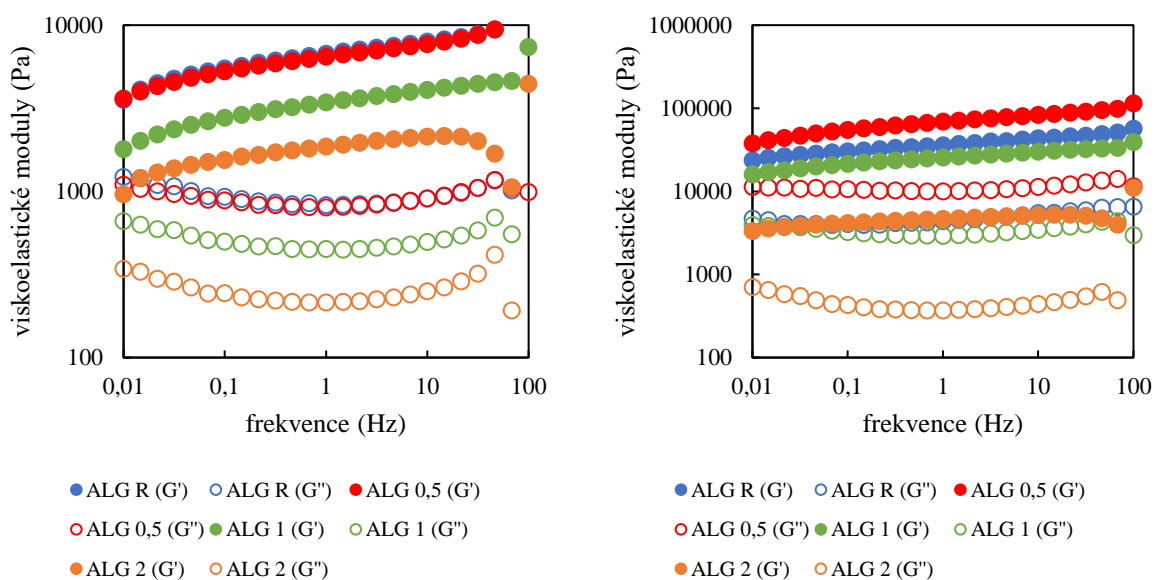
data byla velmi podobná pro všechny vzorky a jak již bylo uvedeno dříve, tak největší rozdíly byly v hodnotách modulů, tedy v pevnostech gelů.

Tabulka 4: Hodnoty pro iontově síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením

Clecitin (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	150,4 ± 9,1	260,4 ± 18,6	1667 ± 192	165 ± 23	1,7*	10,9 ± 0,4
0,5	158,6 ± 12,5	275,3 ± 24,5	2138 ± 480	245 ± 66	1,3*	11,0 ± 0,7
1	110,8 ± 1,2	260,8 ± 5,4	1052 ± 1	104 ± 1	1,6 ± 0,3	13,8 ± 1,9
2	65,3 ± 17,9	278,2 ± 9,0	468 ± 15	41 ± 1	2,1 ± 0,4	17,3 ± 1,5

*Odchylka byla menší než 1 %.

Hodnoty modulů vykazovaly u rehydratovaných hydrogelových vzorků podobný trend jako tomu bylo u vzorků studovaných hned po přípravě. A tedy, že hodnoty modulů klesaly s rostoucí koncentrací lecitinu. Průměrné hodnoty modulů v LVO, zaznamenané v tabulce níže (Tabulka 5), měly vyšší hodnoty než ty zaznamenané v tabulce pro hydrogely ihned po přípravě (Tabulka 4), protože rehydratované vzorky nebyly schopny reabsorbovat stejné množství vody, jako čerstvě připravené hydrogely. Takové chování mohlo být způsobeno kompaktním uspořádáním upřednostňujícími nekovalentní interakce (hlavně iontové interakce indukované Ca^{2+} ionty na alginátové i lecitinové složky) během procesu vysušení.



Obrázek 26: Graf frekvenčních testů pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přídávky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

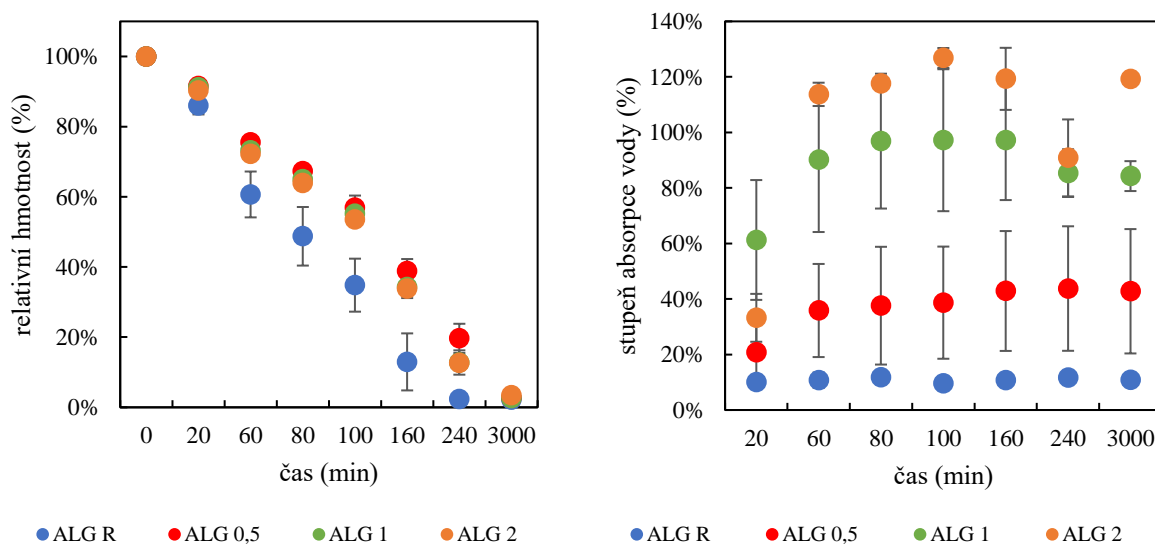
Reogramy získané během frekvenčních oscilačních testů (zaznamenaný jako viskoelastické moduly závislé na aplikované frekvenci) (Obrázek 26) vykazovaly hodnotový trend totožný

s amplitudovými deformačními testy (paměťové a ztrátové moduly jako funkce použitého napětí při 1 Hz) pro všechny alginátové a alginát-lecitinové hydrogely. Hodnoty velikosti pórů vypočítaných z reologických testů (frekvenční oscilační test) pro iontově síťované hydrogely studované po přípravě napovídají, jak lecitin ovlivňuje strukturní vlastnosti hydrogelů. Vyšší přídavky lecitinu způsobovaly, že hydrogely měly větší póry (více než o 50 %, pokud porovnáme hydrogely bez a s 2 hm.% přídavkem). Vliv lecitinu nebyl pozorován u vzorků, které prošly vysušením a následnou rehydratací. I když iontově zesítěné hydrogely měly schopnost reabsorbovat vodní disperzní médium a opět vytvořit síťovou vnitřní strukturu přijmem vody, tak i přesto byla jejich struktura pravděpodobně poškozena procesem sušení na vzduchu. Nabotnalé hydrogely se při porovnání se vzorky studovanými po přípravě lišily (např. hydrogely s 2 hm.% měly póry velké 17,3 nm, kdežto hydrogely se stejnou koncentrací lecitinu po rehydrataci je měly velké 7,6 nm). Proto byl efekt lecitinu na velikost pórů hydrogelových vzorků připravených vysušením a nabotnáním ve vodě zanedbatelný.

Tabulka 5: Hodnoty pro iontově síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci

c_{lecitin} (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	479,2 ± 129,7	210,8 ± 119,7	26342 ± 13355	3191 ± 1346	1,6 ± 0,4	4,6 ± 1,4
0,5	894,9 ± 612,4	522,6 ± 51,8	68513 ± 17434	9861 ± 1533	0,6 ± 0,6	12,3 ± 2,1
1	1179,5 ± 106,7	209,1 ± 37,3	25386 ± 741	2912 ± 45	1,2 ± 0,2	8,3 ± 1,8
2	553,5 ± 24,3	189,5 ± 17,4	4599 ± 500	1842 ± 1447	2,4*	7,6 ± 0,5

*Odchylka byla menší než 1 %.



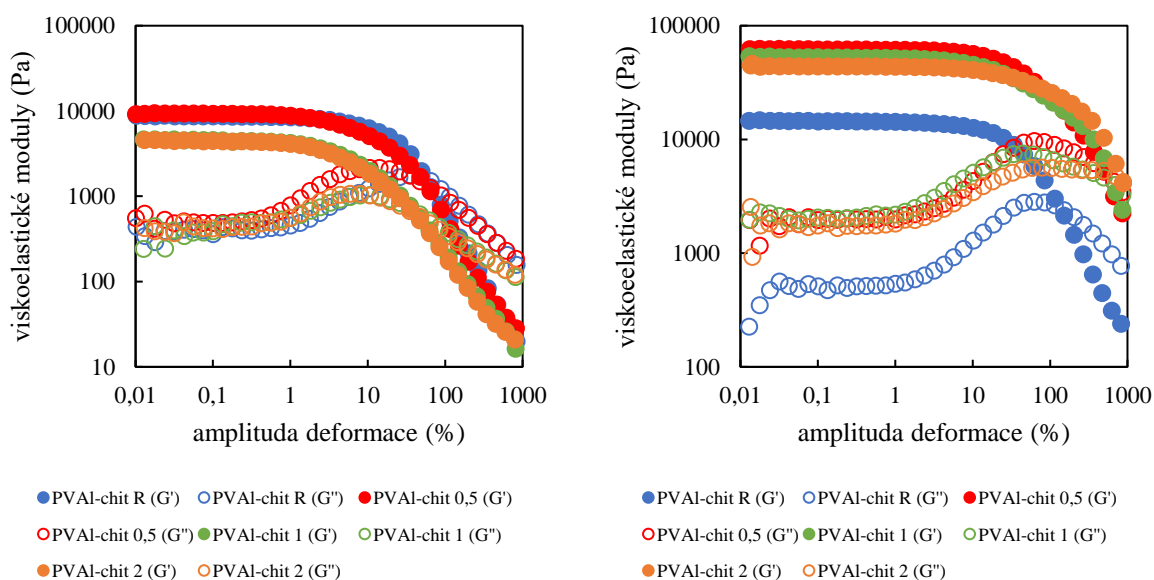
Obrázek 27: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) iontově síťovaných hydrogelů (alginát 2 hm.%) s různými přídavky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)

Křivky sušení pro systém alginát-lecitin byly velmi podobné nezávisle na obsahu lecitinu, na rozdíl od výsledků získaných pro referenční vzorky bez lecitinu (Obrázek 27). Rozdíly v kinetice sušení mohly být způsobeny tím, jak lecitin zaplňoval hydrogelové póry, čímž zadržoval vodu, a také díky příznivým elektrostatickým Ca^{2+} -lecitin interakcím, které ovlivňovaly strukturu hydrogelu a umožňovaly mu tak lépe zadržovat vodu. Zaměříme-li se na botnání vysušených vzorků, tak šlo pozorovat, že vzorky s vyšším obsahem lecitinu byly schopny absorbovat vodu rychleji a s vyšší kapacitou, což bylo možné díky lecitinem modifikované hydrogelové síti.

Vliv lecitinu na tento typ síťování je také zřejmý. Lecitin výrazně ovlivňuje viskoelastické vlastnosti, což z těchto hydrogelů dělá aplikačně zajímavé prostředí s odlišným předpokladem využití než fyzikálně síťované hydrogely. V případě potřeby odlišných a modifikovatelných viskoelastických prostředí pro růst buněk, je iontově síťovaný alginát velmi zajímavou alternativou k ostatním druhům síťování.

6.1.3 Chemicky síťované hydrogely

Reprezentativním zástupcem tohoto typu síťování byla směs polyvinylalkoholu (PVAL) a chitosanu chemicky síťovaná do hydrogelové matrice epichlorohydrinem. Epichlorohydrin v tomto systému reaguje buďto s hydroxylovou skupinou PVAL nebo aminoskupinou chitosanu za vzniku vysoce reaktivního meziprojektu. Tento meziprojekt reaguje s jinou hydroxylovou (PVAL) nebo aminoskupinou (chitosan) k vytvoření zesíťované struktury. Byly studovány hydrogely v jejich nativním stavu, tak i po vysušení na vzduchu při 40 °C a jejich následné rehydrataci ze xerogelového stavu. V této sekci bude níže rozebrán vliv lecitinu na některé fyzikálně-mechanické vlastnosti modifikované právě přidavkem amfifilní složky. Postup a techniky přípravy jsou popsány v sekci 5.2.3.



Obrázek 28: Graf amplitudových deformačních testů pro chemicky síťované hydrogely (PVAL 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přidavky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

U chemicky síťovaných hydrogelů výsledky amplitudových deformačních testů ukázaly, že přidavek lecitinu modifikoval reologické vlastnosti hydrogelů (Obrázek 28). Nicméně, nejvyšší

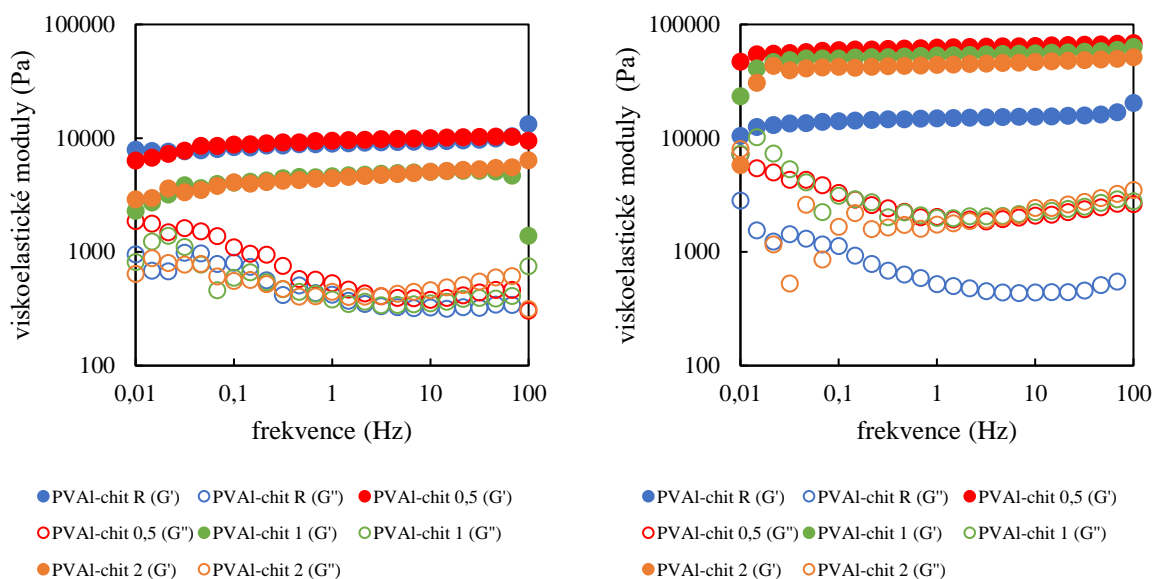
koncentrace lecitinu nevedla k dalším změnám mechanických vlastností. To potvrzují i zpracovaná data získaná z amplitudových testů (Tabulka 6). Vyšší hodnoty lecitinu snižovaly hodnoty značící konec LVO, stejně jako pevnost hydrogelů a hodnoty bodů překřížení. Výsledky dávají smysl zohlední-li se příprava a konečný stav hydrogelových vzorků. Důležitým krokem postupu přípravy bylo sušení kapalné směsi, což vedlo k zesílení uzlů a jejich následné rehydrataci. V přítomnosti lecitinu docházelo ke zlepšení rehydratačních vlastností.

Tabulka 6: Hodnoty pro chemicky síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením

c_{lecitin} (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	1665,3 ± 43,2	53,8 ± 8,2	8629 ± 304	398 ± 4	1,6 ± 0,3	13,6 ± 0,7
0,5	1005,5 ± 32,4	49,4 ± 18,4	6644 ± 1503	307 ± 44	1,2 ± 0,9	13,8 ± 0,6
1	666,6 ± 5,4	40,2 ± 3,2	4545 ± 129	377 ± 68	0,6 ± 0,1	12,7 ± 0,1
2	631,6 ± 24,7	39,1 ± 4,7	4398 ± 195	421 ± 5	0,7 ± 0,1	12,9 ± 0,1

Stejně experimenty byly provedeny pro vzorky hydrogelů ve vysušeném a následně rehydratovaném stavu. Vysušené a rehydratované hydrogely s lecitinem vměstnaným do pórů vykazovaly modifikované vlastnosti (Obrázek 28), konkrétně vyšší hodnoty modulů a pokles hodnot amplitudy deformace v bodě překřížení oproti referenčním vzorkům bez lecitinu. Jak je možné vidět na obrázku a tabulce (Obrázek 28 a Tabulka 7), tak přítomnost lecitinu způsobovala, že hydrogely po vysušení a rehydrataci byly výrazně odolnější vůči deformaci, což je v tabulce znázorněno vyššími hodnotami amplitudy deformace v bodě překřížení. Zároveň pro tyto rehydratované hydrogely způsoboval lecitin, nezávisle na jeho množství, modifikaci v pevnostech hydrogelů (průměrné hodnoty modulů v LVO) při porovnání s výsledky získanými pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely.

Výsledky frekvenčních a amplitudových testů naznačovaly stejný trend pro oba testy (Obrázek 28 a Obrázek 29). Z výsledků je zřejmé, že existuje kritická koncentrace lecitinu, po překročení které začíná modifikace vlastností těchto chemicky síťovaných hydrogelů (podle získaných výsledků leží tato hodnota mezi 0,5 a 1 hm.%). Při porovnání s referenčním hydrogelem bez lecitinu, tak u nejnižších studovaných přísad lecitinu (0,5 hm.%) nebyl ani u amplitudových ani u frekvenčních testů pozorovatelný téměř žádný rozdíl v hodnotách modulů. Vyšší přísady se pak hodnotově značně odlišovaly od referenčního hydrogelu, ale při vyšších hodnotách už nedocházelo k dalším změnám mezi jednotlivými koncentracemi lecitinu (rozdíl mezi 1 a 2 hm.% byly zanedbatelné).



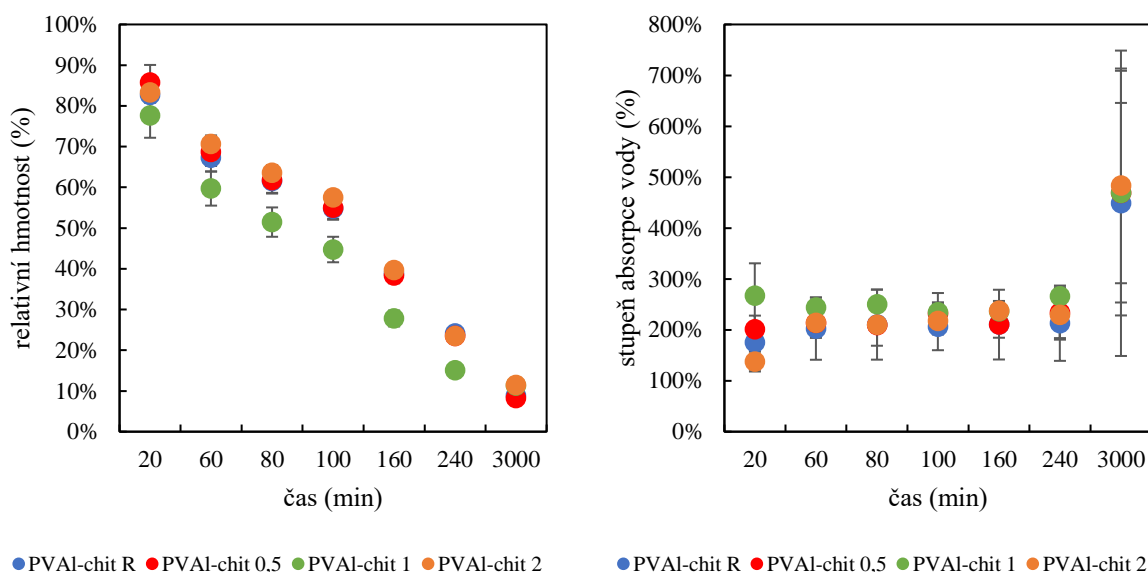
Obrázek 29: Graf frekvenčních testů pro chemicky síťované hydrogely (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísadky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)

Významným rozdílem u chemicky síťovaných hydrogelů (v porovnání s fyzikálním a iontovým síťováním) byl relaxační jev charakterizovaný mnohem delším relaxačním časem oproti kovalentně zesíťovaným systémům. Kovalentně zesíťované hydrogely vykazují téměř konstantní hodnoty paměťových modulů v celém rozsahu aplikované frekvence. Stejný trend byl také pozorován u vysušených a rehydratovaných hydrogelů. Opět u všech vzorků převládá paměťový modul oproti ztrátovému modulu. Velikosti pórů těchto vzorků (Tabulka 6 a Tabulka 7) nebyly obsahem lecitinu ovlivněny, což může být vysvětleno charakterem kovalentního zesíťování, které bylo silnější než fyzikální a iontové zesíťování. Na druhou stranu, stejný trend zmenšujících se pórů bylo možné pozorovat po rehydrataci vysušených vzorků.

Tabulka 7: Hodnoty pro chemicky síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci

c_{lecitin} (hm.%)	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO	Velikost pórů
	G' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	Pórovitost (nm)
0 (R)	2470,0 ± 494,7	138,5 ± 13,5	14514 ± 1413	532 ± 33	3,2*	11,6 ± 0,3
0,5	7122,4 ± 633,3	379,1 ± 233,0	62099 ± 6505	1928 ± 65	5,0 ± 1,0	7,1 ± 0,1
1	4964,6 ± 275,8	502,2 ± 277,5	52833 ± 10153	2089 ± 246	3,0 ± 1,7	6,2 ± 1,3
2	4074,2 ± 182,3	900,1 ± 97,5	43685 ± 3177	1761 ± 211	5,9 ± 2,3	8,1*

*Odchylka byla menší než 1 %.



Obrázek 30: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) chemicky síťovaných hydrogelů (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přidavky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)

Na obrázku (Obrázek 30) je vidět kinetika sušení a botnění, která nebyla významně ovlivněna přidavky lecitinu. Byl pozorován pouze okrajový vliv u vzorků s nejvyššími koncentracemi lecitinu, které posléze byly schopny absorbovat nejvíce vody. Tento, obecně menší, vliv lecitinu lze vysvětlit strukturou chemicky zesíťovaných hydrogelů, které se vyznačují dostatečně vysokou hustotou síťování a v důsledku toho menší velikostí pórů. Struktura je více organizovaná díky silnějším kovalentním vazbám. Absorpce vody pro tento druh hydrogelu se silnějšími kovalentními vazbami byla velmi rychlá a proběhla téměř okamžitě během první minuty botněního experimentu.

Jak se očekávalo, tak vliv lecitinu na chemicky síťované hydrogely není tak velký. To z něj dělá unikátní alternativu k dříve zmíněným fyzikálně a iontově síťovaným maticím. Zejména v případě využití tohoto prostředí pro růst buněk mohou být tyto neměnné viskoelastické vlastnosti velkým pozitivem.

6.1.4 Uvolňovací experimenty

Pro komplexní charakterizaci a popis vlivu lecitinu na hydrogelové vlastnosti byly všechny hydrogely studovány také difúzními experimenty. Hlavní veličinou poskytující informace o transportních vlastnostech studovaných hydrogelů a xerogelů byl efektivní difúzní koeficient (D_{eff} , $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Konkrétně se jedná o hodnotu, která popisuje, jak se léčiva nebo jednotlivá barviva uvolňují ven z hydrogelu. Pro difúzi v hydrogelech (mikroporézních systémech) je vliv tortuozity a rozdělovacího koeficientu zahrnut do sumárního difúzního koeficientu. Časový vývoj uvolňování lze vyjádřit následovně:

$$\frac{n_t}{n_{\text{rov}}} = \frac{4}{\delta} \cdot \sqrt{\left(\frac{D_{\text{eff}}}{\pi}\right)} \cdot \sqrt{t}, \quad (23)$$

$$k = \frac{4}{\delta} \cdot \sqrt{\left(\frac{D_{\text{eff}}}{\pi}\right)}, \quad (24)$$

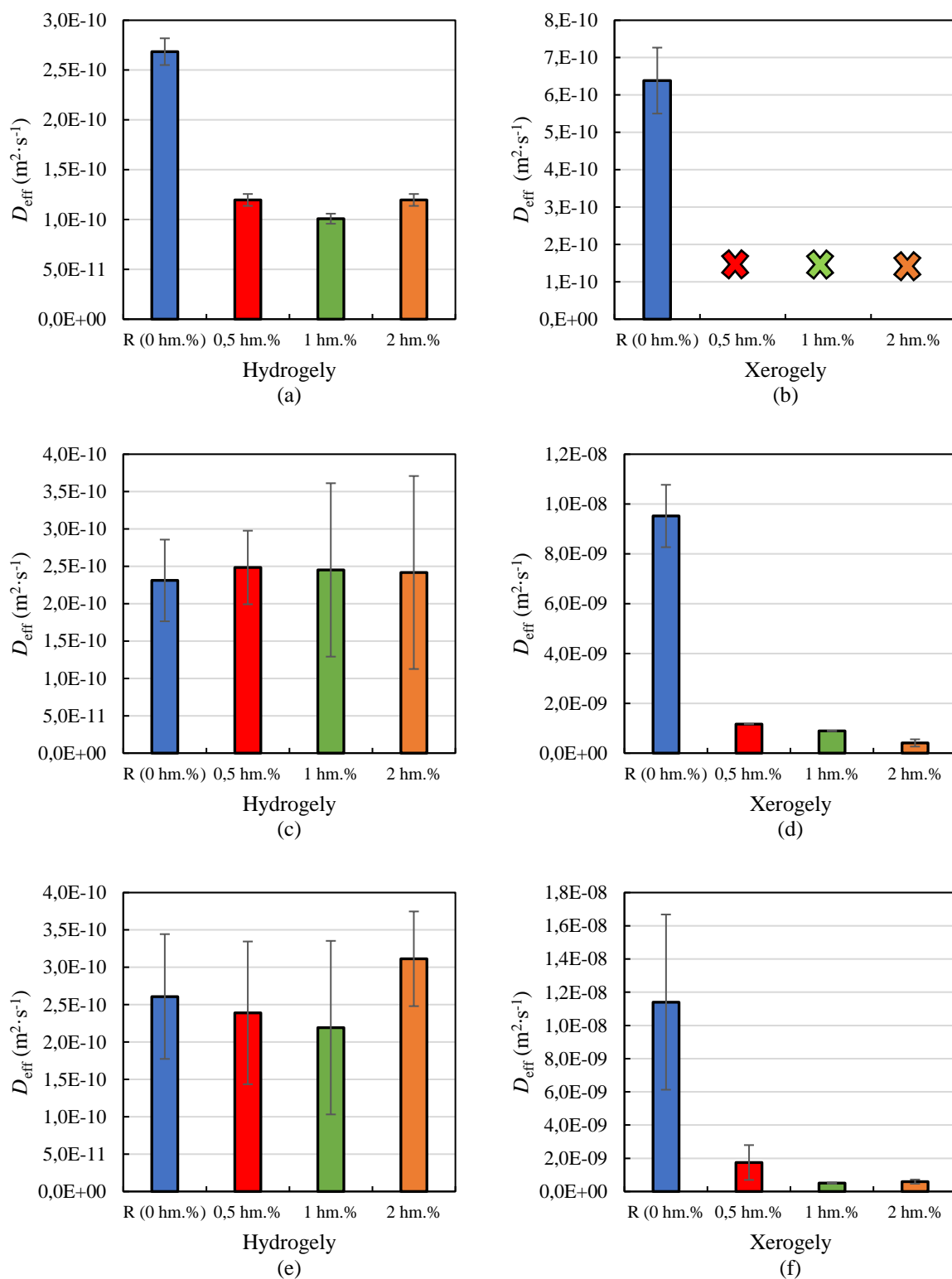
$$D_{\text{eff}} = \left(k \cdot \frac{4}{\delta}\right)^2 \cdot \pi \quad (25)$$

Celkové množství uvolněného barviva v určitém čase je vyjádřeno jako podíl množství látky v daném čase (n_t) děleno množstvím látky v rovnováze (n_{rov}). Efektivní difúzní koeficienty byly vypočítány ze směrnice lineární regrese tohoto poměru množství látky jako funkce druhé odmocniny času. Rozměry uvolňovacího média (hydrogelu) byly uvažovány jako koule s průměrem δ . Z tohoto jednoduchého výpočtu je zřejmé, že experimenty s uvolňováním je nutné provádět až do dosažení rovnovážného stavu (koncentrace uvolněného barviva se v čase nemění) [109]. Modelovými léčivy byla různě nabitá barviva. Ta byla vybrána tak, aby se lišila některými svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi (elektrický náboj, molekulová hmotnost anebo vizuální vlastnosti, jakým je např. absorpční maximum). Byly jimi kladně nabitý rhodamin 6G ($479,02 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) a záporně nabitá barviva eosin B ($580,09 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) a amidová čerň10B ($616,50 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$). Rhodamin 6G byl zvolen jako jediný kladně nabitý zástupce pro jeho vhodnou molekulovou hmotnost, která je srovnatelná s řadou používaných léčiv s kladným nábojem (např. loperamid nebo ebastin). Negativně nabitá barviva byla zvolena pro studium opačně nabitých lékových modelů a také pro vyvarování se interakcím s lecitinem.

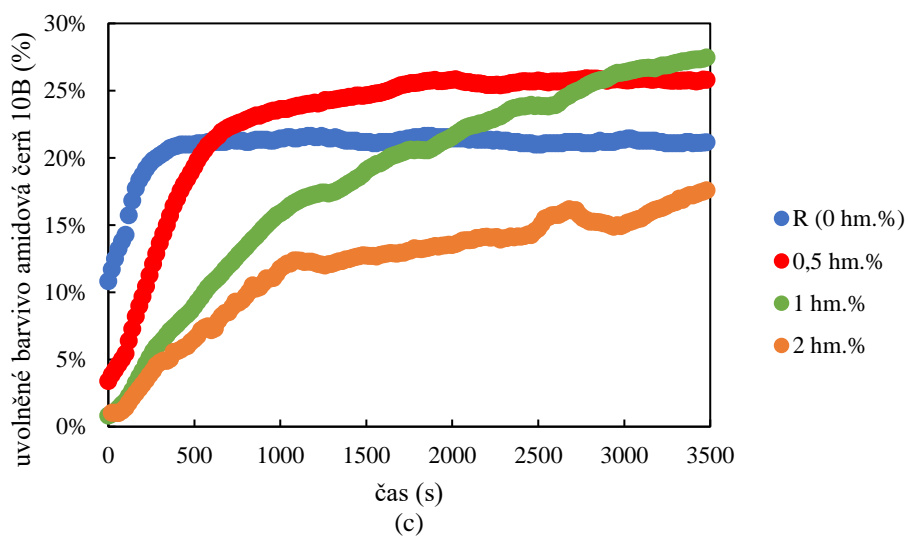
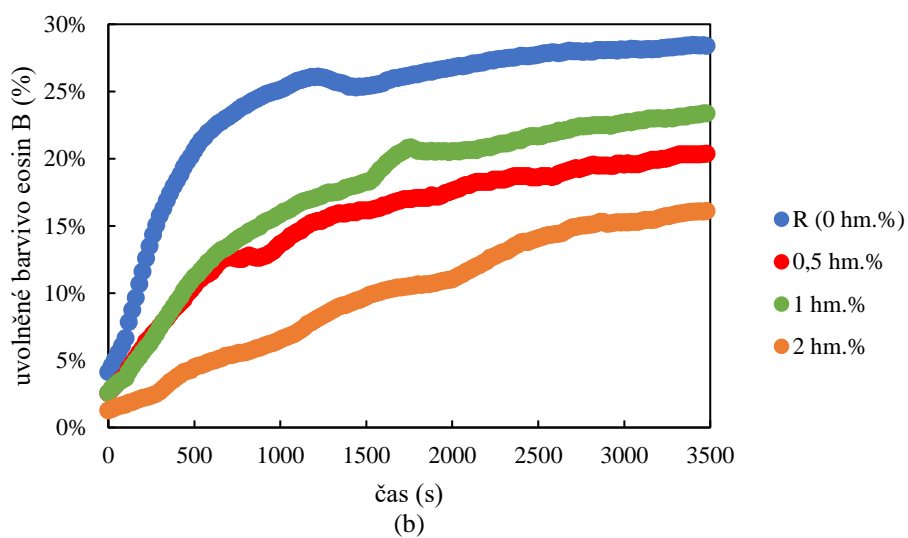
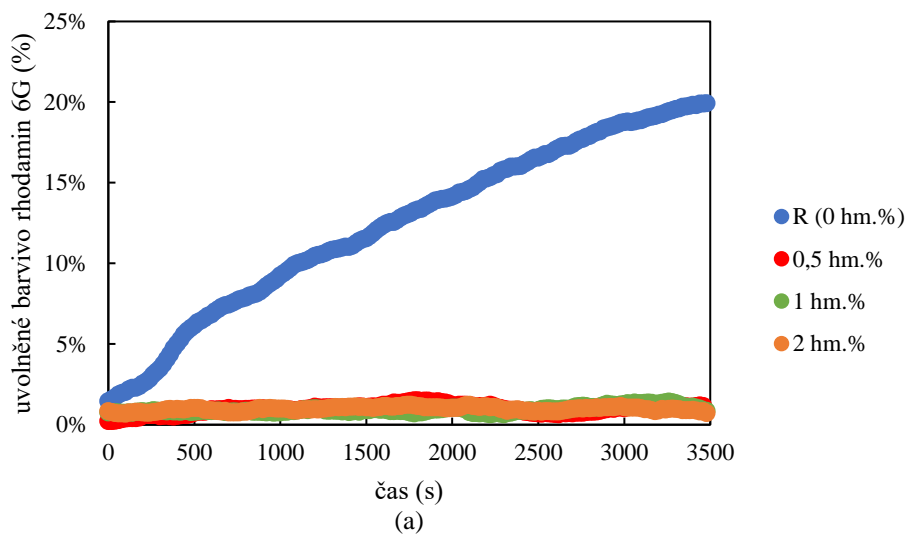
Stěžejní transportní parametry byly získány pro vzorky hydrogelů a xerogelů, které byly umístěny do nádoby naplněné destilovanou vodou a množství uvolněného barviva bylo kontrolováno a měřeno pomocí UV/Vis spektrofotometru (pro hydrogely). V případě xerogelů byly použity stejná modelová barviva, ale vzhledem k tomu, že docházelo k velmi rychlému uvolňování barviva ze vzorků xerogelů, tak bylo potřeba provádět častější měření v kratších intervalech. K tomu bylo využito UV/Vis optických sond v zapojení s detektorem a počítačem s vhodným optickým softwarem (OceanView), které byly v roztoku neustále ponořeny a dovolovaly nám získávat informace každých dvacet sekund. Ty byly propojeny s detektorem a počítačem, na kterém došlo k ukládání a vyhodnocování dat stále na základě UV/Vis spektrofotometrie.

6.1.4.1 Fyzikální síťování

Výsledky získané pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely modifikované lecitinem naznačují, že přídavek lecitinu ovlivňuje transportní vlastnosti snížením hodnoty difúzního koeficientu (Tabulka 8 a Obrázek 31a), což znamená, že uvolňování modelové organické sondy je výrazně zpomaleno. Během každého opakování experimentu ovšem docházelo k dodržení totožného trendu, kdy docházelo k poklesu difúzního koeficientu s rostoucí koncentrací lecitinu. Referenční vzorek okamžitě uvolnil větší množství barviva než ostatní hydrogely, zatímco vzorky s lecitinem uvolňovaly pozitivně nabitě barvivo výrazně pomaleji. To může být způsobeno pozměněnou vnitřní strukturou těchto hydrogelů v důsledku samouspořádání lecitinu uvnitř hydrogelu. Přítomnost lecitinu, stejně jako interakce mezi kladně nabitým rhodaminem 6G a záporně nabitými funkčními skupinami molekuly lecitinu, umožňovala částečné blokování barviva uvnitř hydrogelové struktury a tím zpomalení nebo oddálení uvolnění tohoto barviva. Podobný jev byl potvrzen v řadě publikací zabývajících se obstrukcí uvnitř agarózových hydrogelů [190, 191].



Obrázek 31: Efektivní difúzní koeficienty fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelových a xerogelových vzorků s různými koncentracemi lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%), hydrogely (a) a xerogely (b) s rhodaminem 6G, hydrogely (c) a xerogely (d) s eosinem B a hydrogely (e) a xerogely (f) s amidovou černí 10B



Obrázek 32: Časový vývoj experimentů s uvolňovaným barvivem rhodaminem 6G (a), eosinem B (b) a amidovou černí 10B (c), studované optickými UV/Vis sondami pro fyzikálně síťované agarózové xerogely s různými koncentracemi lecitinu

Tabulka 8: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G

Rhodamin 6G	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	2,7 ± 0,2	6,4 ± 0,9
0,5 hm.%	1,2 ± 0,1	—
1 hm.%	1,0 ± 0,1	—
2 hm.%	1,2 ± 0,1	—

Co se děje s hydrogelem po jeho vysušení, a jak tento děj ovlivňují přidané látky do gelu? Pro zodpovězení této otázky byly výše zmíněné studované hydrogely vysušeny a studovány v jejich vysušeném (xerogelovém) stavu. Jednalo se o totožné vzorky (co se týče množství lecitinu a modelového léčiva) jako v případě hydrogelů. Velmi rychle se ovšem ukázalo, že uvolňování barviva ven z xerogelových vzorků bylo příliš rychlé pro stejné nastavení a vyhodnocení experimentu, jaké bylo provedeno pro hydrogelové vzorky. Z tohoto důvodu byl experiment upraven pro potřeby xerogelových vzorků. Nebylo možné tyto vzorky měřit v delších intervalech, ale uvolňování bylo potřeba studovat v prvních momentech experimentu. Tímto způsobem byla měřena absorbance vzorků, která byla následně přepočítána na koncentraci, vždy přibližně první hodinu, což u vzorků agarózových xerogelů stačilo k uvolnění dostatečného množství barviva k ustanovení rovnováhy.

Výsledky difúze získané pro rhodamin 6G v agarózových xerogelech modifikovaných lecitinem popisují interakci modifikátoru lecitinu s rhodaminem. To bylo zřejmé zejména ze skutečnosti, že nebylo možné získat adekvátní hodnoty pro efektivní difúzní koeficient po přidání lecitinu (Obrázek 31b). Difúzní koeficient pro referenční vzorek bez lecitinu byl jedinou hodnotou, kterou šlo z výpočtu difúzního koeficientu získat (Tabulka 8). U lecitinových přísadků nebylo množství uvolněného barviva, a tím i difúzní koeficient, měřitelné a s přibývajícím časem docházelo k deformaci vzorků, což by opět podpořilo předpoklad interakcí mezi lecitinem, rhodaminem 6G a agarózou. Tuto hypotézu podporuje i grafické znázornění uvolňování barviva z xerogelového systému (Obrázek 32a).

Dalšími použitými modelovými léčivy byly záporně nabitý eosin B a amidová čern 10B. Ty byly vybrány ke studiu opačně nabitých modelů a k zamezení interakcí s modifikátorem. Druhým studovaným modelovým barvivem byl záporně nabitý eosin B. Charakterizace procesu uvolňování barviva ve fyzikálně síťovaných hydrogelech a xerogelech modifikovaných přísadkou lecitinu byla analogická k měření rhodaminu 6G. Na počátku experimentu byl proces uvolňování barviva podobný pro všechny vzorky hydrogelu. Postupem času se uvolňování barviva zrychlovalo (vedlo k vyšší koncentraci barviva mimo vzorek) z referenčního vzorku a vzorků s nižšími koncentracemi lecitinu (Tabulka 9). Související difúzní koeficienty byly téměř identické pro všechny vzorky (Obrázek 31c), což bylo vysvětleno skutečností, že eosin B, lecitin a agaróza mezi sebou neinteragovaly [192], a difúze záporně nabitého eosinu B nebyla uvnitř hydrogelu zpomalena.

Tabulka 9: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem eosinem B

Eosin B	Hydrogel	Xerogel
	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	2,3 ± 0,6	95 ± 13
0,5 hm.%	2,5 ± 0,5	12*
1 hm.%	2,5 ± 1,2	9*
2 hm.%	2,4 ± 1,3	4 ± 2

*Odchylka byla menší než 1 %.

Výsledky pro fyzikálně síťované agarózové xerogely a eosin B jsou popsány na obrázku (Obrázek 31d) a tabulce výše (Tabulka 9). Difúzní koeficient je u referenčního vzorku větší než u vzorků s lecitinem (0,5 a 1 hm.%) a nejnižší u vzorku s nejvyšší koncentrací (2 hm.%). To naznačuje, že lecitin silně ovlivňuje koeficient a že i jeho malé přídavky koeficient výrazně snižují. Čím vyšší koncentrace lecitinu, tím nižší hodnota D_{eff} , zatímco rozdíly mezi samotnými D_{eff} hodnotami vzorků s lecitinem nebyly tak výrazné. Pokud však pomineme referenční vzorek, tak velikost difúzního koeficientu lineárně klesá se zvyšující se koncentrací lecitinu. Podle poměrně rychlého klesajícího trendu D_{eff} lze předvídat, že hodnota by se snížila ještě níže až do bodu, kdy by přídavek modifikátoru byl příliš velký a uvolňování barviva by bylo téměř zanedbatelné nebo dokonce by se úplně zastavilo. Tuto hypotézu podporuje i časový vývoj uvolňování eosinu B (Obrázek 32b), který vykresluje nejrychlejší počáteční uvolňování barviva u referenčního vzorku. U vzorků s různými koncentracemi lecitinu je zřejmé, že lecitin uvnitř systému způsoboval postupné zpomalování uvolňování. Vzorky s menšími přídavky lecitinu (0,5 a 1 hm.%) byly od sebe téměř nerozeznatelné a časový vývoj uvolňování byl velmi podobný. Nejvyšší přídavek lecitinu (2 hm.%) vedl k největšímu zpomalení.

Třetím barvivem, na kterém se prováděly difúzní experimenty, byla záporně nabitá amidová čern 10B. Výsledky získané pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely (Tabulka 10 a Obrázek 31e) zobrazují podobnosti s výsledky získanými pro předešlé záporně nabitě barvivo, eosin B. Kinetika uvolněného barviva si je navzájem velmi podobná, což platí i pro hodnoty difúzního koeficientu. Výsledky pro toto záporně nabitě barvivo lze shrnout tvrzením, že fyzikálně síťované hydrogely výrazně neovlivňují dobu uvolňování barviva a modelové léčivo se snadno z hydrogelu uvolňuje.

Tabulka 10: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem amidovou černí 10B

Amidová čern 10B	Hydrogel	Xerogel
	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	2,6 ± 0,8	110,0 ± 53,0
0,5 hm.%	2,4 ± 1,0	18,0 ± 1,0
1 hm.%	2,2 ± 1,2	5,0 ± 0,4
2 hm.%	3,1 ± 0,1	6,0 ± 1,0

Závěry pro fyzikálně síťované agarózové xerogely jsou poměrně jasné (Tabulka 10 a Obrázek 31f). Difúzní koeficient klesá se zvyšující se koncentrací lecitinu ve vzorcích hydrogelu ve srovnání s referenčním vzorkem, ve kterém žádné další faktory neovlivňují

transport amidové černi 10B. Jak je možné pozorovat v tabulce (Tabulka 10), tak čím vyšší byla koncentrace lecitinu, tím nižší byla získaná hodnota difúzního koeficientu. Je také zřejmé, že v případě nejvyšší koncentrace lecitinu (2 hm.%) bylo uvolňování barviva podstatně zpomaleno, pravděpodobně v důsledku specifických struktur lecitinu vytvořených uvnitř struktury hydrogelu. To je podpořeno i časovým vývojem uvolňování (Obrázek 32c). Tyto výsledky jsou velmi podobné výsledkům získaným pro eosin B, s jediným rozdílem v nejmenším přídávku lecitinu (0,5 hm.%), který je více podobný referenčnímu vzorku.

6.1.4.2 Iontové síťování

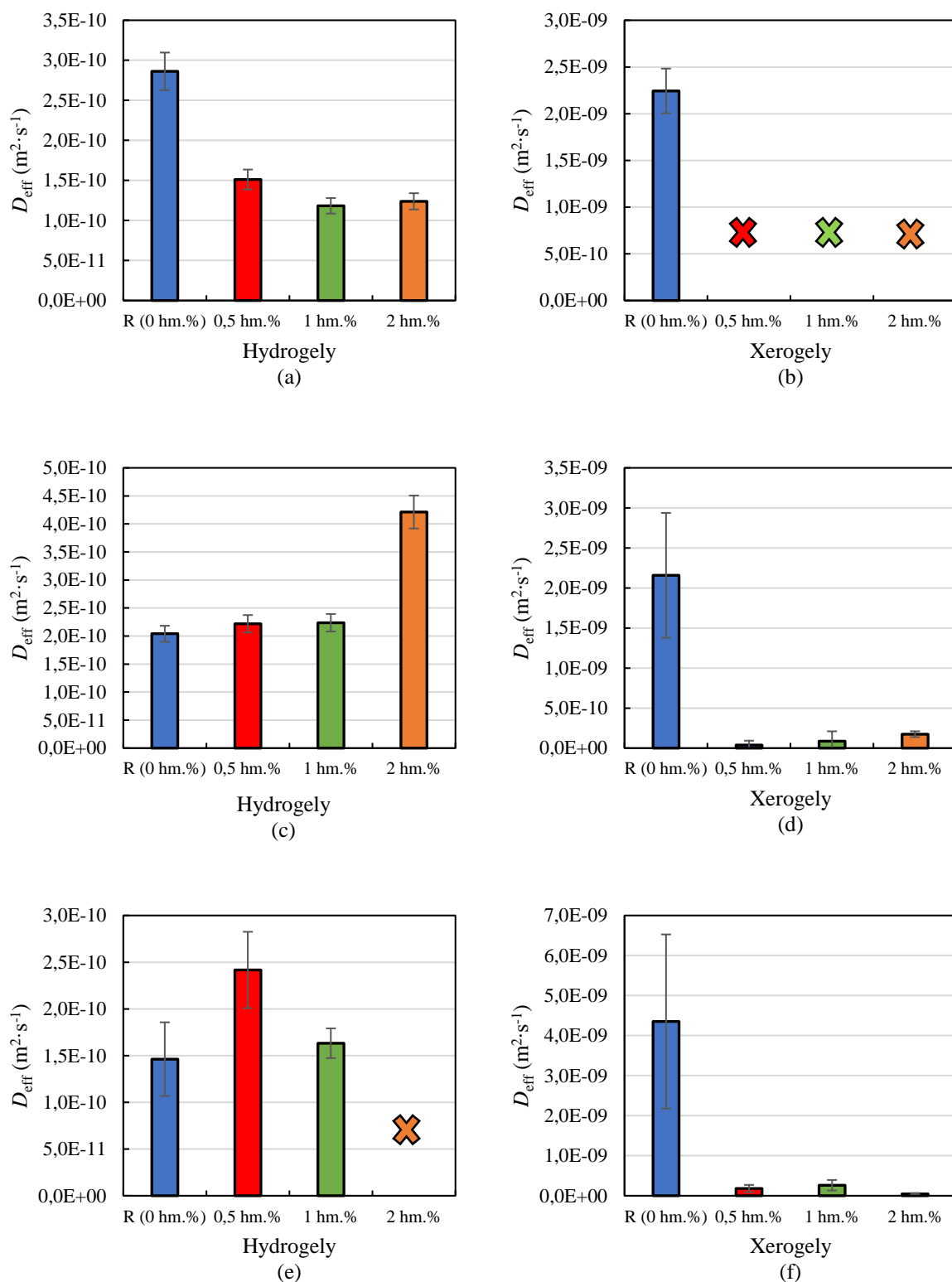
Prvním studovaným barvivem pro iontově síťovaný alginát, byl kladně nabitý rhodamin 6G. Lecitin, který byl do hydrogelů tohoto typu síťování přidáván jako modifikátor vnitřní struktury, byl studován ve třech různých koncentracích. Právě množství modifikátoru uvnitř bylo hlavním důvodem rozdílných transportních vlastností hydrogelů i xerogelů (Tabulka 11).

Referenční vzorek byl schopen uvolnit největší množství barviva, jelikož tento systém neobsahoval žádné množství struktury nebo artefakty, které by mohly sloužit jako překážky nebo jako úložný prostor pro barvivo. A jelikož by alginátový hydrogelový komplex měl vystupovat jako neutrální systém [193], tak by barvivo mělo vystupovat z hydrogelu bez jakýchkoliv interakcí [194]. S rostoucím počtem struktur (zvyšující se koncentrací lecitinu) se kinetika uvolňování barviva zpomalovala. Související hodnota difúzního koeficientu byla nejvyšší pro referenční vzorek a s rostoucí koncentrací jeho hodnota klesala (Obrázek 33a). Rozdíl mezi vzorky, které obsahovaly lecitinové struktury, byl ovšem velmi malý a rozdíly v hodnotách difúzního koeficientu byly zanedbatelné a potvrdily tak nevýznamný vliv koncentrace lecitinu na výslednou hodnotu difúzního koeficientu (ve srovnání s referenčním vzorkem).

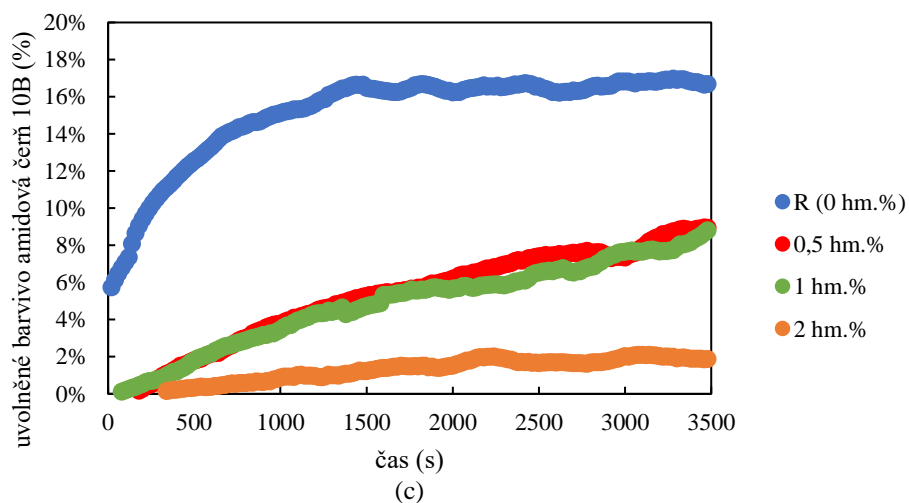
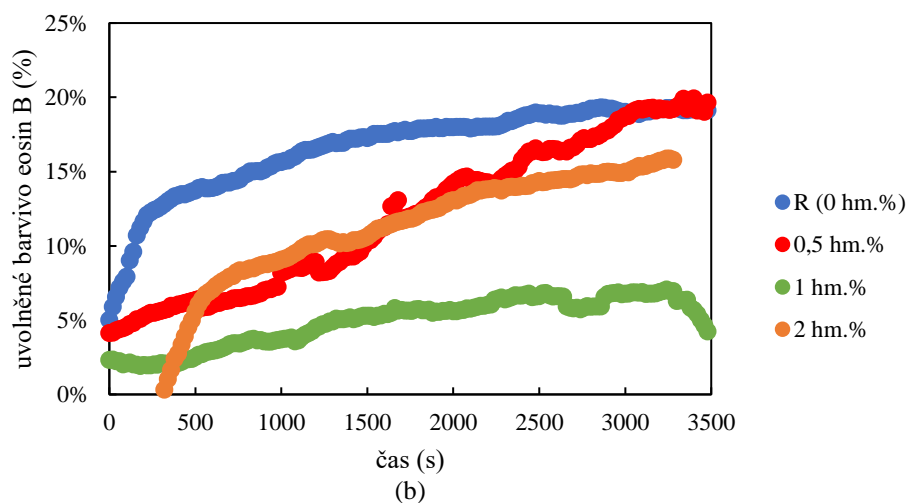
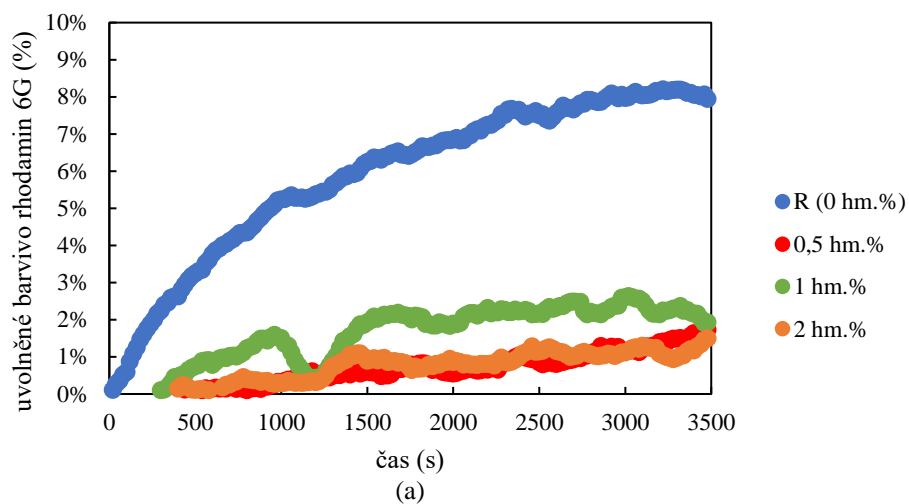
Iontově síťované alginátové xerogely poskytují velmi podobné výsledky jako vzorky fyzikálně síťované agarózy (Tabulka 11). Referenční vzorek, bez přídávku lecitinu, měl nejvyšší hodnotu difúzního koeficientu. V případě vzorků, do kterých byl lecitin přidáván, byla koncentrace barviva mimo xerogel nedetekovatelná (Obrázek 33b), pravděpodobně z důvodu blokování uvolňování pozitivně nabitého barviva způsobeného lecitinem po celý průběh experimentu. Časový vývoj uvolňování barviva (Obrázek 34a) byl téměř totožný s vývojem pro fyzikální síťované xerogely. Pozitivně nabitě barvivo bylo mimo xerogel téměř neměřitelné, čímž se potvrdily interakce s barvivem a také blokace způsobená lecitinovými přídávky [195].

Tabulka 11: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G

Rhodamin 6G	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	$2,9 \pm 0,2$	$22,0 \pm 2,4$
0,5 hm.%	$1,5 \pm 0,1$	—
1 hm.%	$1,2 \pm 0,1$	—
2 hm.%	$1,2 \pm 0,1$	—



Obrázek 33: Efektivní difúzní koeficienty iontově síťovaných alginátových hydrogelových a xerogelových vzorků s různými koncentracemi lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%), hydrogely (a) a xerogely (b) s rhodaminem 6G, hydrogely (c) a xerogely (d) s eosinem B a hydrogely (e) a xerogely (f) s amidovou černí 10B



Obrázek 34: Časový vývoj experimentů s uvolňovaným barvivem rhodaminem 6G (a), eosinem B (b) a amidovou černí 10B (c), studované optickými UV/Vis sondami pro iontově síťované alginátové xerogely s různými koncentracemi lecitinu

Ze studia záporně nabitých barviv (Tabulka 12) je zřejmé, že zvyšující koncentrace lecitinu zpomalovala uvolňování záporně nabitého eosinu B z iontově síťovaných alginátových hydrogelů. Difúzní koeficient pak byl velmi podobný pro každý vzorek bez ohledu na množství lecitinu v každém hydrogelu. Vzorek s nejvyšší koncentrací lecitinu (2 hm.%) vykazoval vysoké hodnoty odchylek, které byly způsobeny vysokým obsahem lecitinu uvolněného ze vzorku s barvivem (Obrázek 33c).

Tabulka 12: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem eosinem B

Eosin B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	2,0 ± 0,1	22,0 ± 7,8
0,5 hm.%	2,2 ± 0,2	0,4 ± 0,6
1 hm.%	2,2 ± 0,2	0,9 ± 1,2
2 hm.%	4,2 ± 0,3	1,7 ± 0,4

Difúzní koeficient iontově zesíťovaných alginátových xerogelů pro záporně nabitý eosin B (Tabulka 12), měl stejné hodnoty a trend, jaký byl zjištěn pro stejné barvivo u fyzikálně síťovaných xerogelů, což znamenalo, že referenční vzorek měl mnohem větší hodnotu difúzního koeficientu než ostatní vzorky, které byly ovlivněny přidávkou lecitinu (Obrázek 33d). To by naznačovalo, že zesíťování nemá u tohoto typu modelového léčiva (barviva) významný vliv na difúzní koeficient xerogelů. Časový vývoj uvolňování tohoto barviva ukazuje, že lecitin uvolňování zpomaloval [196]. Jak bylo uvedeno v předchozím odstavci, tak vzorek s nejvyšší koncentrací lecitinu (2 hm.%) měl z počátku nejpomalejší uvolňování, ale postupem času bylo možné pozorovat (Obrázek 34b) jeho zrychlení, které bylo způsobeno uvolňováním lecitinu.

Tabulka 13: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem amidovou černí 10B

Amidová černí 10B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 hm.%)	1,5 ± 0,4	44,0 ± 2,2
0,5 hm.%	2,4 ± 0,4	1,8 ± 0,1
1 hm.%	1,7 ± 0,2	2,6 ± 0,1
2 hm.%	—	0,5*

*Odchylka byla menší než 1 %.

Uvolňování druhého záporně nabitého barviva, amidové černí 10B, z iontově síťovaného alginátu bylo významně zpomaleno přidáním lecitinu do hydrogelové struktury. Související difúzní koeficient se zvyšoval se zvyšující se koncentrací až do 1 hm.% vzorku. Během experimentu bylo uvolňování barviva ze vzorků se dvěma nejvyššími koncentracemi buď neměřitelné, nebo vykazovalo velké odchylky. To bylo způsobeno rozpadem hydrogelu, což vedlo k uvolňování jak barviva, tak lecitinu. Řádově podobnou hodnotu pro difúzní koeficient (Obrázek 33e, Tabulka 13) šlo pozorovat pro druhé záporně nabitě barvivo, eosin B. Nicméně rozdíly mezi jednotlivými vzorky pro amidovou černí 10B byly zřejmé. To ovšem nelze říci pro vzorky s eosinem B. Ve srovnání s fyzikálně síťovanými agarózovými hydrogely, opět pro

amidovou černí 10B, měl koeficient hodnoty ve stejném řádu, ale systém byl stabilnější v případě vzorku s nejvyšší koncentrací lecitinu.

Difúzní koeficient a průběh uvolňování pro iontově zesíťované alginátové xerogely s amidovou černí, probíhal totožně jako pro fyzikálně síťované xerogely s tímto barvivem. Ve směru k vyšším hodnotám koncentrace lecitinu docházelo k postupnému snižování hodnoty difúzního koeficientu (Obrázek 33f a Obrázek 34c).

6.1.4.3 Chemické síťování

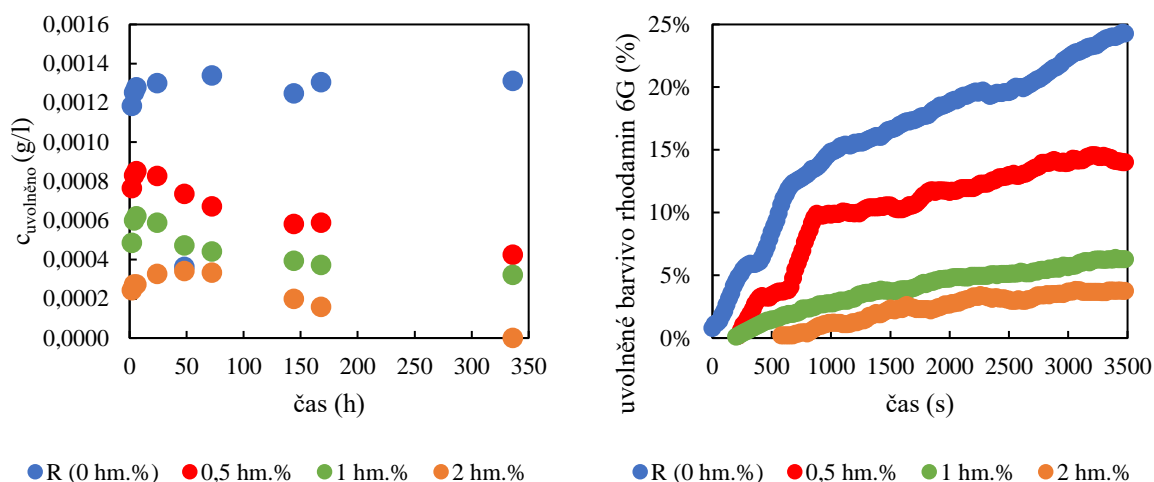
Směs PVAI s chitosanem zesíťovaným epichlorohydrinem byla studována jako reprezentativní zástupce chemického síťování hydrogelů. Stejně jako pro fyzikální a iontové síťování, tak i k těmto vzorkům byly přidávány různé přísady lecitinu, aby mohlo dojít ke studiu vlivu tohoto modifikátoru na transportní vlastnosti xerogelů s tímto typem síťování. Chemicky zesíťované vzorky byly studovány pouze v jejich xerogelové formě, protože způsob přípravy vede ke směsi ve vysušeném stavu, takže opětovaná rehydratace by byla zbytečná (vzorky by se od xerogelových vzorků nijak nelišily) a vzorky by vykazovaly stejné výsledky u vzorků ve vysušeném stavu, tak jako pouze rehydratované vzorky.

Hlavními vyhodnocovanými veličinami byly difúzní koeficient a množství uvolněného barviva. Ke studiu transportních vlastností chemicky síťovaných vzorků PVAI-chitosanu byla, stejně jako u předešlých síťování, použita tři různá barviva, kladně nabitý rhodamin 6G a záporně nabitý eosin B a amidová černí 10B. Záporně nabitá barviva se uvnitř gelu držela velmi silně, což bylo způsobeno malými póry ve vysoce organizované struktuře chemicky zesíťovaného gelu. Jediné barvivo, které bylo měřitelné mimo gel, bylo uvolněno ihned po začátku experimentu. Jak bylo možné pozorovat z výsledků pro záporně nabitá barviva, tak dlouhé a ani krátké difúzní experimenty, zaměřené na první hodinu experimentu, nebyly schopny poskytnout výsledky, které by byly možné analyzovat a získat informace o difúzním koeficientu. U obou barviv došlo z xerogelu k uvolnění pouze zbytkového barviva.

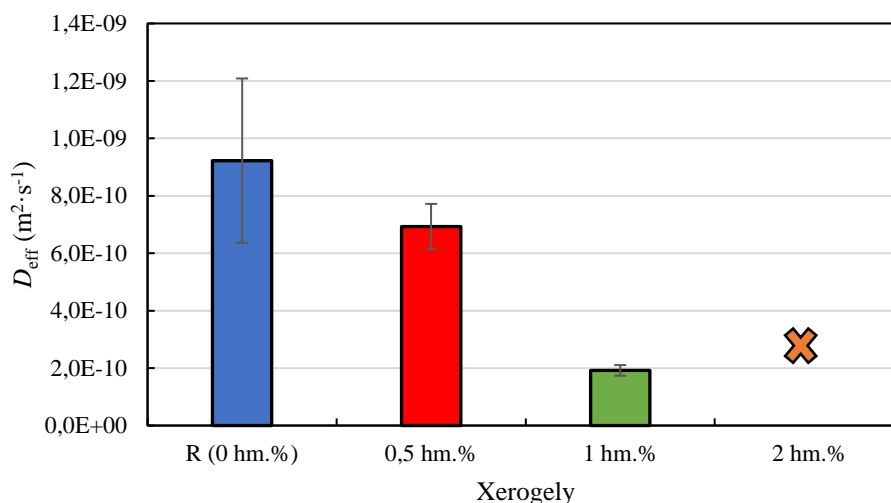
Experimenty s kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G, byly jediné, které poskytly výsledky dostatečné pro analýzu a získání informací o difúzním koeficientu rhodaminu 6G uvnitř chemicky síťovaného PVAI-chitosanového gelu. Uvolňování barviva bylo velmi rychlé a delší nastavení experimentu nebylo pro tento typ gelu vhodné. Pouze experiment zaměřený na první hodinu difúze byl schopen přinést výsledky. Lecitin ovlivňoval množství uvolněného barviva (Obrázek 35), s rostoucí koncentrací lecitinu se množství uvolněného barviva snižovalo. Totéž lze říci o difúzním koeficientu (Obrázek 36, Tabulka 14), kde výsledky získané pro nejvyšší koncentraci lecitinu (2 hm.%) nebyly jednoznačné, protože tato koncentrace lecitinu vedla k poškození PVAI-chitosanového xerogelu.

Tabulka 14: Difúzní koeficient (D_{eff}) získaný z výpočtů z analýzy uvolňovacích experimentů chemicky síťovaných PVAI-chitosanových xerogelů s různými přísadami lecitinu s kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G

Xerogel ($C_{lecitin}$)	R (0 hm.%)	0,5 hm.%	1 hm.%	2 hm.%
$D_{eff} \times 10^{-10}$ ($m^2 \cdot s^{-1}$)	$9,2 \pm 2,9$	$6,9 \pm 0,8$	$1,9 \pm 0,2$	—



Obrázek 35: Koncentrace uvolněného barviva rhodaminu 6G z xerogelových vzorků pro experiment dlouhý několik dní (vlevo) a časový vývoj uvolňovacího experimentu (rhodamin 6G) pro prvních 60 minut, kontrolováno optickými UV/Vis sondami pro chemicky síťovaný PVAL-chitosan (vpravo)



Obrázek 36: Hodnoty difúzních koeficientů pro kladně nabitý rhodamin 6G, který se uvolňoval z chemicky síťovaných PVAL-chitosanových xerogelů s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)

Popis vlivu lecitinu na transportní vlastnosti různě síťovaných hydrogelů je složitější než pouhé konstatování v čem jednotlivá síťování či druhy hydrogelů vynikají, tak jak to bylo možné při popisu viskoelastických vlastností. Jelikož se jedná o popis toho, jak se určitá látka chová uvnitř daného prostředí, tak dané použití velmi záleží na konkrétní transportované látce. Je zřejmé, že lecitin transportní vlastnosti modifikuje, ale při výběru vhodného prostředí velmi záleží na konkrétní aplikaci. Co je ovšem pro všechny typy hydrogelů stejné, že s jakýmkoliv přísadkou lecitinu do systému došlo k prodloužení doby uvolňování. To stejné by se dalo očekávat v případě aplikace buněk uvnitř hydrogelových systémů.

6.1.5 Difúzní cely

Studium transportních vlastností pomocí difúzních cel přináší řadu výhod oproti jiným popsaným experimentálním technikám, které tkví zejména v jejich jednoduché manipulaci, dostupnosti a zároveň v zapojení s difúzními sondami, což umožňuje jednoduše získávat

požadovaná data. Pro potřeby tohoto výzkumu se jednalo zejména o hodnoty difúzních koeficientů získaných za využití rovnice pro výpočet D_{eff} (24). Díky této technice je možné studovat průchod modelového léčiva skrze studovaný hydrogel. Zároveň tyto testy modelují bariérové vlastnosti hydrogelů, které v lidském těle představují jednu z překážek pohybu léčiva (hlenové vrstvy, např. mucin na povrchu orgánů a dalších tkání). Tyto poznatky doplňují dříve zmíněné studium uvolňování barviva z hydrogelových systémů. Závěry z těchto obou technik mohou sloužit k charakterizaci studovaného systému a pro závěry o jeho aplikačním potenciálu.

Postup přípravy a zapojení byl popsán dříve (kapitola 5.3.3). Modelová léčiva byla využita totožná jako pro uvolňovací experimenty (rhodamin 6G, eosin B a amidová čern 10B). To stejné platilo i o studovaných hydrogelových systémech, tedy fyzikálně síťované agaróзовé hydrogely, iontově síťované alginátové hydrogely a chemicky síťovaná směs PVA1 a chitosanu. Bohužel z komplexnosti sítě, se kterou souvisí i velikost pórů, což již bylo komentováno v předešlé kapitole (kapitola 6.1.4.3), tak nedocházelo k prostupu žádného barviva skrze chemicky síťované hydrogely v rámci přijatelné časové osy (dříve, než došlo k prostupu barviva docházelo k uvolňování lecitinu a rozpadu gelu). Proto jsou níže komentovány závěry pouze pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely. Kvůli časové délce experimentů (doba prostupu modelového léčiva byla delší nežli doba experimentu potřebná pro uvolňovací pokusy), tlakům a dalším externím faktorům, které působily během delšího trvání na hydrogely, byla snížena koncentrace modifikátoru aplikovaná do systémů na 0,1 a 0,25 hm.% lecitinu. Tento krok prodloužil životnost hydrogelů pro tento experiment, což vedlo k tomu, že se hydrogely nezačaly rozpadat působením lecitinu snažícího se uvolnit ven z hydrogelu spolu s barvivem, nebo jinými faktory.

Pro tento typ experimentu byl efektivní difúzní koeficient vypočítáván ze vztahu, kde byl opět do sumárního difúzního koeficientu (D_{eff}) zahrnut také vliv tortuozity a rozdělovacího koeficientu [109]:

$$D_{\text{eff}} = \frac{1}{\varepsilon} \left(\frac{dn_1}{dt} \right) \cdot \left(\frac{l}{\Delta c_{10}} \right), \quad (26)$$

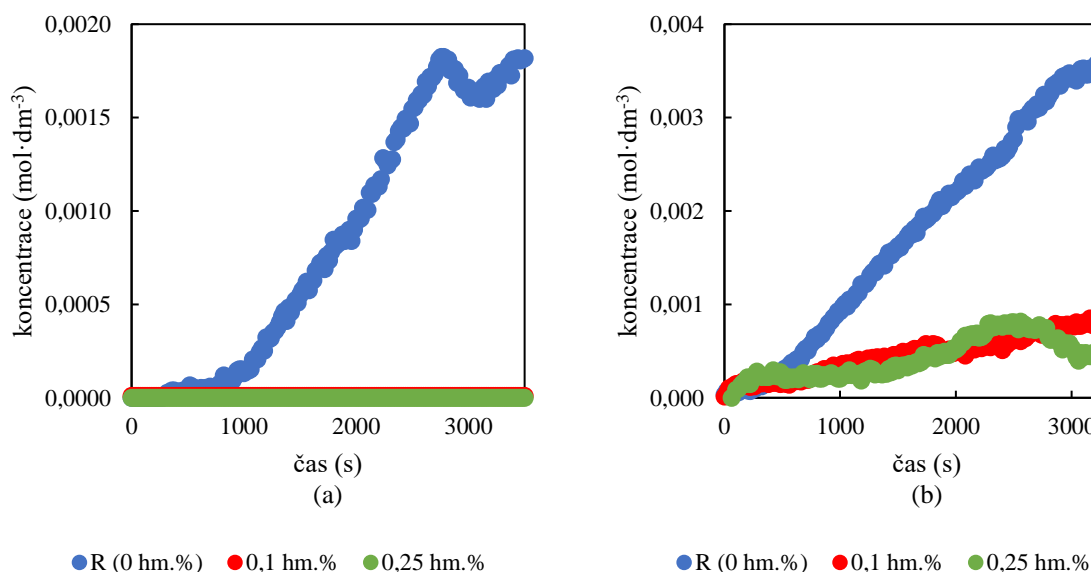
kde dn_1/dt je směrnice lineární části časové závislosti celkového difúzního toku do přijímací cely, l značí velikost/délku gelu a Δc_{10} je hodnota koncentračního rozdílu difundující látky mezi celami.

Prostup kladně nabitého barviva skrze fyzikálně síťované agaróзовé hydrogely byl pro modifikované hydrogely komplikovaný a neprošlo dostačující množství barviva, aby bylo možné dopočítat difúzní koeficient charakterizující tento proces (Tabulka 15 a Obrázek 37a). Tento výsledek koresponduje s tím, co jsme zjistili u uvolňovacích experimentů, kdy právě rhodamin 6G se téměř z hydrogelového systému neuvolňoval, což bylo zdůvodněno interakcí mezi barvivem a modifikátorem.

Tabulka 15: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí kladně nabitého rhodaminu 6G

Rhodamin 6G	Fyzikálně síťovaná agaróza			Iontově síťovaný alginát		
	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10}$ (m ² ·s ⁻¹)
R (0 hm.%)	6,7	0,092	12	6,8	0,089	19,0
0,1 hm.%	—	—	—	1,5	0,088	4,9
0,25 hm.%	—	—	—	3,0	0,088	7,7

Obdobné výsledky byly získány pro iontově síťované alginátové hydrogely. Přidávky lecitinu postupně snižovaly hodnoty difúzních koeficientů (Obrázek 37b). Na rozdíl od agarózových hydrogelů bylo možné difúzní koeficienty dopočítat pro všechny studované systémy, což bylo nejspíše způsobeno odlišnou alginátovou strukturou a také výskytem bivalentních Ca²⁺ iontů, které mohly interagovat s barvivem namísto lecitinu. Kromě difúzních koeficientů byly zaznamenány také časy průchodu barviva skrze hydrogel z donorové do akceptorové cely a také zachycené barvivo uvnitř hydrogelu. Čas průchodu pro vzorek bez lecitinu byl téměř totožný pro oba typy síťování. Ovšem přidávky lecitinu do alginátového hydrogelu ten čas snižovaly nezávisle na množství lecitinu. Kromě toho lecitin neměl vliv na množství barviva drženého uvnitř gelu.



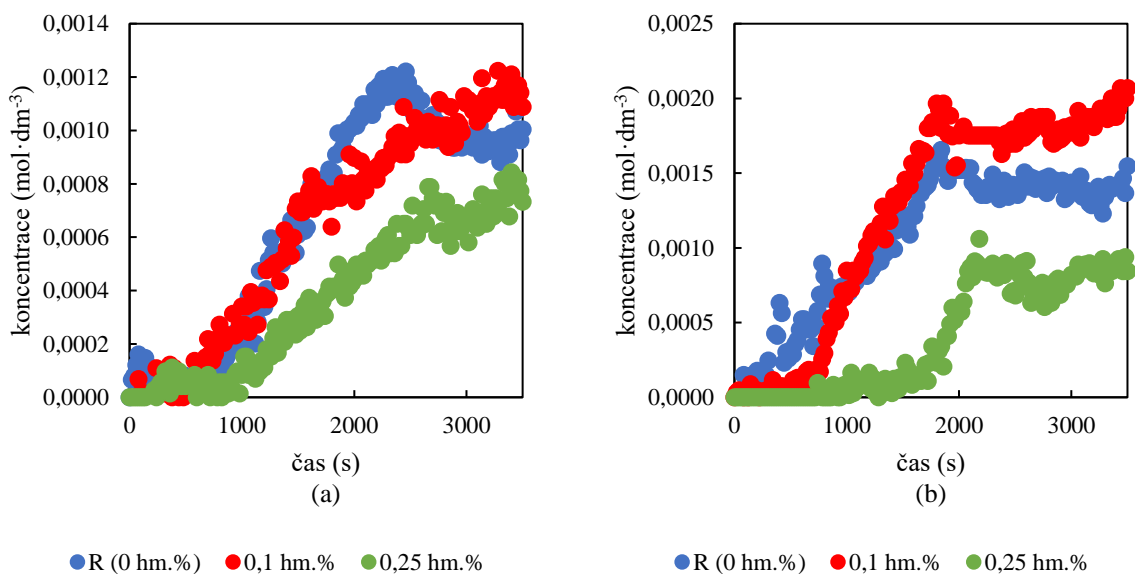
Obrázek 37: Časový průběh změny koncentrace rhodaminu 6G po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přídávky lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele

Při použití eosinu B jako modelového léčiva (Tabulka 16), vedl nižší přidavek lecitinu (0,1 hm.%), jak u agarózových (Obrázek 38a), tak i u alginátových (Obrázek 38b) hydrogelů k modifikaci difúzních vlastností. Zvyšující koncentrace lecitinu vedla k úměrnému zvyšování difúzního koeficientu. U agarózových hydrogelů neměl nejnižší přidavek na hodnotu koeficientu vliv, ovšem u koncentrace 0,25 hm.% byla již změna znatelná. U alginátových hydrogelů se difúzní koeficient snižoval s rostoucí lecitinovou koncentrací až při vyšších

přidavcích lecitinu. To mohlo být způsobeno samouspořádáním lecitinu a také nižší molekulovou hmotností tohoto modelového léčiva oproti amidové černi 10B. Čas průchodu se jeví být veličina nezávislá na koncentraci lecitinu a spíše ovlivnitelná konkrétní hydrogelovou strukturou. Stejně jako tomu bylo u rhodaminu 6G, tak koncentrace barviva uvnitř gelu byla shodná pro všechny hydrogely, což potvrzovalo to, že lecitin neovlivňoval množství barviva, které bylo schopné hydrogel ve své struktuře držet v případě, kdy mělo barvivo možnost prostupovat dále do prostředí, kde se vyskytovalo v nižší koncentraci a kam plynulo postupným koncentračním gradientem.

Tabulka 16: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí záporně nabitého eosinu B

Eosin B	Fyzikálně síťovaná agaróza			Iontově síťovaný alginát		
	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10}$ (m ² ·s ⁻¹)
R (0 hm.%)	5,4	0,062	18,0	1,8	0,062	24,0
0,1 hm.%	1,5	0,061	12,0	4,1	0,062	35,0
0,25 hm.%	7,4	0,062	9,9	1,2	0,061	1,9



Obrázek 38: Časový průběh změny koncentrace eosinu B po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přidavky lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele

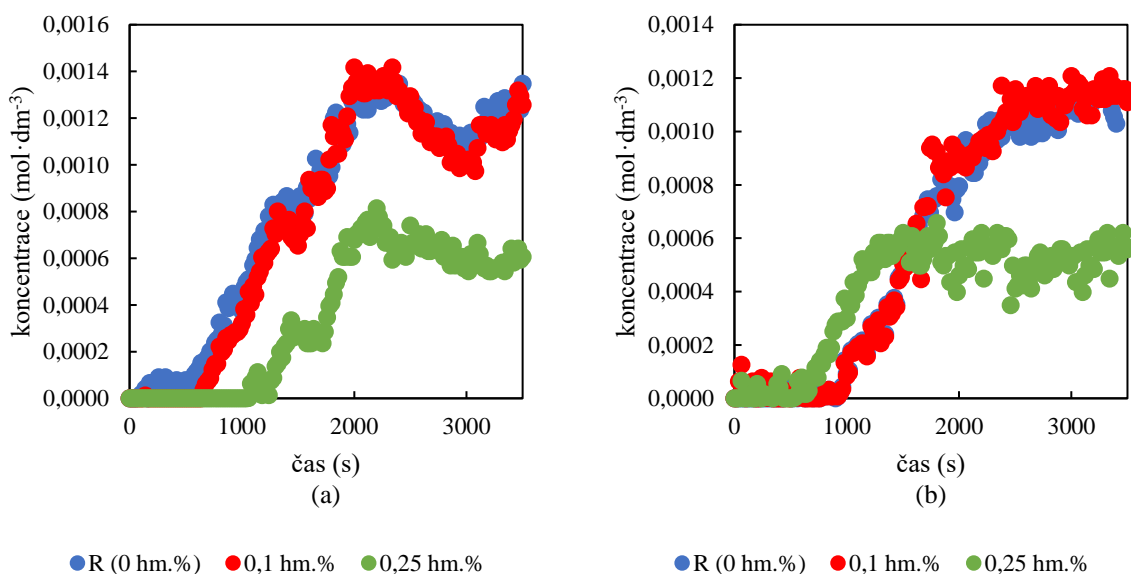
V případě záporně nabitě amidové černi 10B, u které se neočekávala interakce s modifikátorem, docházelo k výraznému snížení hodnoty difúzního koeficientu (Tabulka 17), jak pro agarózové (Obrázek 39a), tak i pro alginátové (Obrázek 39b) hydrogelové vzorky, opět po přidání vyššího množství lecitinu (0,25 hm.%). To podporuje výsledky získané z uvolňovacích experimentů, kdy u hydrogelů nebyl znát rozdíl v hodnotě difúzního koeficientu, ale u xerogelových vzorků ten rozdíl byl znatelný. To bylo způsobeno zakoncentrováním barviva u xerogelových vzorků. Zde, jelikož byly pro prostup barviva

ztížené podmínky, bylo možné pozorovat podobný jev, jako tomu bylo u xerogelových vzorků a modelového léčiva amidové černi 10B.

Výsledky horizontálních difúzních cel lze shrnout tak, že studium transportních vlastností pomocí tohoto uspořádání podporovalo výsledky získané pro uvolňovací experimenty. Přidávky většího množství lecitinu měly vždy za následek modifikaci transportních vlastností. Po překročení určité koncentrace lecitinu uvnitř hydrogelových systémů docházelo ke snižování difúzního koeficientu, který popisoval „jak snadno“ jednotlivá barviva prostupovala skrze studovaný materiál. Lecitin u žádných systémů neměl vliv na množství zachyceného barviva do struktury. To stejné platí i pro čas průchodu barviva skrze gel. Jelikož se jedná o přírodní materiál, který je síťovaný nekovalentními interakcemi, tak síť nebyla vždy stejně uniformní a pevná, tudíž to, jak se struktura uspořádávala mělo největší vliv na tuto veličinu.

Tabulka 17: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí záporně nabitě amidové černi 10B

Amidová čern 10B	Fyzikálně síťovaná agaróza			Iontově síťovaný alginát		
	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	$D_{\text{eff}} \times 10^{-10}$ (m ² ·s ⁻¹)	$t_{\text{průchod}}$ (min)	$c_{\text{barvivo v gelu}}$ (mol·m ⁻³)	D_{eff} (m ² ·s ⁻¹)
R (0 hm.%)	6,1	0,0003	260	9,2	0,0027	210
0,1 hm.%	6,1	0,0026	230	9,9	0,0026	250
0,25 hm.%	11,2	0,0026	170	6,1	0,0026	220



Obrázek 39: Časový průběh změny koncentrace amidové černi 10B po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přidavky lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele

Pokusíme-li se porovnat dva různé způsoby získání efektivního difúzního koeficientu (uvolňovací a průtokové experimenty), tak jsme schopni získat zajímavé závěry. Samozřejmě nemůžeme tyto hodnoty porovnávat číselně, ovšem i v tomto směru nebyly tak odlišné. Pro nás jsou ovšem mnohem zajímavější trendové porovnání jednotlivých hodnot mezi sebou a jak se tento trend lišil u jiného nastavení experimentu. U uvolňovacích experimentů byl již zmíněn

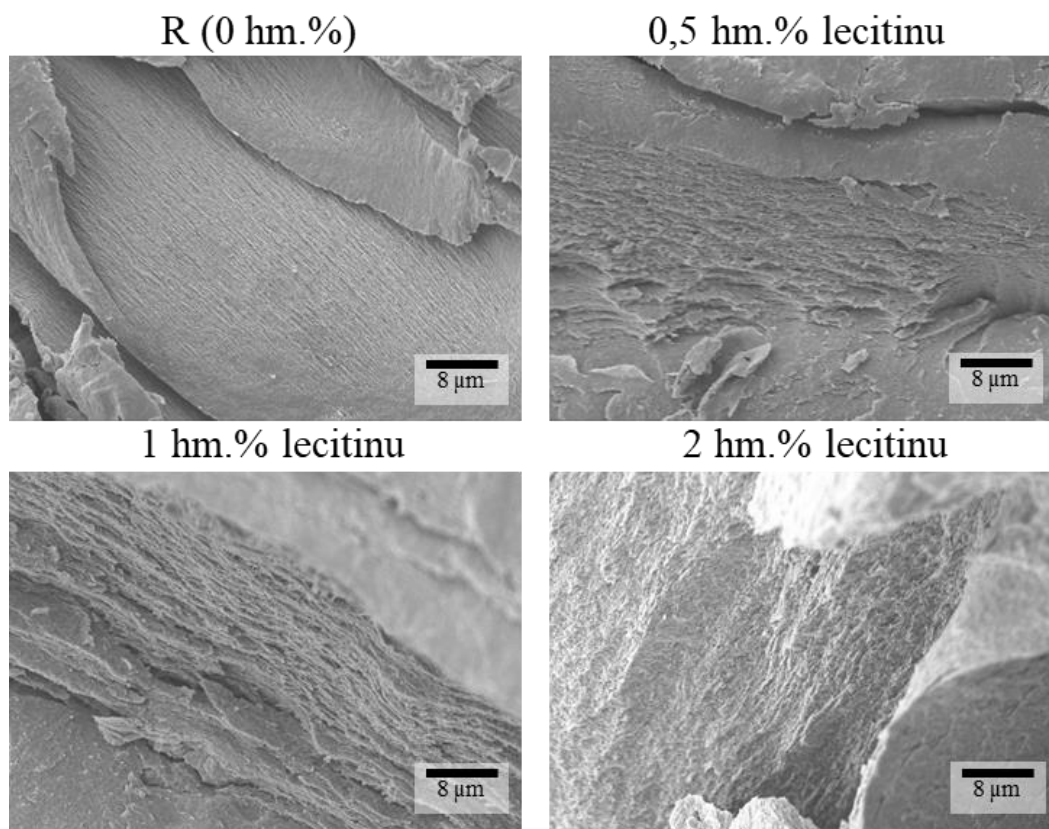
rozdíl mezi hydrogely a xerogely. Zapojíme-li ovšem do vyhodnocení také výsledky získané z průtokových experimentů, tak lze pozorovat určité podobnosti mezi průtokovými a uvolňovacími xerogelovými experimenty. To je způsobeno podstatou experimentu, kdy u průtokového experimentu docházelo průtokem barviva přes studovaný hydrogel k zakoncentrování barviva uvnitř hydrogelu, což vedlo k podobnému stavu systému, jaký byl pozorovatelný na počátku u uvolňovacích xerogelových difúzí. V tomto si jsou výsledky velmi podobné, kdy u obou experimentů je zřejmý trend snižující se hodnoty difúzního koeficientu s rostoucí koncentrací amfifilu. Při vhodné optimalizaci a zdokonalení obou testů bychom posléze nejspíše byli schopni porovnávat i konkrétní hodnoty difúzních koeficientů získaných z různých experimentů.

6.1.6 Morfologická charakterizace

Pro morfologickou charakterizaci bylo využito rastrovací elektronové mikroskopie pro získání povrchových snímků a snímků v řezu. Doplnující technikou byla v tomto případě sorpce plynů. Příprava vzorků a nastavení přístroje bylo popsáno v kapitole 5.3.4 a 5.3.5.

6.1.6.1 Fyzikální síťování

Morfologická charakterizace byla provedena na xerogelových vzorcích, které byly vysušeny na vzduchu z hydrogelových vzorků, ale také na hydrogelových vzorcích, které byly šokově mražené tekutým dusíkem a lyofilizovány.



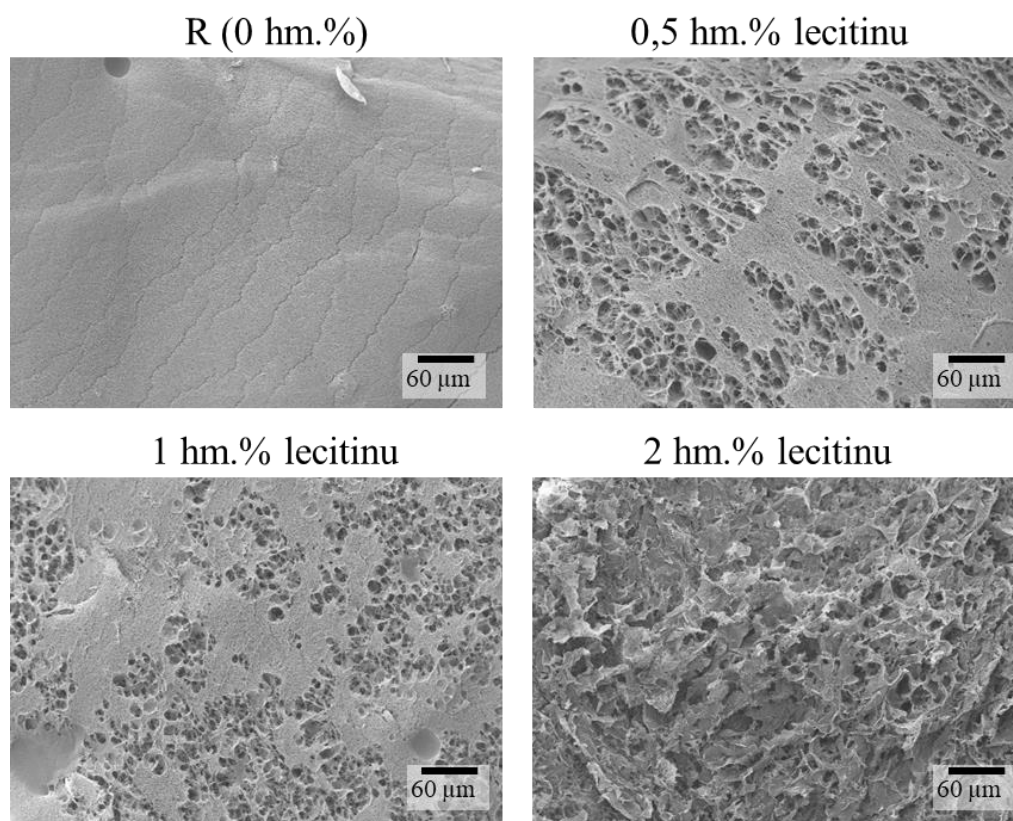
Obrázek 40: Snímky ze SEM pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přídávky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 5000×

Takto připravené vzorky byly pozorovány a zaznamenávány pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). Vzorky byly pozorovány pouze v řezu, protože povrch těchto vysušených vzorků nevypovídal o žádných strukturních změnách. Povrchy těchto xerogelů byly hladké a bez viditelných pórů na mikrometrickém měřítku. Xerogel v řezu vykazoval vrstvenou strukturu polymerních vláken bez viditelného zásahu do struktury (Obrázek 40). Stejná vrstvená morfologie byla pozorována pro xerogely z agarózy s různým obsahem lecitinu, kam ovšem zasahovaly další vrstvy vzorku. Celkově byla obecná morfologie prakticky bez pórů, což bylo s největší pravděpodobností způsobeno kompaktní strukturou, která byla výsledkem sušení na vzduchu (proces přípravy xerogelů).

U těchto xerogelů byla také provedena měření sorpce plynů (Tabulka 18). Nízké hodnoty specifického povrchu naznačují nedostatek pórovité struktury xerogelů, s mírnou závislostí na kompaktnosti vrstvenaté morfologii těchto systémů za sucha. I když jsou výsledky sorpce plynu v souladu s výsledky obdrženy z SEM, tak i přesto metoda sorpce plynu není zcela vhodnou technikou pro stanovení struktury xerogelů.

Tabulka 18: Specifický povrch pro fyzikálně síťované agarózové xerogely s přísadkou lecitinu získaný plynovou sorpcí

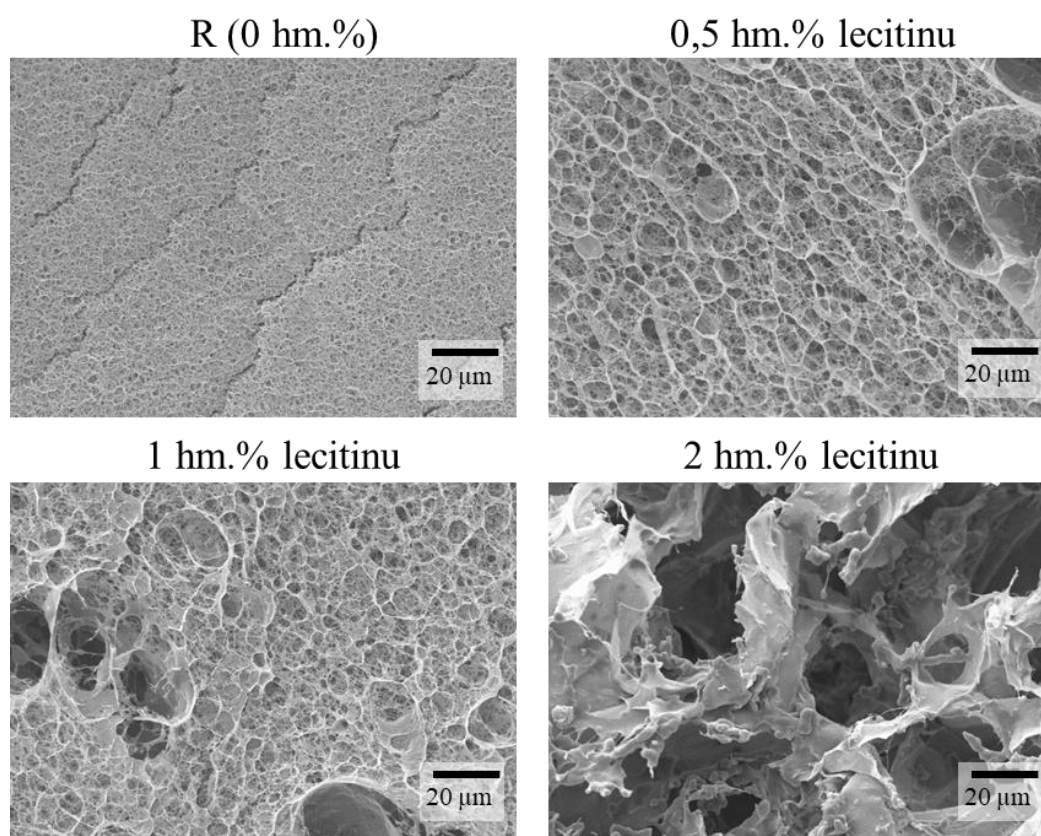
Koncentrace lecitinu (hm.%)	Specifický povrch ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
0 (R)	3,4
0,5	1,0
1	1,9
2	2,1



Obrázek 41: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísadkami lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×

Pro pozorování vzorků v jejich hydratovaném stavu, musely být nejprve zmrazeny v kapalném dusíku a poté okamžitě umístěny do lyofilizátoru, kde došlo k jejich vysušení. Takto připravené vzorky mohly být poté pozorovány pomocí SEM. Šokové zmrazení vzorků bylo použito k minimalizaci změny struktury hydrogelu způsobené růstem ledových krystalů, které mohly vytvářet některé nežádoucí artefakty. Struktury lyofilizovaných hydrogelů byly tedy podobné jejich strukturám v nativním stavu [119].

Snímky získané ze SEM zobrazují rozdíly ve struktuře hydrogelu mezi vzorky s různými koncentracemi lecitinu (Obrázek 41) a jak je tato struktura potenciálně ovlivněna přidáním lecitinu. S rostoucí koncentrací lecitinu se struktury hydrogelů zdají být více modifikované a zhroutilé. Lecitin buď samotný, nebo nějaká struktura z něj vytvořená, byl pravděpodobně zachycen v pórech hydrogelové sítě, což způsobilo jejich zvětšení nebo je učinil citlivějšími na změny způsobené růstem ledových krystalů. To koresponduje s výsledky z experimentů s uvolňováním barviva, kde lecitin zpomaloval difúzi v hydrogelech v důsledku specifických interakcí mezi nimi nebo jednoduše svou přítomností v určitém místě („obstrukční efekt“). Při zvětšení 5000× (Obrázek 42) je možné pozorovat póry ve struktuře hydrogelů (kromě vzorku s nejvyšší koncentrací lecitinu, kde došlo ke kolapsu struktury). Tyto póry svou velikostí odpovídají pórům ve struktuře agarózových hydrogelů dříve publikovaných [119].



Obrázek 42: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přídávky lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×

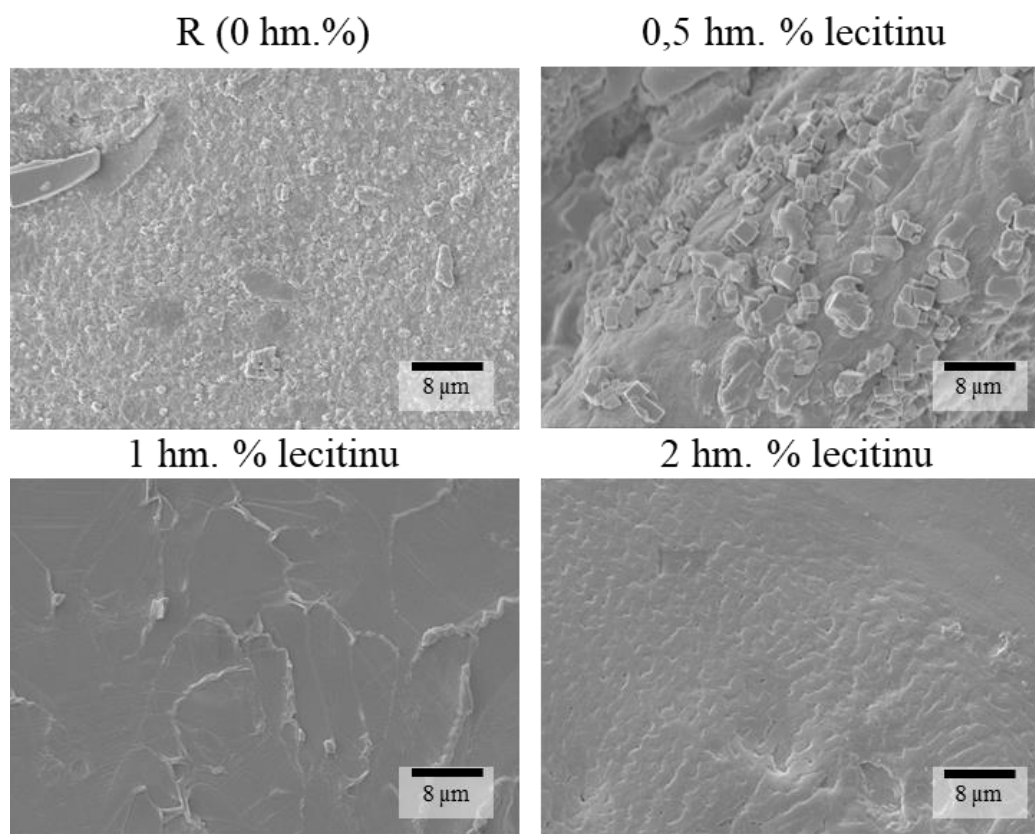
6.1.6.2 Iontové síťování

Stejně jako pro fyzikálně síťované hydrogely, tak snímky byly pořízeny pro xerogely vysušené na vzduchu i hydrogely mražené tekutým dusíkem. SEM snímky pořízené pro xerogely připravené iontovým síťováním zobrazují účinek lecitinu na povrchovou morfologii vzorků

(Obrázek 43). Morfologie povrchu vzorků bez lecitinu a vzorků s 0,5 hm.% lecitinu vykazovaly drsnost způsobenou výskytem mnoha mikrometrových krystalů CaCl_2 vzniklých po sušení na vzduchu. Na rozdíl od toho, povrch xerogelů s 1 a 2 hm.% lecitinu byl prakticky bez krystalických agregátů, s určitým stupněm drsnosti, což vedlo ke kompaktnější struktuře těchto systémů v suchém stavu. Morfologické charakteristiky mikroskopicky potvrdily, že s rostoucí koncentrací klesaly hodnoty specifického povrchu (plynová sorpce, Tabulka 19).

Tabulka 19: Specifický povrch pro iontově síťované alginátové xerogely s přísadkou lecitinu získaný plynovou sorpcí

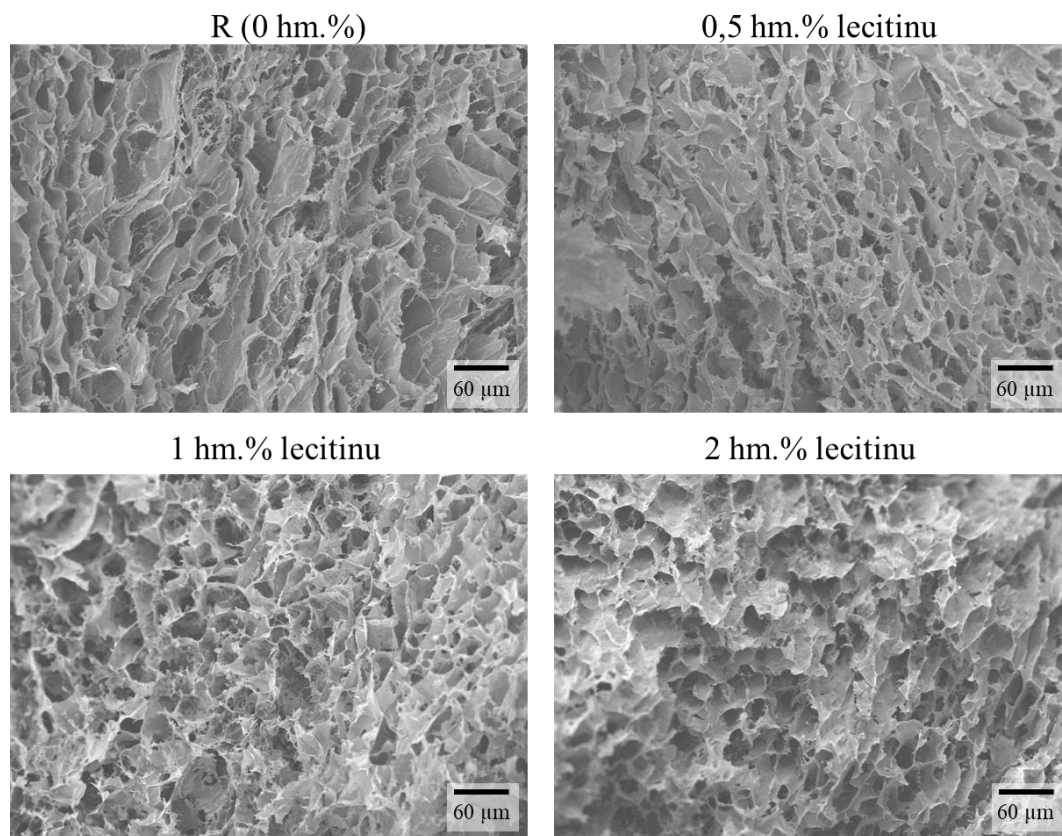
Koncentrace lecitinu (hm.%)	Specifický povrch ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
0 (R)	9,1
0,5	6,3
1	5,9
2	4,7



Obrázek 43: Snímky ze SEM pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 5000×

Iontově síťované alginátové hydrogely byly stejně jako fyzikálně síťované agarózové hydrogely šokově mrazeny tekutým dusíkem a lyofilizovány. Jak bylo uvedeno výše, tento postup byl použit k minimalizaci změny struktury hydrogelu, avšak pro tyto typy hydrogelů nebyl účinný. Jak je vidět z obrázku níže (Obrázek 44), struktura všech připravených hydrogelů se zdá být podobná, což vede k závěru, že je modifikovaná. S největší pravděpodobností to byl výsledek přípravy vzorků. Protože tyto hydrogely byly připraveny v menším objemu než agarózové hydrogely, tak se mohly před lyofilizací částečně rozmrazit, což by způsobilo růst

ledových krystalů a tím i přítomnost strukturálních artefaktů [119]. Tyto výsledky proto představují zobrazení hydrogelů v jejich nativní formě ovlivněné artefakty.



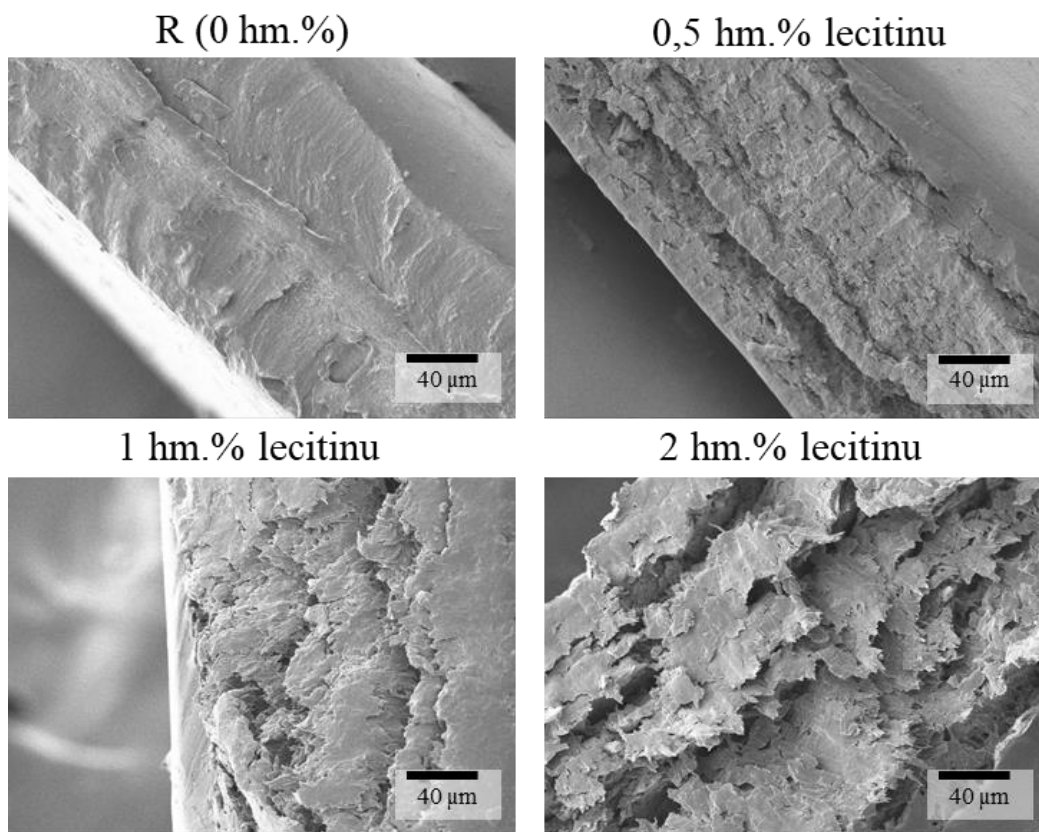
Obrázek 44: Povrchová morfologie iontově síťovaných alginátových hydrogelů s různými přídávky lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×

6.1.6.3 Chemické síťování

Strukturální charakterizace byla zaštitěna snímky získanými ze SEM pro chemicky síťované xerogely. Tyto snímky byly velmi podobné těm získaným pro fyzikálně síťované hydrogely. Morfologie povrchu těchto xerogelů vypadala hladce bez viditelných pórů. Při pohledu v řezu byly viditelné vrstvené struktury s drsnou mezivrstvou, která se zvětšovala s rostoucí koncentrací lecitinu (Obrázek 45), což následně vedlo k postupnému vzestupu hodnoty specifického povrchu (Tabulka 20). To lze vysvětlit větší kompaktností vrstvenaté struktury připravených PVAI-chitosan hydrogelů. Je třeba si také povšimnout vlivu lecitinu na hydrogelovou strukturu, která je na snímcích odlišná (více vrstvenatá) než tomu je u referenčního vzorku bez aditiva.

Tabulka 20: Specifický povrch pro chemicky síťované PVAI-chitosan xerogely s přídávky lecitinu získaný plynovou sorpcí

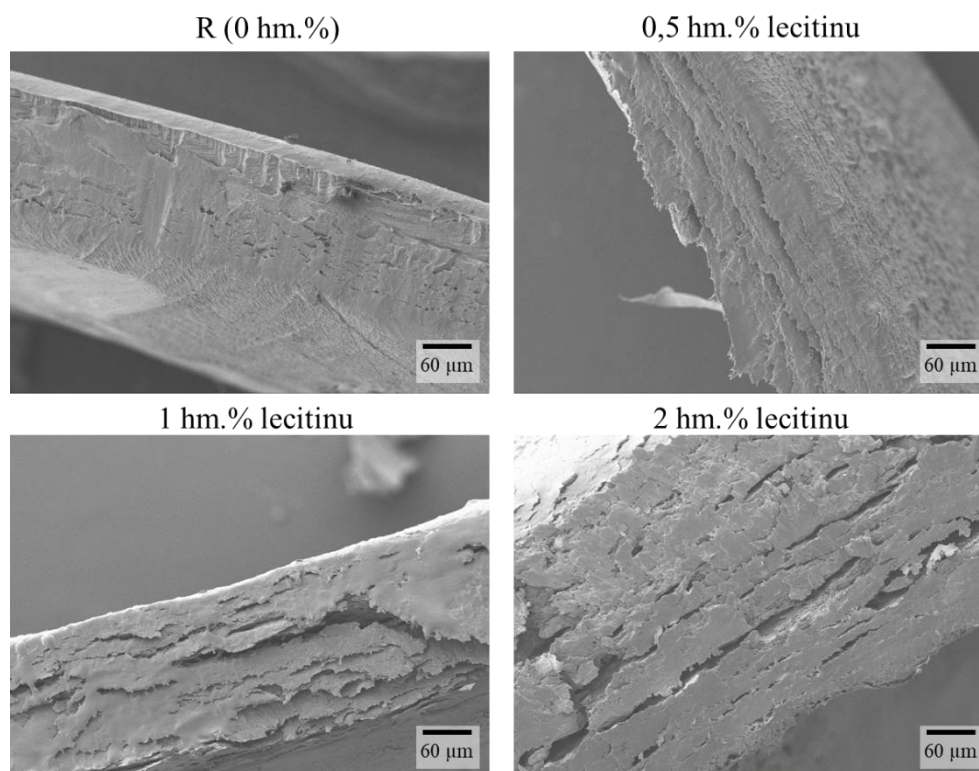
Koncentrace lecitinu (hm.%)	Specifický povrch ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
0 (R)	2,9
0,5	0,8
1	1,2
2	1,6



Obrázek 45: Snímky ze SEM pro chemicky síťované hydrogely (PVA1 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 1000×

Chemicky zesíťované hydrogely byly studované v jejich nativní (hydratované) formě pro přípravu vzorků pro morfologické studie. Připravené xerogely byly ponechány nabotnat ve vodě a následně šokově zmrazeny v kapalném dusíku a lyofilizovány. Snímky získané pomocí SEM ukazují vrstvenou strukturu hydrogelů. Jediným pozorovatelným rozdílem mezi každým vzorkem je hladkost v řezu. S rostoucím obsahem lecitinu se zvyšuje drsnost mezivrstvy (Obrázek 46).

Tyto výsledky odpovídají výše uvedeným datům pro xerogely těchto chemicky zesíťovaných hydrogelů [188]. Vzhledem k tomu, že struktury xerogelů a hydrogelů pro tento typ materiálu si byly velmi podobné, nezáleží na tom, jaký postup přípravy se použije k pozorování struktury pomocí SEM. Protože byla hydrogelová struktura hladká a nebyly viditelné žádné póry, tak tato pozorování odpovídají výsledkům pro uvolňování barviva, při kterém se uvolňovalo pouze malé množství nebo žádné barvivo.



Obrázek 46: Povrchová morfologie chemicky síťovaných PVAI-chitosanových hydrogelů s různými přídávky lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×

6.2 Tenzidy jako modifikátory hydrogelových vlastností

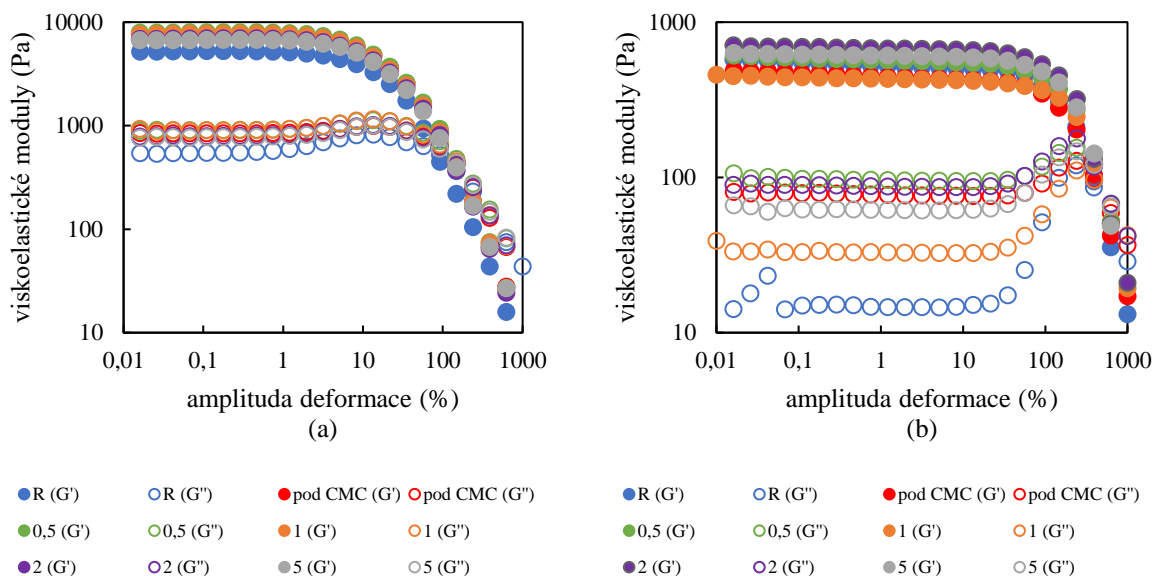
Tato kapitola shrnuje poznatky získané při studiu různě nabitých tenzidů na hydrogelovou strukturu. K modifikaci hydrogelových vlastností pomocí klasických tenzidů byly využity tenzidy CTAB (pozitivní, $363,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), SDS (negativní, $288,38 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) a Triton X-100 (neutrální, $647 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Na základě rešerše byly vybrány takové tenzidy, aby se lišily ve svých vlastnostech, a to hlavně v náboji a molekulových hmotnostech. Na rozdíl od lecitinu jsou tyto látky člověku ve větších koncentracích toxické, avšak jsou daleko dostupnějšími a lépe prostudovanými látkami. Jako modifikátory byly tyto tenzidy studovány zejména kvůli jejich schopnosti tvorby micelárních struktur. Tato práce pomáhá rozhodnout, jestli a případně v jaké míře, jsou tyto struktury schopné ovlivnit hydrogelové vlastnosti. Z toho důvodu byly porovnávány vzorky, ve kterých se tenzid vyskytoval pod a nad CMC.

Využitím tří různých tenzidů se výrazně zvýšilo množství studovaných vzorků, z toho důvodu bylo fyzikální síťování jediným studovaným typem síťování hydrogelové matrice. Pro tento typ síťování byla vybrána agaróza (1 hm.%) a želatina (8 hm.%), a to pro jejich snadnou a reprodukovatelnou přípravu. Fyzikálně síťované hydrogely často strádají ve směru mechanických vlastností, což by měly tyto amfifilní přídávky změnit. Z toho důvodu bylo právě mechanickým vlastnostem věnována obrovská pozornost, co se týče množství provedených různých experimentů. Po studiu a charakterizaci mechanických vlastností byly studovány transportní vlastnosti a morfologická charakterizace.

6.2.1 Amplitudové deformační testy

Testy amplitudové deformace byly první testy, které byly na studovaných materiálech provedeny. Jak bylo zmíněno dříve, tak se jedná o nejzákladnější reologické testy, které byly

provedeny na všech studovaných hydrogelech. Sledované veličiny byly zaznamenány do tabulek a pro lepší vizualizaci byly podpořeny grafickým znázorněním výsledků. Závěry byly vyvozeny zejména z hodnot bodů překřížení, průměrných hodnot viskoelastických modulů v LVO a hodnot amplitud deformací na konci LVO.



Obrázek 47: Graf amplitudových deformačních testů pro agaróзовé hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísávkami CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Tabulka 21: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agaróзовé hydrogely s přísávkami CTAB

CTAB agaróza	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
	Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)
R (0)	562,9 ± 13,5	80,6 ± 2,2	5245 ± 282	545 ± 24	1,6 ± 0,5
pod CMC	447,2 ± 25,3	147,9 ± 7,1	7245 ± 101	843 ± 28	2,0*
0,5	532,6 ± 31,9	131,8 ± 3,4	8003 ± 411	903 ± 52	2,0*
1	492,4 ± 46,3	136,1 ± 7,9	7727 ± 632	907 ± 88	2,0*
2	473,1 ± 8,4	128,8 ± 2,6	6984 ± 448	793 ± 62	2,0*
5	492,0 ± 10,9	126,8 ± 2,3	6730 ± 75	773 ± 13	2,0*

*Odchylka byla menší než 1 %.

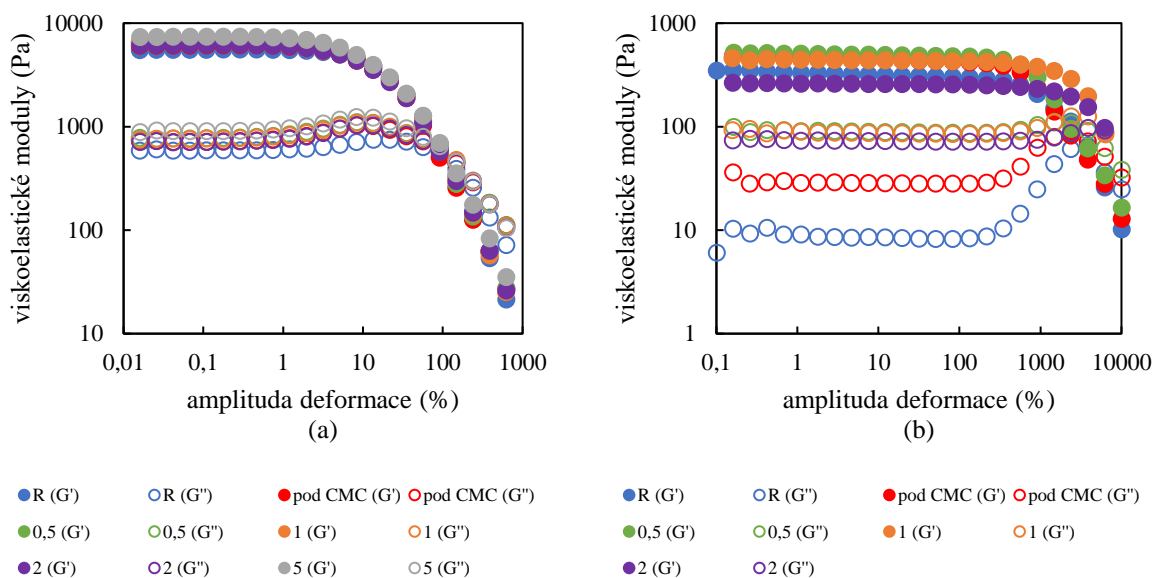
Výsledky amplitudových deformačních testů získaných pro agaróзовé hydrogely s přísávkou CTAB při aplikovaném napětí 1 Hz naznačují, že přísávkou kladně nabitého tenzidu ovlivňovaly mechanické vlastnosti fyzikálně zesíťované agaróзовé hydrogelové matrice. Vezmeme-li v úvahu graf (Obrázek 47a) a tabulku (Tabulka 21), tak můžeme pozorovat zvyšující se hodnoty amplitudové deformace v bodě překřížení pro agaróзовé hydrogely s přísávkou CTAB, ve srovnání s tím, co můžeme vidět pro referenční vzorek. Přísávkou CTAB tedy vyplňovaly póry hydrogelu a posilovaly síť, čímž prodlužovaly lineární viskoelastickou oblast (LVO), oblast, kde byl hydrogel schopen odolat senzoru, aby provedl

nevratné změny ve struktuře hydrogelu. Kladně nabitý tenzid s koncentrací pod hodnotou CMC (kritická micelární koncentrace) figuroval ve struktuře pouze jako plnivo, takže bylo možné pozorovat mírně vyšší hodnoty amplitudy deformace, než jaké byly uváděny u ostatních vzorků, kde povrchově aktivní látka vytvářela micely. Rozdíl mezi vzorky pod a nad hodnotou CMC byl však minimální, takže vliv micel byl zanedbatelný. Průměrné hodnoty modulů, kromě referenčního vzorku, který nebyl ovlivněn přidavky CTAB, mírně klesaly, ale byly větší než u referenčního vzorku, což bylo možné částečně vysvětlit obsahem vody na vyšší množství sušiny.

Tabulka 22: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přidavky CTAB

CTAB želatina	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)
R (0)	$78,7 \pm 2,2$	$427,4 \pm 0,4$	551 ± 17	15^*	$0,4 \pm 0,5$
Pod CMC					
0,5	$91,2 \pm 19,1$	$418,9 \pm 0,4$	$468 \pm 0,3$	79^*	$0,3^*$
1	$99,5 \pm 6,9$	$464,8 \pm 1,3$	589 ± 42	98 ± 8	$1,8 \pm 1,9$
2	$79,9 \pm 2,3$	$496,4 \pm 0,5$	441 ± 16	33 ± 1	$7,3 \pm 8,6$
5	$99,7 \pm 7,3$	$439,2 \pm 53,8$	694 ± 2	90 ± 2	$6,7 \pm 2,2$
5	$85,9 \pm 4,7$	$447,7 \pm 10,4$	618 ± 74	62 ± 29	$8,2^*$

*Odchylka byla menší než 1 %.



Obrázek 48: Graf amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přidavky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Vzorky pro želatinové hydrogely modifikované kladně nabitým CTAB (Obrázek 47b a Tabulka 22) měly podobný trend jako agarózové vzorky, což znamená, že i u tohoto materiálu se referenční vzorek lišil od ostatních vzorků. To podporovalo hypotézu přidavku kladně

nabitých povrchově aktivních látek, tedy že jeho přídavek ovlivňoval mechanické vlastnosti fyzikálně zesíťovaných hydrogelových struktur, jejichž pevnost byla dána především slabými nekovalentními interakcemi mezi řetězci polymeru [197]. U vzorků želatiny byl vzorek s přídavkem CTAB pod hodnotou CMC také odlišný. Změna nebyla tak zřejmá jako u vzorků agarózy. Lze tedy předpokládat, že tvorba micel ovlivňovala mechanické vlastnosti těchto vzorků. Pod hodnotou CMC bylo chování kladně nabitého tenzidu více podobné výplňovému charakteru.

Do určité míry mohla výsledky měření také ovlivňovat nízká koncentrace želatiny, která se u želatinových hydrogelů běžně vyskytuje i několikrát vyšší. Želatinová síť tedy nebyla tak hustá, což dovolovalo hydrogelům určitou míru volnosti na rozdíl od vyšších koncentrací, kde by síť byla velmi hustá a jakýkoliv zásah do její struktury by se projevil i na jejích vlastnostech [198]. Nižší koncentrace byla ovšem zvolena právě pro přiblížení s živočišnou tkání, která mnohdy bývá více fluidní a dovolující reakci na vnější podněty.

Výsledky získané pro hydrogely modifikované záporně nabitým tenzidem ukazují, že přídavky opět ovlivňovaly mechanické vlastnosti fyzikálně zesíťovaných hydrogelů, ale ne ve stejné míře jako tomu bylo u kladně nabitých tenzidů.

Na obrázku (Obrázek 48a) a v tabulce (Tabulka 23) je možné pozorovat výsledky získané z amplitudových deformačních testů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely modifikované pomocí záporně nabitého SDS. Trend pro hodnoty bodů překřížení ztrátových a paměťových modulů, tedy pro hodnotu, při které docházelo k nevratnému poškození hydrogelu, byl velmi podobný hodnotám získaným při modifikaci kladně nabitým CTAB. Referenční vzorek měl hodnotu amplitudy deformace v bodě překřížení společně se vzorkem pod CMC menší než ostatní vzorky. Což vedlo k závěru, že rostoucí koncentrace SDS, posléze tvorba micel, vedla ke zvyšování této hodnoty, a tedy odolnosti vůči deformaci. Na rozdíl od CTAB byla tato hodnota úměrně zvětšována s množstvím tenzidu ve struktuře. To by napovídalo, že u CTAB, u kterého ten nárůst hodnoty amplitudy deformace byl skokový oproti referenčnímu vzorku a pro všechny vzorky obdobný, docházelo k interakcím, které ovlivňovaly tuto hodnotu [128]. U SDS k těmto interakcím nedocházelo a hodnota amplitudy deformace v bodě překřížení se zvětšovala pouze na základě většího množství sušiny a množství vytvořených micel. Ostatní hydrogelové vzorky s přídavkem SDS měly navzájem velmi podobné hodnoty. Hodnoty modulů se chovaly stejně jako u vzorků modifikovaných přídavky CTAB, a přídavky SDS tedy vedly ke zvýšení průměrné hodnoty modulů. Avšak ve srovnání se vzorky modifikovaných pomocí CTAB byly průměrné hodnoty modulů v LVO nižší. Na rozdíl od CTAB došlo s přídavky SDS ke snížení hodnoty konce LVO, což bylo s největší pravděpodobností opět spojeno s omezenými interakcemi. Micely SDS se uvnitř pórů chovaly odlišně a bez možných interakcí výrazně neovlivňovaly strukturu a jejich přídavky působily spíše negativně (i když ve velmi malé míře). Toto tvrzení podporují snímky ze SEM, kde byl vliv SDS na morfologickou charakterizaci zanedbatelný (Obrázek 77).

Tabulka 23: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agarózové hydrogely s přísávkou SDS

SDS agaróza	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)
R (0)	435,9 ± 9,0	80,6 ± 2,2	5528 ± 64	587 ± 11	1,6 ± 0,5
pod CMC	662,2 ± 31,8	77,4 ± 5,2	6075 ± 208	714 ± 37	1,2*
0,5	778,8 ± 118,8	82,6 ± 4,9	6570 ± 67	772 ± 10	1,2*
1	664,0 ± 15,6	85,2 ± 0,3	6476 ± 79	766 ± 7	1,2*
2	663,0 ± 35,0	85,4 ± 3,0	6154 ± 174	709 ± 3	1,2*
5	602,5 ± 8,6	102,1 ± 4,0	7377 ± 37	903 ± 9	1,2*

*Odchylka byla menší než 1 %.

Hodnoty získané pro jiné fyzikálně síťované hydrogely, konkrétně pro želatinové hydrogely (Obrázek 48b), byly zkrsleny interakcí SDS-želatina, která zásadním způsobem ovlivňovala strukturu [199, 200]. To znamená, že pro největší přísávkou SDS (5 hm.%) gel vůbec nevznikl a pro vyšší koncentrace (1 a 2 hm.%) byly výsledky neprokazatelné, protože SDS v želatině snižovala gelovou pevnost. To je možné pozorovat i v tabulce (Tabulka 24), kde snížená pevnost a počátky rozpadu jsou podpořeny zvyšující se hodnotou amplitudové deformace v bodě překřížení a také konce LVO. I pouhým pozorováním bylo zřejmé, že se tyto vzorky lišily od ostatních a nacházely se na počátku rozpadu. Hodnoty jsou v tabulce ponechány, aby bylo možné tento jev komentovat.

Tabulka 24: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přísávkou SDS

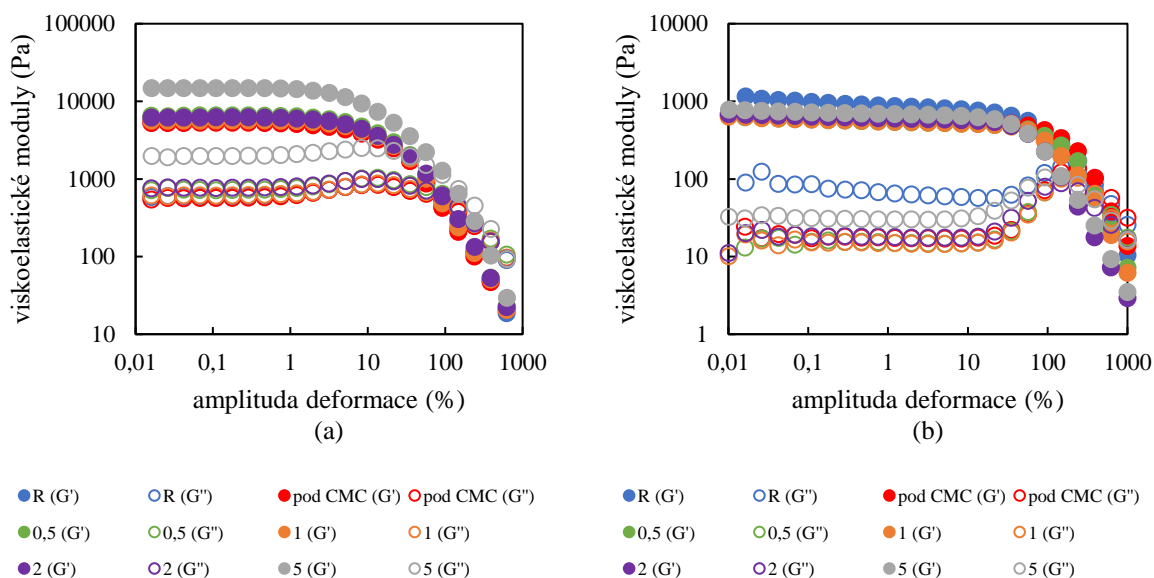
SDS želatina	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)
R	71,9 ± 21,7	365,2 ± 69,4	330 ± 82	9 ± 1	0,3*
Pod CMC	86,0 ± 9,6	229,0 ± 10,0	461 ± 15	29*	0,2 ± 0,1
0,5	111,1 ± 2,3	216,9 ± 8,8	505 ± 11	91 ± 2	2,2 ± 1,4
1	91,9 ± 9,8	602,4 ± 28,0	441 ± 6	89 ± 1	12,3 ± 13,0
2	87,6 ± 18,6	690,6 ± 191,8	260 ± 8	73 ± 3	24,1 ± 15,2
5	–	–	–	–	–

*Odchylka byla menší než 1 %.

Pokud se zaměříme na zbývající vzorky (0; pod CMC; 0,5 hm.%), tak je možné vidět, že hodnoty amplitudy deformace bodu překřížení klesaly oproti referenčnímu vzorku. Naopak průměrné hodnoty modulů v LVO rostly, což lze opět vysvětlit zvýšeným obsahem sušiny. Pro želatinové hydrogely modifikované SDS existovala hraniční koncentrace, která pozitivně ovlivňovala mechanické vlastnosti tohoto systému a z výsledků bylo patrné, že do přísávkou

0,5 hm.% byly hydrogely celistvé a šlo s nimi manipulovat. To bylo zřejmé např. u vyššího konce LVO, nejvyšší průměrné hodnotě modulů v LVO nebo v nejmenší hodnotě amplitudy deformace v bodě překřížení. V porovnání s referenčním vzorkem byly tyto modifikace výrazné. Roli v tomto případě nejspíš nehrály jen micelární struktury, ale také obsahové množství sušiny, jak potvrzoval vzorek pod CMC, který měl oproti referenčnímu vzorku také modifikované vlastnosti, a číselně se u řady vlastností také velmi lišil od vzorku s koncentrací SDS 0,5 hm.%. S vyššími přídávky docházelo ke zborcení systémů a negativnímu ovlivnění vlastností nebo úplné deformaci [199].

Fyzikálně síťované agarózové hydrogely byly také modifikovány neutrálním tenzidem, Tritonem X-100. Trend pro získané výsledky byl velmi podobný tomu, co bylo popsáno pro modifikace záporně nabitým SDS. Amplituda deformace v bodě překřížení rostla s rostoucí koncentrací tenzidu. To tedy potvrzovalo, že gelová matrice do určité míry interagovala s funkčními skupinami CTAB a v systému SDS-agaróza k žádným interakcím nedocházelo. S tím se u interakce agaróza-Triton X-100 i počítalo, protože se jednalo o neionogenní tenzid. V grafu (Obrázek 49a) a v tabulce (Tabulka 25) je možné pozorovat výsledky amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely modifikované Tritonem X-100. Hodnoty amplitudy deformace se v bodě překřížení zvyšovaly s přidavkem Tritonu X-100, na rozdíl od referenčního vzorku a vzorku s přidavkem tenzidu pod CMC, u kterých byly nižší. Totéž šlo říct o průměrných hodnotách modulů v LVO. Velmi zajímavým byl vzorek s největší koncentrací tenzidu, protože jeho hodnoty byly skokově vyšší, ale stále podporoval trend růstu. Podobně jako tomu bylo u SDS, tak ani u Tritonu X-100 nedocházelo k ovlivnění hodnoty amplitudy deformace konce LVO. Bez dalších interakcí, ať už nábojových nebo jiných, nebyly micelární struktury Tritonu X-100 schopny výrazně ovlivnit mechanické vlastnosti agarózových hydrogelů.



Obrázek 49: Graf amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídávky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Tabulka 25: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agarózové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100

Triton X-100 agaróza	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)
R (0)	598,9 ± 68,0	76,3 ± 5,3	5479 ± 259	598 ± 23	1,6 ± 0,5
pod CMC					
0,5	698,1 ± 114,2	74,3 ± 1,0	5291 ± 37	579 ± 7	1,2*
1	682,4 ± 12,6	81,7 ± 3,3	6561 ± 96	716 ± 31	1,2*
2	614,5 ± 16,6	79,9 ± 0,4	5645 ± 35	610 ± 1	2,0*
5	686,5 ± 124,8	94,9 ± 0,3	6196 ± 155	764 ± 10	1,6 ± 0,5
	935,0 ± 17,5	114,9 ± 4,4	14766 ± 499	1963 ± 27	1,2*

*Odchylka byla menší než 1 %.

Hodnoty získané pro fyzikálně síťovanou želatinu modifikovanou neutrálním Tritonem X-100 (Tabulka 26) byly diametrálně odlišné od hodnot získaných pro agarózové hydrogely, což je možné pozorovat v tabulce (Tabulka 25). Hodnoty v bodě překřížení klesaly s rostoucí koncentrací tenzidu. Amplituda deformace se od vzorku s 1 hm.% tenzidem prudce snižovala. Tento trend byl obdobný tomu, který jsme mohli pozorovat u želatinových hydrogelů s přísávkou SDS (Tabulka 24). Na rozdíl od těchto závěrů, průměrné hodnoty modulů v LVO se s rostoucí koncentrací zvyšovaly. Vliv Tritonu X-100 byl zanedbatelný i co se týče hodnoty amplitudy deformace konce LVO. Tyto hodnoty se zdají být velmi malé a z obrázku (Obrázek 49b) se zdají být odlišné. Hodnota konce LVO byla zaznamenána, pokud se určitý bod paměťového modulu lišil od průměrné hodnoty v plató o více než 5 %. Vyšší hodnoty modulů mohly být způsobeny zakoncentrováním tenzidu (kvůli nižší koncentraci želatiny) na určitých místech hydrogelu, což vedlo k tvorbě kulovitých útvarů v hydrogelové struktuře při koncentraci výrazně vyšší než CMC (Obrázek 80).

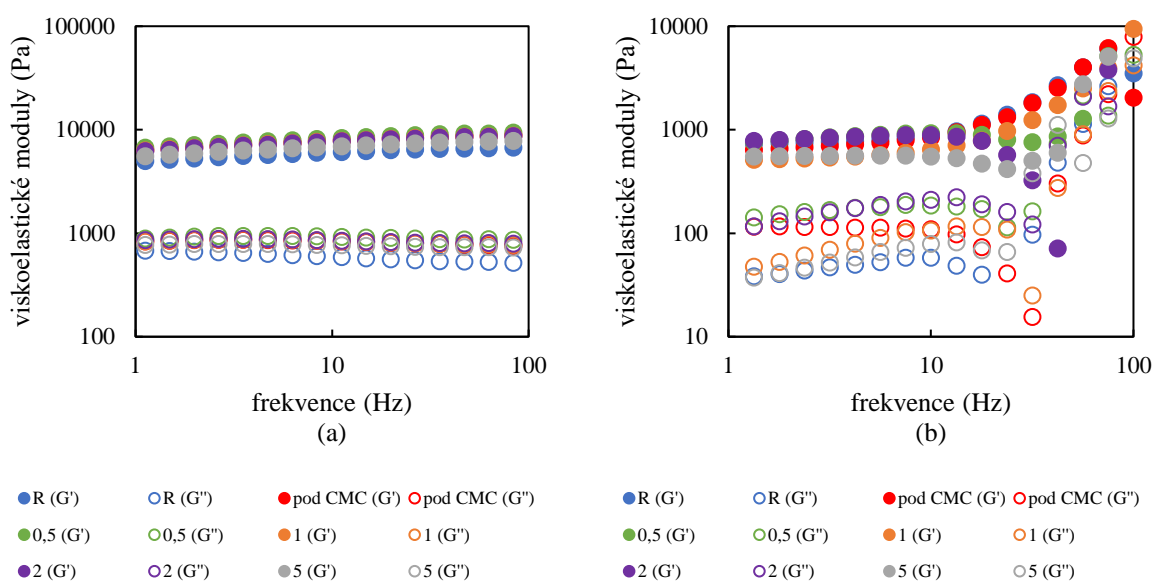
Tabulka 26: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100

Triton X-100 želatina	Bod překřížení		Moduly v LVO		Konec LVO
Vzorek (hm.%)	G', G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Amplituda deformace (%)
R (0)	101,6 ± 2,5	370,5 ± 4,4	561 ± 10	15 ± 1	0,2 ± 0,1
pod CMC					
0,5	98,6 ± 0,1	476,9 ± 99,3	629 ± 4	17 ± 1	0,1 ± 0,1
1	65,4 ± 5,5	370,0 ± 11,8	581 ± 115	15 ± 2	0,2 ± 0,1
2	88,9 ± 2,5	317,7 ± 62,4	580 ± 38	15 ± 1	0,2*
5	85,5 ± 8,6	168,9 ± 18,2	636 ± 73	18 ± 2	0,3 ± 0,2
	108,6 ± 9,6	147,4 ± 1,6	720 ± 49	31 ± 2	0,2 ± 0,1

*Odchylka byla menší než 1 %.

6.2.2 Frekvenční testy

Frekvenční testy poskytly data potřebná pro vyhodnocení struktury pórů studovaných hydrogelů, jak přidavek povrchově aktivních látek ovlivňuje jejich hodnoty a jaké jsou rozdíly mezi velikostmi pórů fyzikálně síťovaných hydrogelů. Experimenty byly prováděny pro amplitudu deformace v LVO. Hodnoty získané z rovnice (5) a (6) byly použity ke stanovení hodnot uvedených v tabulkách pro tuto kapitolu, kde ρ_x je hustota zesítěvání, která dává informaci o hustotě sítě v nabídnuté hydrogelové formě, a pórovitost je velikost pórů za předpokladu kulovité sítě, poskytující informace o vzdálenostech mezi jednotlivými uzly. Průměrná hodnota paměťového modulu je součtem všech hodnot při různých úhlových frekvencích v platě.



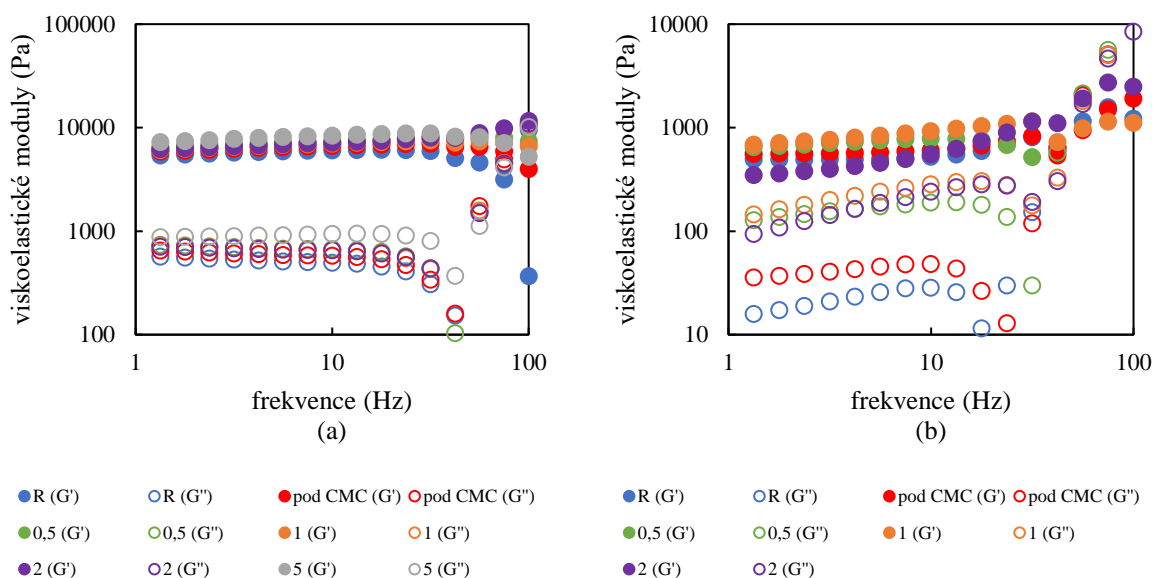
Obrázek 50: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídávky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Tabulka 27: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované kladně nabitým CTAB

CTAB (hm.%)	Agaróza			Želatina		
	G' (Pa)	ρ_x (mol·m ⁻³)	Pórovitost (nm)	G' (Pa)	ρ_x (mol·m ⁻³)	Pórovitost (nm)
R (0)	19472 ± 1828	93,7 ± 8,8	3,24 ± 0,10	763 ± 63	3,7 ± 0,3	9,53 ± 0,26
pod CMC	19612 ± 2941	94,4 ± 14,2	3,24 ± 0,16	651 ± 36	3,1 ± 0,2	10,04 ± 0,18
0,5	18355 ± 3104	88,3 ± 14,9	3,31 ± 0,19	774 ± 79	3,7 ± 0,4	9,49 ± 0,32
1	28981 ± 5524	139,4 ± 26,6	2,84 ± 0,18	538 ± 21	2,6 ± 0,1	10,70 ± 0,14
2	22289 ± 4041	107,2 ± 19,4	3,10 ± 0,19	787 ± 27	3,8 ± 0,1	9,43 ± 0,11
5	16396 ± 1264	118,3 ± 6,1	2,99 ± 0,05	545 ± 22	2,6 ± 0,1	10,76 ± 0,14

Výsledky shrnuté pro oba fyzikálně síťované hydrogely modifikované přídávku CTAB lze pozorovat na obrázku (Obrázek 50) a tabulce (Tabulka 27). Hustota zesítěvání rostla se zvyšující se koncentrací CTAB pouze u agarózových hydrogelů, zatímco u želatinových hydrogelů byla tato hodnota velmi podobná pro všechny hydrogelové vzorky. To bylo opět dáno nízkou koncentrací želatinové matrice, kde CTAB a jeho micely neměly výrazný vliv na strukturu

hydrogelového materiálu. Výsledná hodnota velikosti pórů nebyla významně ovlivněna. Jediným rozdílem byly větší hodnoty pórů u želatinových hydrogelů oproti agarózovým. Lze tedy konstatovat, že CTAB neovlivňuje velikosti pórů. Tyto závěry jsou podpořeny snímky ze SEM a více diskutovány v kapitole 6.2.7 (Obrázek 75 a Obrázek 76).



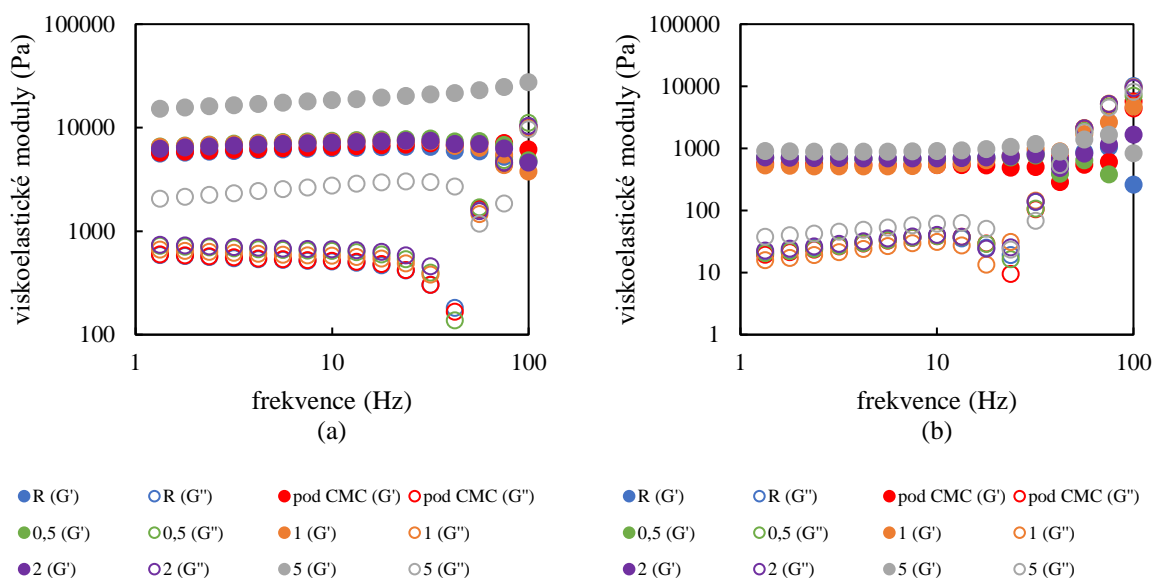
Obrázek 51: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídávky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Tabulka 28: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované záporně nabitým SDS

SDS (hm.%)	Agaróza			Želatina		
	G' (Pa)	ρ_x (mol·m ⁻³)	Pórovitost (nm)	G' (Pa)	ρ_x (mol·m ⁻³)	Pórovitost (nm)
R	32777 ± 1540	157,7 ± 7,4	2,72 ± 0,04	507 ± 32	2,4 ± 0,3	10,92 ± 0,23
pod CMC	30918 ± 618	148,7 ± 3,0	2,77 ± 0,02	573 ± 13	2,8 ± 0,1	10,48 ± 0,08
0,5	34669 ± 4684	166,8 ± 22,5	2,67 ± 0,12	661 ± 32	3,2 ± 0,2	9,99 ± 0,16
1	32195 ± 4963	154,9 ± 23,9	2,74 ± 0,14	723 ± 14	3,5 ± 0,1	9,70 ± 0,06
2	34812 ± 1261	167,5 ± 6,1	2,67 ± 0,03	384 ± 33	1,9 ± 0,2	11,98 ± 0,34
5	27170 ± 1531	130,7 ± 7,4	2,86 ± 0,05	—	—	—

Přídavek negativně nabitého tenzidu (SDS) do agarózových a želatinových hydrogelů lze pozorovat na obrázku (Obrázek 51) a tabulce (Tabulka 28). Jak bylo uvedeno v kapitole pro amplitudovou deformaci (kapitola 6.2.1), tak SDS mělo odlišný vliv na studované hydrogelové matrice oproti CTAB micelám. U agarózových hydrogelů lze pozorovat, že hustota zesítnění byla velmi podobná pro všechny vzorky až do hydrogelu s největším přídávkem tenzidu, u kterého byla hustota zesítnění nižší než u ostatních vzorků. I když byly hodnoty pórovitosti pro všechny vzorky v podstatě stejné. U želatinových hydrogelů bylo vyhodnocení složitější. Hlavním důvodem byla schopnost gelovatění těchto vzorků. Vyšší koncentrace SDS měla negativní vliv na hydrogelovou strukturu [199, 200], což vedlo k tomu, že nejvyšší přídávky tohoto tenzidu nepodporovaly tvorbu gelu u vzorku s nejvyšší koncentrací SDS a u druhé nejvyšší koncentrace (2 hm.%) ovlivňovala strukturální vlastnosti. V případě, že by opět byla

předpovězena koncentrační hranice, tak by hustota síťování rostla s koncentrací a velikost ok by se zmenšovala. Tato skutečnost měla zajímavý aplikační potenciál, kdy opravdu jen malou úpravou koncentrace tenzidového modifikátoru jsme schopni začít výrazně ovlivňovat hydrogelové vlastnosti. To nám může pomoci připravit hydrogel „na míru“.



Obrázek 52: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídávky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Při použití Tritonu X-100 jako modifikátoru se mohly ignorovat nábojové interakce, jelikož se jednalo o neionogenní tenzid. Tyto testy potvrzují to, co bylo řečeno u amplitudových testů pro agarózovou matici (Obrázek 52a), a tedy že s rostoucí koncentrací tenzidu a vzniku micel, vměstnávajících se do hydrogelové struktury, docházelo k růstu hodnot modulů (Tabulka 29), což bylo zohledněno i v hustotě zesíťování. Naopak hodnoty pórovitosti si byly velmi podobné a statisticky z toho nebylo možné vyvozovat závěry.

Tabulka 29: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované ne nabitým Tritonem X-100

Triton X-100 (hm.%)	Agaróza			Želatina		
	G' (Pa)	ρ_x ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$)	Pórovitost (nm)	G' (Pa)	ρ_x ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$)	Pórovitost (nm)
R	5556 ± 239	26,7 ± 1,2	4,91 ± 0,07	739 ± 113	3,6 ± 0,5	9,65 ± 0,49
pod CMC	5699 ± 80	27,4 ± 0,4	4,87 ± 0,02	591 ± 6	2,8 ± 0,1	10,37 ± 0,03
0,5	6528 ± 422	31,4 ± 2,0	4,66 ± 0,10	725 ± 34	3,5 ± 0,2	9,69 ± 0,15
1	6456 ± 433	31,1 ± 2,1	4,68 ± 0,11	556 ± 74	2,7 ± 0,4	10,60 ± 0,47
2	6212 ± 189	29,9 ± 0,9	4,73 ± 0,05	731 ± 107	3,5 ± 0,5	9,69 ± 0,47
5	15396 ± 1559	74,1 ± 7,5	3,42 ± 0,12	933 ± 84	4,5 ± 0,4	9,10 ± 0,27

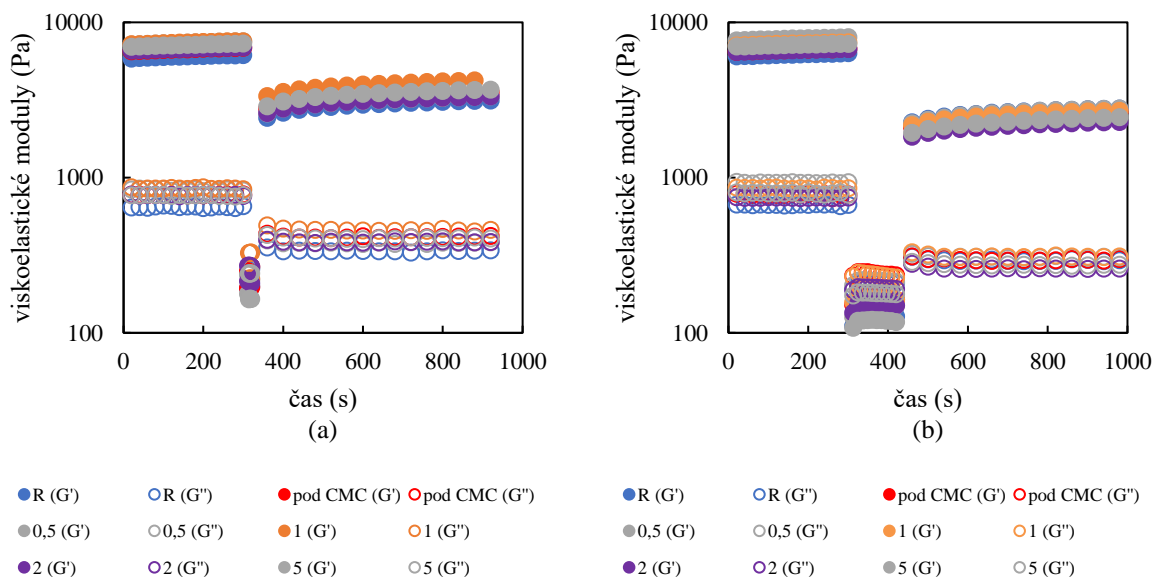
V případě želatinové matrice (Obrázek 52b) jsou rozdíly v modulových hodnotách zřejmé výrazněji až pro vzorek s nejvyšší koncentrací tenzidu, kde už, stejně jako u agarózových hydrogelů, hrálo určitý vliv množství sušiny, které je větší než u ostatních vzorků. Z důvodu

nízké koncentrace želatiny a nepřítomnosti nábojových interakcí byla hustota zesíťení a hodnoty pórovitosti velmi podobné, a tedy tenzidem neovlivněné.

6.2.3 Tří intervalové tixotropní testy

Studiem relaxačních testů, v této části konkrétně tří intervalových tixotropních testů, ve dvojnásobném nastavení, s deformačním krokem 20 nebo 120 sekund, byla snaha získat informace o vlivu různých tenzidů na agarózové a želatinové hydrogely a jejich schopnostech zotavit se z poškození způsobeného napětím, které bylo zvoleno mimo LVO. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí deformačního a relaxačního stavu, které popisovaly schopnost gelu odolávat deformaci a následně návratu do počátečního stavu. Deformační i relaxační stavy se vždy vztahují k původnímu stavu hydrogelu před deformací. Těmito testy byly modelovány stavy, do kterých by se daný hydrogel mohl dostat při běžné manipulaci nebo i při konkrétních aplikacích.

Hlavním cílem tohoto testu bylo znázornění paměťového modulu, který uchovává informace o viskoelastických vlastnostech studovaných hydrogelů. Výsledky získané pro agarózové a želatinové hydrogely modifikované kladně nabitým CTAB, s kratším deformačním krokem dlouhým 20 s a delším 120 s dlouhým krokem, lze pozorovat na obrázku (Obrázek 53) a tabulce (Tabulka 30). Grafy znázorňují průběh všech tří kroků během testu. První krok, který má napodobovat chování gelu v klidu, bez vnějšího ovlivnění, druhý krok, tzv. deformační, během kterého je působeno na hydrogel napětím mimo LVO, který deformuje hydrogel, a poslední krok relaxační, který dává hydrogelu prostor zregenerovat do podoby, co nejpodobnější původnímu stavu.



Obrázek 53: Graf průběhu 3ITT pro agarózové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přídávky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Sloupce v tabulce (Tabulka 30) nazvané „Deformace (%)“ popisují, jak aplikované napětí deformuje studované agarózové a želatinové hydrogely. Hodnota deformace zaznamenaná v procentech je vztažena na původní hodnotu paměťového modulu hydrogelu v prvním kroku testu. Druhá veličina ve sloupci „Relaxace (%)“ znázorňuje schopnost hydrogelu zrelaxovat po způsobeném poškození hydrogelu. Všechny agarózové hydrogelové vzorky, které byly

deformovány 20 s, vykazovaly obdobnou odezvu na deformaci. Mezi jednotlivými hodnotami deformačního stavu nebyly téměř žádné rozdíly. S těmito hodnotami také korelovaly hodnoty relaxačního stavu, které pro všechny agaróзовé hydrogely byly také shodné. Všechny agaróзовé hydrogely zrelaxovaly z deformovaného stavu o deset procent během studovaného časového intervalu. Hodnoty modulů po deformaci postupně rostly (Obrázek 53a), a tak se dá předpokládat, že v dostatečně dlouhém časovém intervalu by došlo k relaxaci vzorků do stavu blízkému stavu před deformací. Po zhodnocení deformačních i relaxačních stavů bylo možné konstatovat, že krok deformace, se svou dobou trvání 20 s, nebyl dostatečně dlouhý na to, aby způsobil dostatečné poškození k rozlišení jednotlivých vzorků a tedy, aby bylo možné dělat závěry o modifikacích CTAB na hydrogelovou strukturu agaróзовých hydrogelů.

Výsledky získané pro stejné nastavení s deformačním krokem prodlouženým na 120 s je možné pozorovat na obrázku výše (Obrázek 53b) a v tabulce (Tabulka 30). Delší deformační krok již deformoval agaróзовé hydrogely rozdílně. Rostoucí koncentrace CTAB způsobovala větší deformaci agaróзовých hydrogelů. Referenční vzorek byl zdeformován z původního stavu na 36,0 % a postupně došlo k deformaci až na 26,7 % u vzorku s nejvyšší koncentrací tenzidu. Schopnost relaxace byla tvorbou micel zmenšena. Kompaktní agaróзовé síť vyplněná CTAB neměla dostatek prostoru k regeneraci. U všech vzorků s koncentrací CTAB nad CMC došlo k relaxaci z 33,9–36,5 % oproti vzorkům pod CMC, které zrelaxovaly z 44,3 % a 39,5 %. Schopnost relaxovat korelovala se snižující se hodnotou modulů zaznamenaných amplitudovými deformačními testy (Tabulka 21). Přidávky tenzidu a posléze tvorba micel měly spíše negativní vliv na schopnost relaxace. Tento vliv byl sice pouze v řádu jednotek procent, ale již byl pozorovatelný. Výrazně to ale neovlivňovalo aplikační potenciál a s ním spojené viskoelastické vlastnosti.

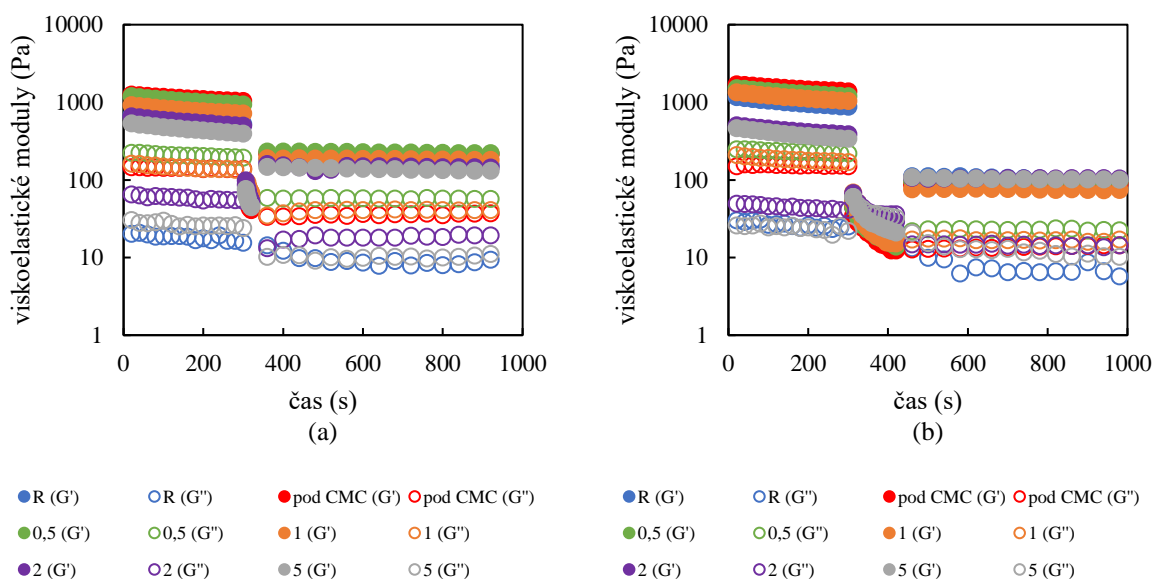
Tabulka 30: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agaróзовé a želatinové hydrogely s přidávkou CTAB

CTAB		Agaróza		Želatina	
Vzorek (hm.%)	Def. krok (s)	Deformace (%)	Relaxace (%)	Deformace (%)	Relaxace (%)
R	20	39,4 ± 2,0	50,8 ± 2,5	34,2 ± 1,7	29,8 ± 1,5
	120	36,0 ± 1,8	44,3 ± 2,2	12,8 ± 0,6	11,3 ± 0,8
Pod CMC	20	40,6 ± 2,0	51,6 ± 2,6	21,1 ± 1,1	20,6 ± 1,0
	120	31,2 ± 1,6	39,5 ± 2,0	6,3 ± 0,3	6,4 ± 0,5
0,5	20	34,4 ± 1,7	44,1 ± 2,2	24,8 ± 1,2	23,5 ± 1,2
	120	27,9 ± 1,4	35,0 ± 1,8	8,1 ± 0,4	8,0 ± 0,6
1	20	44,4 ± 2,2	56,3 ± 2,8	26,7 ± 1,3	25,3 ± 1,3
	120	29,2 ± 1,5	36,5 ± 1,8	7,3 ± 0,4	7,1 ± 0,5
2	20	37,6 ± 1,9	48,3 ± 2,4	31,8 ± 1,6	28,8 ± 1,4
	120	27,2 ± 1,4	34,2 ± 1,7	27,7 ± 1,4	27,2 ± 1,9
5	20	39,5 ± 2,0	50,5 ± 2,5	37,2 ± 1,9	33,1 ± 1,7
	120	26,7 ± 1,3	33,9 ± 1,7	32,1 ± 1,6	29,7 ± 2,1

Naopak tomu bylo u želatinových hydrogelů, kde vyšší koncentrace CTAB pomáhala želatinovým vzorkům lépe odolávat kratšímu (20 s) i delšímu (120 s) deformačnímu kroku.

Počáteční přídavky CTAB způsobily vyšší deformaci hydrogelového systému. Ovšem po překročení CMC začaly micely vyplňovat želatinovou hydrogelovou síť, což hydrogelům pomohlo odolávat deformaci (Tabulka 30). Vzorky s nejvyššími přídávky CTAB byly schopny vyztužit hydrogelovou síť, a to díky nižší hustotě sítě želatinových hydrogelů oproti agarózovým hydrogelům. U těchto vzorků byla pozorovatelná dokonce shodná nebo menší hodnota deformace než u referenčního vzorku, do jehož sítě nebylo zasahováno. Při větším poškození systému delším deformačním krokem byla tato odolnost micelárními strukturami mnohem výraznější, kdy vzorky s 2 a 5 hm.% CTAB vykazovaly až třikrát vyšší odolnost k deformaci oproti referenčnímu vzorku.

Schopnost relaxace u želatinových hydrogelů nebyla výrazná, v řadě případů byla hodnota relaxace hydrogelu nižší než hodnota deformace. Micelární struktury tento jev zpomalovaly a nedovolovaly další deformaci. Neustálá deformace byla způsobena, již dříve zmíněnou, nízkou koncentrací želatinových hydrogelů, která způsobovala, že tyto systémy reagovaly na jakýkoliv podnět mnohem déle, nežli to bylo pozorováno u agarózových hydrogelů (Obrázek 54). To bylo také potvrzeno pomocí frekvenčních testů, kde bylo zjištěno, že hustota želatinové sítě byla mnohokrát menší než agarózové (Tabulka 27, Tabulka 28 a Tabulka 29). Pouhé dávkování hydrogelu do reometru způsobovalo borcení vzorků. Želatinový hydrogelový systém by tedy vyžadoval výrazné prodloužení prvního a třetího kroku testu, které by dovolilo hydrogelům se ustálit, ovšem bez záruky, že by k úplnému ustálení vůbec došlo. S tím by také byly do měření zaneseny další faktory jako jsou vysoušení vzorku nebo změna jeho struktury během testu.

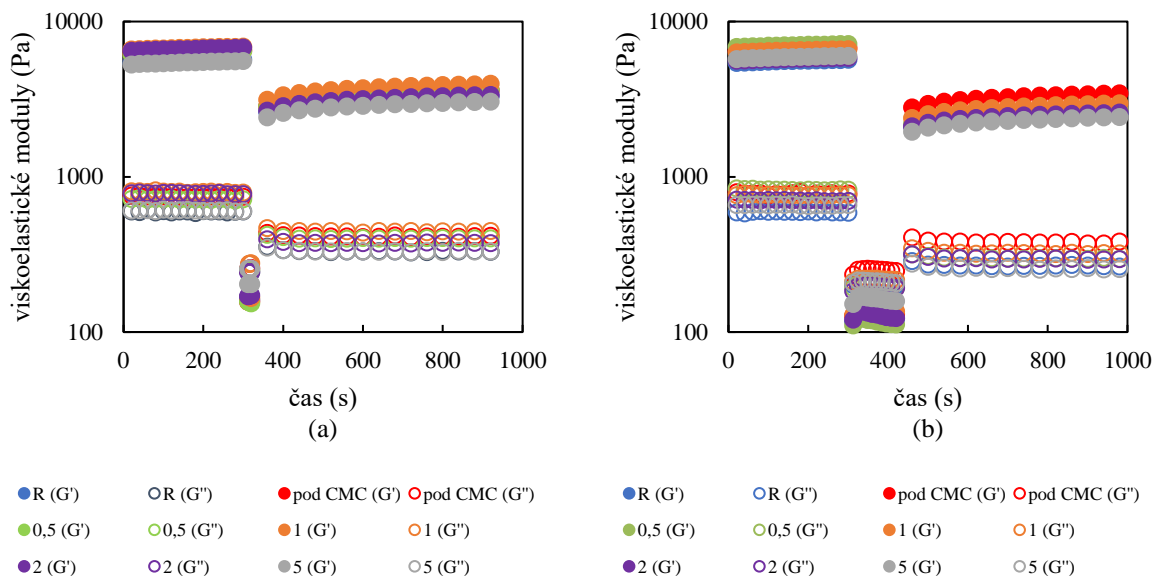


Obrázek 54: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přídávky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Druhým studovaným modifikátorem hydrogelových vlastností fyzikálně síťovaných hydrogelů byl záporně nabitý tenzid SDS (Obrázek 55). Stejně jako tomu bylo u modifikace CTAB, tak ani zde u dvacetisekundového deformačního kroku nemělo SDS výrazný vliv na odolnost agarózového hydrogelového systému. Dvacet sekund se zdálo příliš málo času na to, aby byl pozorovatelný vliv micelárních struktur na vyztužení hydrogelu. U delšího

deformačního kroku byl určitý vliv micelárních struktur pozorovatelný (Tabulka 31). Obdobně jako u CTAB, tak i u modifikace SDS došlo micelárními strukturami k narušení odolnosti vůči deformaci, která byla způsobena přesycením husté agaróзовé sítě tenzidem.

Při kratším deformačním kroku nedošlo k výraznému ovlivnění agaróзовé hydrogelové struktury, a tak nebylo možné pozorovat výrazné rozdíly v relaxaci mezi jednotlivými hydrogely. U delšího kroku určité rozdíly byly, ale hodnotově byly tyto rozdíly velmi malé na to, aby bylo možné vyvozovat větší závěry. Tomu by odpovídaly také modulové hodnoty získané pro tento typ tenzidu v rámci amplitudových deformačních a frekvenčních testů (Tabulka 23 a Tabulka 28).



Obrázek 55: Graf průběhu 3ITT pro agaróзовé hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přidavky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

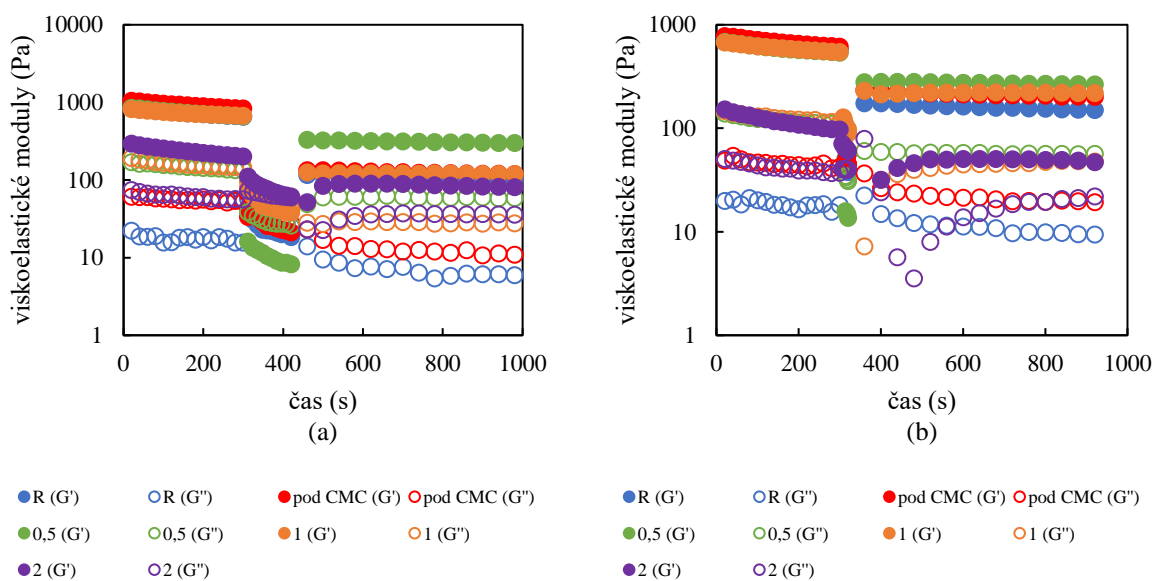
Vzorky želatinových hydrogelů byly ovlivněny neschopností gelace u vzorku s nejvyšší koncentrací SDS (5 hm.%). Ostatní želatinové hydrogely byly přidavkem SDS posíleny a jejich schopnost odolávat deformaci rostla se zvyšující se koncentrací SDS, kde hlavním důvodem byla tvorba micel, protože referenční vzorek a vzorek s koncentrací SDS pod CMC vykazovaly nižší odolnost vůči deformaci. Pro obě délky deformačního kroku bylo zřejmé, že vzorek s 2 hm.% SDS byl schopen gelovat, ale v porovnání s ostatními vzorky s tenzidem uvnitř struktury bylo zřejmé, že byl interakcí SDS-želatina ovlivněn [199]. Jak již bylo diskutováno dříve, tak SDS ve správném množství byl schopen želatinové hydrogely posílit. Zejména díky delšímu deformačnímu kroku bylo zřejmé, že ideální přidavek SDS pro posílení hydrogelu byl 0,5 hm.%, jelikož tento vzorek vykazoval pro obě studované délky deformačního kroku nejvyšší hodnoty odolnosti vůči deformaci (Tabulka 31).

Schopnost relaxovat byla pro želatinové hydrogely vznikem micel také pozměněna (Obrázek 56). U kratšího deformačního kroku, kdy nebyl hydrogel dostatečně poškozen, dokázaly micelární struktury vyztužit hydrogelovou síť a zpomalit ustálenou deformaci hydrogelu. V případě 2 hm.% SDS byl hydrogel dokonce regenerován až na 48,6 % původního stavu z 32,9 % po deformaci. Delší deformační krok vedl k výraznějšímu poškození hydrogelů, na

kterých byl v menší míře pozorovatelný stejný vliv micelárních struktur. I zde byla pro 2 hm.% vzorek pozorovaná relaxace na 39,5 % původního stavu z deformovaných 25,6 %.

Tabulka 31: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agarózové a želatinové hydrogely s přísádky SDS

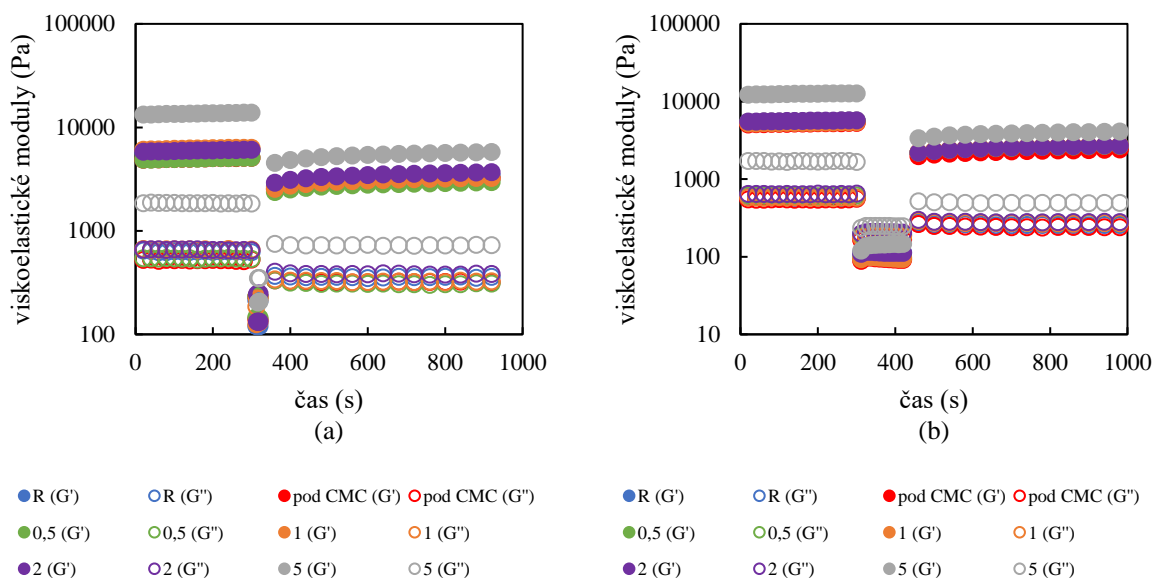
SDS		Agaróza		Želatina	
Vzorek (hm.%)	Def. krok (s)	Deformace (%)	Relaxace (%)	Deformace (%)	Relaxace (%)
R	20	46,0 ± 2,3	57,9 ± 2,9	30,6 ± 1,5	26,3 ± 1,3
	120	37,4 ± 2,2	46,0 ± 2,3	17,7 ± 0,9	15,7 ± 0,8
Pod CMC	20	43,8 ± 2,2	55,5 ± 2,8	37,9 ± 1,9	32,8 ± 1,6
	120	41,3 ± 2,5	51,3 ± 2,6	16,0 ± 0,8	14,3 ± 0,7
0,5	20	44,2 ± 2,2	55,9 ± 2,8	51,8 ± 2,6	49,3 ± 2,5
	120	30,7 ± 1,8	37,9 ± 1,9	49,9 ± 2,5	44,9 ± 2,3
1	20	45,4 ± 2,3	57,6 ± 2,9	42,4 ± 2,1	40,2 ± 2,0
	120	36,0 ± 2,2	45,1 ± 2,3	18,6 ± 0,9	17,6 ± 0,9
2	20	39,3 ± 2,0	49,5 ± 2,5	32,9 ± 1,6	48,6 ± 2,4
	120	36,2 ± 2,2	44,6 ± 2,2	25,6 ± 1,3	39,5 ± 2,0
5	20	43,3 ± 2,2	54,8 ± 2,7	–	–
	120	32,3 ± 1,9	40,6 ± 2,0	–	–



Obrázek 56: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Posledním studovaným tenzidem lišícím se molekulární hmotností a nábojem byl Triton X-100 (Obrázek 57). U agarózových hydrogelů byl vliv tenzidu na schopnost odolávat deformaci, stejně jako u ostatních tenzidů, poměrně malý (Tabulka 32). Jak u kratšího, tak u delšího deformačního kroku bylo možné pozorovat výrazné zhoršení schopnosti odolávat deformaci u vzorku s nejvyšší koncentrací Tritonu X-100 (5 hm.%). To podporovaly výsledky ostatních tenzidů, kde také zvýšené množství přidané amfifilní látky vedlo k přesycení systému

a neschopnosti odolávat aplikovanému napětí. Schopnost relaxace byla pro všechny vzorky velmi podobná, nezávisle na délce deformačního kroku. Stejně jako předešlé tenzidy CTAB a SDS, tak i Triton X-100 byl schopen zrelaxovat z 47–60 %. Jediným rozdílem byl opět vzorek s nejvyšším množstvím tenzidu, který relaxoval hůře, což bylo způsobeno větší deformací vzorku během druhého kroku testu. Pokud bychom se ovšem zaměřili na hodnotovou schopnost relaxace z hodnoty po deformaci, tak i vzorky s nejvyšší koncentrací tenzidu byly schopny za deset minut zrelaxovat o 8,7 % respektive 5,9 % (pro deformační krok dlouhý 20 a 120 s), oproti 9–10 %, které se vyskytovaly u ostatních vzorků.



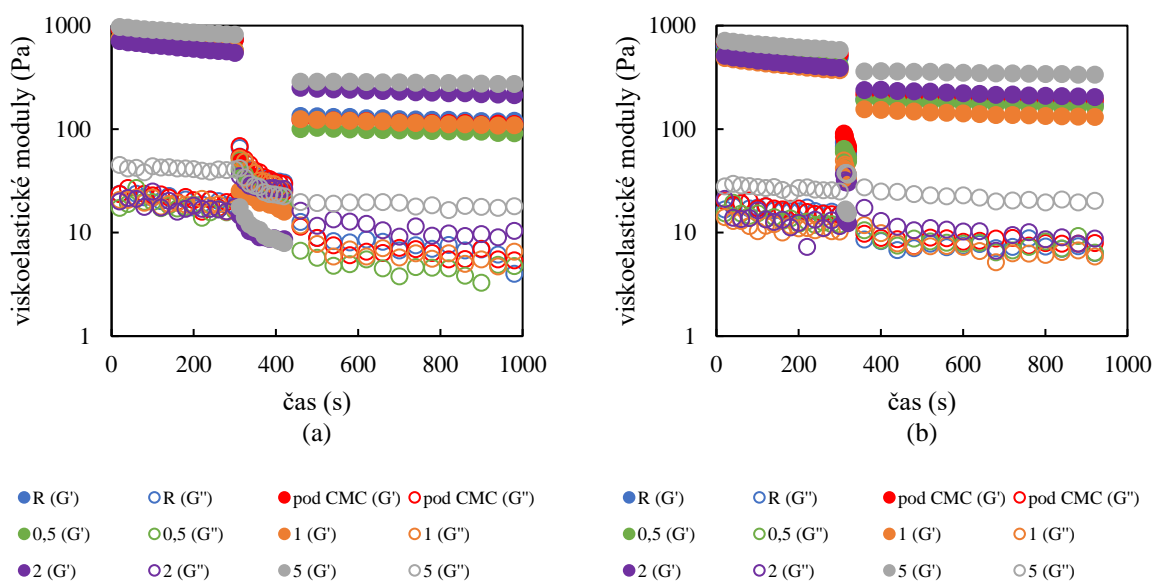
Obrázek 57: Graf průběhu 3ITT pro agaróзовé hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísávkami Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Tabulka 32: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agaróзовé a želatinové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100

Triton X-100		Agaróza		Želatina	
Vzorek (hm.%)	Def. krok (s)	Deformace (%)	Relaxace (%)	Deformace (%)	Relaxace (%)
R	20	44,5 ± 2,2	56,7 ± 2,9	39,3 ± 2,0	34,9 ± 1,7
	120	39,6 ± 2,0	48,7 ± 2,4	18,3 ± 0,9	16,0 ± 0,8
Pod CMC	20	49,5 ± 2,5	62,6 ± 3,3	40,9 ± 2,1	35,8 ± 1,8
	120	37,2 ± 1,9	45,6 ± 2,3	16,8 ± 0,8	15,1 ± 0,8
0,5	20	46,6 ± 2,3	58,0 ± 2,9	46,7 ± 2,3	40,0 ± 2,0
	120	38,7 ± 1,9	47,4 ± 2,4	17,4 ± 0,9	15,8 ± 0,8
1	20	40,1 ± 2,0	51,2 ± 2,6	42,0 ± 2,1	35,5 ± 1,8
	120	41,1 ± 2,1	50,8 ± 2,5	21,8 ± 1,1	18,6 ± 0,9
2	20	48,2 ± 2,4	60,6 ± 3,0	61,2 ± 3,1	52,3 ± 2,6
	120	38,3 ± 1,9	47,5 ± 2,4	41,1 ± 2,2	38,8 ± 1,9
5	20	32,9 ± 1,6	41,6 ± 2,1	62,0 ± 3,1	57,6 ± 2,9
	120	26,4 ± 1,3	32,3 ± 1,6	35,2 ± 1,8	33,3 ± 1,7

Želatinové vzorky s přidavkem Tritonu X-100 reagovaly na kratší i delší deformační krok obdobně jako vzorky s přidavkem CTAB, u kterých nedocházelo k žádné výrazné interakci amfifilní látky s gelotvorným materiálem (Obrázek 58). Přidavky Tritonu X-100 a posléze tvorba micel vedla ke zvýšení pevnosti želatinové sítě. Nejvyšší koncentrace tenzidu způsobila, že 20 s deformace deformovala hydrogel na 62,0 % původní hodnoty oproti referenčnímu vzorku, který byl deformován na 39,3 %. Delší 120 s deformace deformovala vzorek s nejvyšší koncentrací na 35,2 % oproti referenčnímu vzorku deformovanému na 18,3 % (Tabulka 32).

Relaxace byla taktéž podobná výsledkům získaným pro CTAB. Tvorba micel výrazně podporovala relaxaci želatinových hydrogelů už i u krátkého deformačního kroku, u kterých se schopnost relaxovat zvyšovala s množstvím micel v systému. Oproti vzorkům pod CMC (34,9 % a 35,8 %) se relaxace zvětšila až 1,5× pro 2 a 5 hm.% přidavky tenzidu (52,3 % a 57,6 %). Pokud bychom se zaměřili na delší deformační krok, tak rozdílné byly opět až vzorky s nejvyššími koncentracemi tenzidu (2 a 5 hm.%), protože u nižších koncentrací se v hydrogelu nevyskytoval dostatek micelárních struktur. U těchto vzorků se schopnost relaxace oproti referenčnímu vzorku až zdvojnásobila.



Obrázek 58: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přidavky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

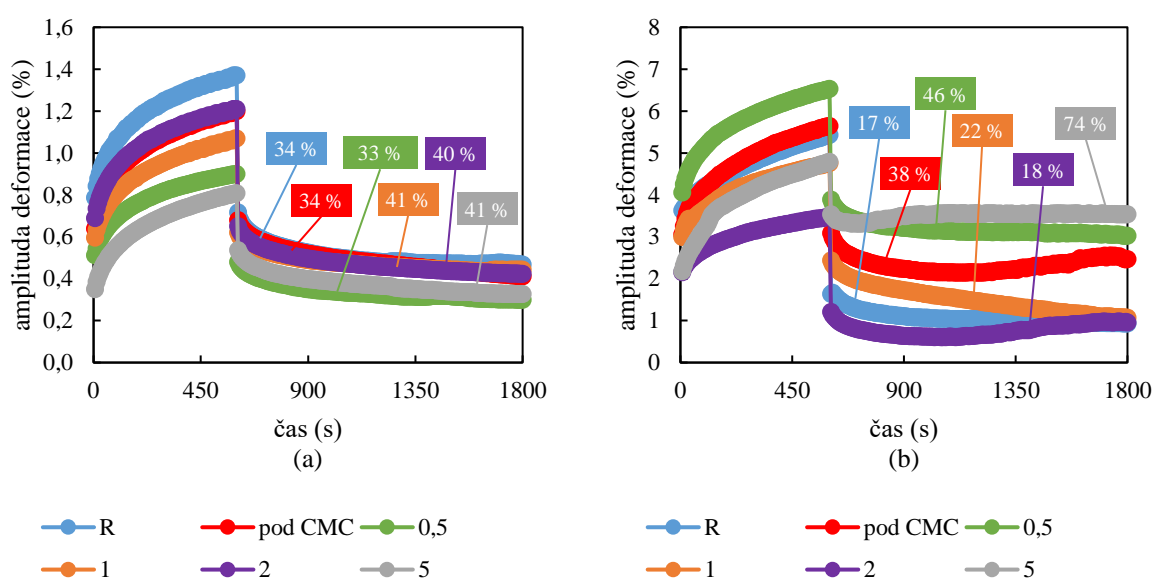
6.2.4 Creepové testy

Jedná se o základní testy polymerních biomateriálů, které nám poskytují představu o obnově biomateriálu po odstranění konstantní zátěže. Obrázek 59 popisuje srovnávací studie agarózových a želatinových vzorků s přidavky CTAB, na které bylo působeno napětím 30 Pa po dobu deseti minut. Po odstranění napětí hydrogely relaxovaly a byla jim zaznamenávána hodnota amplitudy deformace po dobu dvaceti minut.

Z obrázku se dá vypožorovat, že při aplikaci napětí působícího na hydrogely, došlo k rychlému elastickému zotavení. Pro agarózové hydrogely při působení napětí byla hodnota amplitudy deformace poměrně nízká, v rozsahu 0,6–1,4 %. Nejvyšší hodnota patřila referenčnímu vzorku a vzorku pod CMC, a u vzorků s vyššími hodnotami CTAB, nad CMC, docházelo ke snížení hodnot amplitudové deformace, což bylo způsobeno vyšším zaplněním

struktury amfifilem a snížením molekulární mobility. Vzorek bez amfifilního přídatku (R) a vzorky s malým množstvím CTAB (pod CMC a 0,5 hm.%) zrelaxovaly ze zhruba 33–34 %, kdežto vzorky se strukturou vyztuženou větším množstvím micelárních struktur vykazovaly relaxační návratnost v hodnotách 40–41 %.

Stejný test byl proveden také pro želatinové hydrogely s přídatky CTAB. U těchto vzorků došlo při aplikaci napětí, v porovnání s agarózovými hydrogely, k vyšší reakci amplitudové deformace v rozmezí 3–7 %. Zároveň s tím si lze povšimnout poměrně nejednotných hodnot relaxace, které se vyskytovaly v rozsahu 17–74 %. To bylo způsobeno, již dříve zmíněnou, nízkou želatinovou koncentrací, která v rámci tohoto testu dovolovala studovaným vzorkům značnou odchylku. I tak lze ovšem z těchto výsledků vyvozovat určité závěry. A tedy, že vyšší koncentrace CTAB (5 hm.%) nahrazovala nízkou koncentraci hydrogelové matrice a vyztužovala jeho strukturu. To z něj může společně s dalšími hydrogelovými vlastnostmi (transportní, morfologické) činit zajímavého zástupce s aplikačním potenciálem.

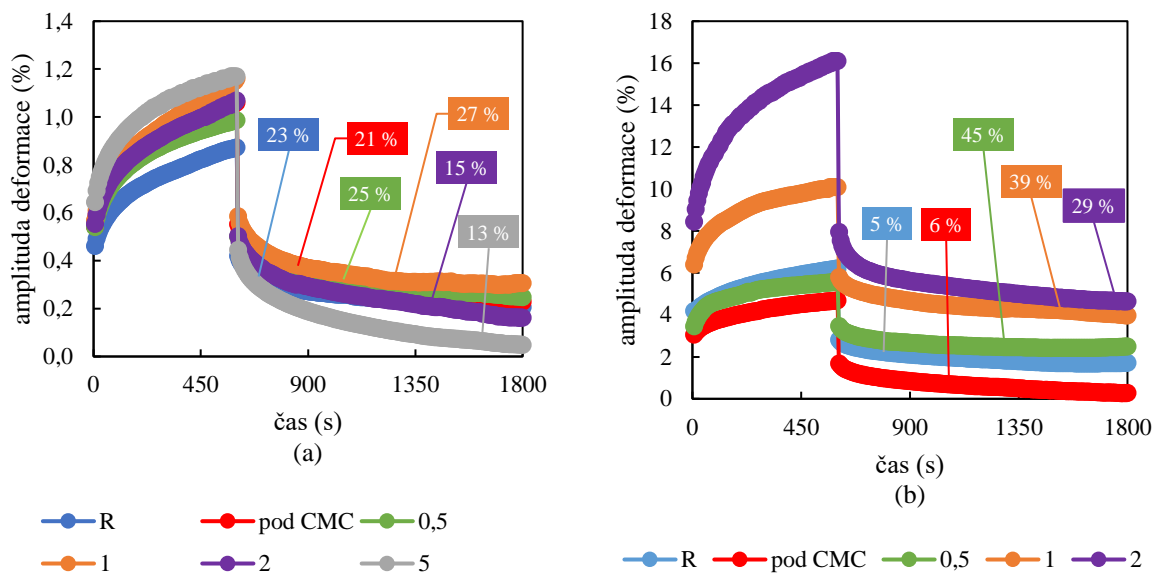


Obrázek 59: Graf creepového testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídatky CTAB

Stejně jako u agarózových hydrogelů modifikovaných CTAB, tak také při modifikaci pomocí SDS vykazovaly hydrogely při aplikaci napětí velmi nízké hodnoty amplitudy deformace. V tomto případě ovšem byly hodnoty velmi blízko u sebe a v rámci chyby se nedalo říct, že by se mezi sebou výrazně lišily. Jediným rozdílem byly až hydrogely s nejvyššími přídatky SDS (2 a 5 hm.%). U těchto vzorků (Obrázek 60a) došlo k nejnížší obnově amplitudy deformace, což mohlo být způsobeno právě množstvím tenzidu uvnitř hydrogelové struktury, kdy se toto množství zdálo kontraproduktivní a při tomto testu vedlo k deformaci vzorku, která zamezovala obnově. To potvrzoval i sklon křivky při této obnově v druhém kroku, který se po odebrání napětí nejevil být konstantní a rovnoběžný s osou x, ale stále klesal.

Opačný případ zde platí pro želatinové hydrogely modifikované SDS (Obrázek 60b). U těchto vzorků bylo opět možné pozorovat výrazně vyšší hodnoty amplitudy deformace při aplikaci napětí, které se vyskytovaly od 2 do 16 %. Nízké přídatky tenzidu (referenční, pod CMC a 0,5 hm.%) výrazně neovlivňovaly hodnotu amplitudy deformace. Na rozdíl oproti tomu

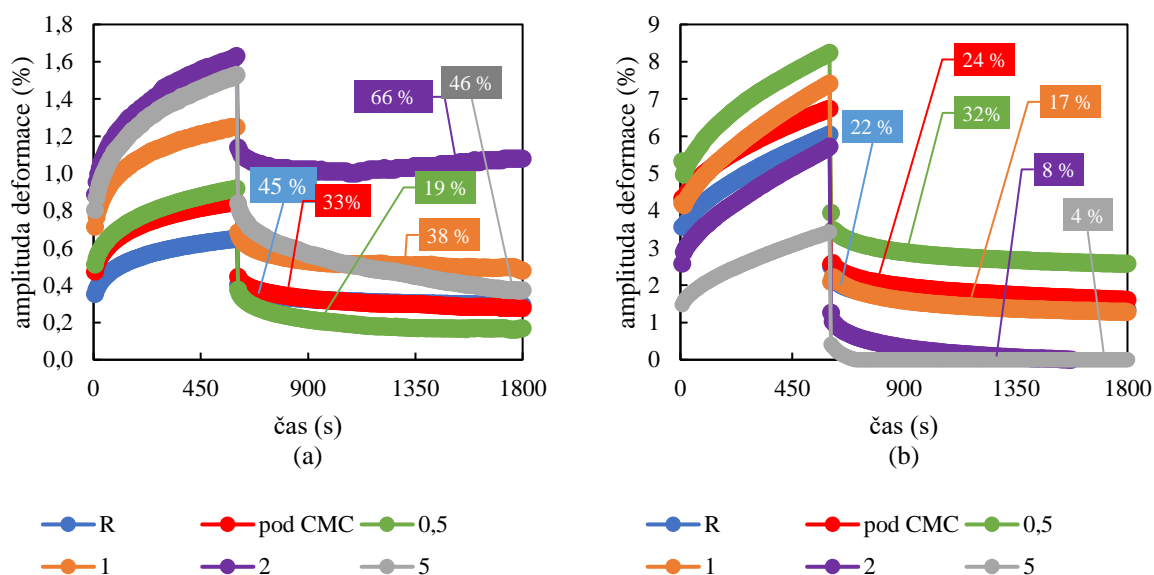
přidavky vyšší (1 a 2 hm.%) měly opačný vliv. U želatinových hydrogelů při použité koncentraci (8 hm.%) nedocházelo k ovlivnění molekulární mobility, jelikož hustota zaplnění nebyla při této koncentraci tak výrazná a pohyb řetězců byl stále málo ovlivněn a způsoboval vysokou hodnotu amplitudy deformace. Obdobně, při odebrání napětí, došlo u vzorků s vyšším obsahem SDS k největší relaxaci, což mohlo být způsobeno právě amfifilními strukturami, které poskytovaly hydrogelům zvýšenou uniformitu, která podporovala návrat hydrogelů do původního stavu.



Obrázek 60: Graf creepového testu pro agaróзовé hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přidavky SDS

Přídavek bez nábojového Tritonu X-100 do agaróзовé matrice způsoboval očekávanou odezvu na aplikované napětí. To bylo na obrázku (Obrázek 61a) zachyceno jako hodnota amplitudy deformace, která se zvětšovala s množstvím přidaného tenzidu. Nejnižší hodnotu měl referenční vzorek s 0,6 %. Tato hodnota postupně s množstvím tenzidu rostla až k hodnotě 1,6 % pro vzorky s největším množstvím tenzidu a micelárních struktur (2 a 5 hm.%). Po odstranění napětí docházelo k relaxaci, pro které byly výsledky nejednotné. Jelikož se neočekávala nábojová interakce, protože bylo pracováno s neutrální matricí i nenabitým tenzidem, tak se u těchto odchylek očekávalo, že budou způsobeny molekulární velikostí a strukturou tenzidu, která bude větší a odlišná od jiných studovaných tenzidů (CTAB a SDS). Opět bylo ovšem třeba brát v potaz nízké hodnoty, se kterými bylo pracováno v případě agaróзовých hydrogelů a u kterých se dostávalo na hranici citlivosti přístroje. I zde si ovšem lze povšimnout, že relaxace vykazovala lepších výsledků pro hydrogely s vyššími přidavky tenzidu (2 a 5 hm.%).

Pro želatinovou matricí (Obrázek 61b) byla odezva na napětí totožná jako pro želatinové hydrogely s přidavky CTAB, a tedy, že hodnota amplitudy deformace byla nejvyšší pro vzorky s nejvyšším množstvím tenzidu. U relaxace už se ovšem vyskytovaly rozdíly. Rozdíly byly opět pravděpodobně způsobeny velikostí molekul Tritonu X-100 (téměř dvojnásobné oproti CTAB), které pro vzorky s jeho nejvyšší koncentrací (2 a 5 hnarušovaly hydrogelovou strukturu a nepodporovaly relaxaci. U ostatních vzorků nebyl vliv Tritonu X-100 výrazný.



Obrázek 61: Graf creepového testu pro agaróзовé hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přídávky Tritonu X-100

Pokusíme-li se zhodnotit vliv jednotlivých tenzidů na hydrogelovou matici, tak dostaneme nejednotné závěry. To je zapříčiněno zejména řadou faktorů, které popis hydrogelové struktury ovlivňují. Těmi mohou být homogenita hydrogelu, vliv náboje, interakce, velikost, nebo struktura amfifilu. Je možné jednotlivé tenzidy mezi sebou porovnat, ale závěry nebudou univerzální pro např. „záporný tenzid s fyzikálně síťovaným hydrogelem“, ale pouze konkrétně pro „SDS s agarózou“, aj. Vyplnění hydrogelové sítě micelami je tak jednoduchým způsobem, jak zvýšit hydrogelovou hierarchii. To z těchto hydrogelů dělá ideální prostředí pro buněčný růst, což vede k rozšíření možností jejich využití.

Ve zkratce by se dalo konstatovat, že přídavek jakéhokoliv amfifilu je schopen ovlivnit pevnost hydrogelové sítě. S tím koreluje i relaxační testy, u kterých při dostatečně dlouhém deformačním kroku jsme byli schopni pozorovat ovlivnění schopnosti relaxace u 3ITT testů a taktéž u creepových testů. Logicky tak korelovalo zpevnění hydrogelové sítě se zvýšenou schopností hydrogelové relaxace. Nezávisle na typu tenzidu jsme ovšem nepozorovali vliv a korelaci u frekvenčních testů, u kterých u dpočítané hydrogelové pórovitosti nebyly v rámci chyby pozorovatelné rozdíly, což může být způsobeno malou citlivostí přístroje u takto nízké pórovitosti.

Popis mechanických vlastností ať už hydrogelů modifikovaných amfifily nebo téměř jakýkoliv hydrogelů pro různé aplikační použití je tzv. běh na dlouhou trať. Reologie umožňuje nespočet testů a nastavení, kombinací různých geometrií či faktorů působících na hydrogel během nebo i před měřením, které popisují a upravují pohled na aplikační potenciál jednotlivých hydrogelů. Proto je velmi obtížné vybrat vhodné testy, které by poskytly dostatečné podklady pro vyvozování závěrů. Zde byly prezentovány testy a podmínky působící na gely, které poskytují základ potřebný pro zhodnocení hydrogelů modifikovaných amfifily. Díky nim byly získány informace pro jejich základní charakterizaci. Jak je i zřejmé z této diskuze, tak i tento výběr testů není pro všechny hydrogely ideální a bylo by třeba vědomosti v tomto směru rozšířit i o testy další a mnohdy i časově náročnější (např. testy teplotní a časové

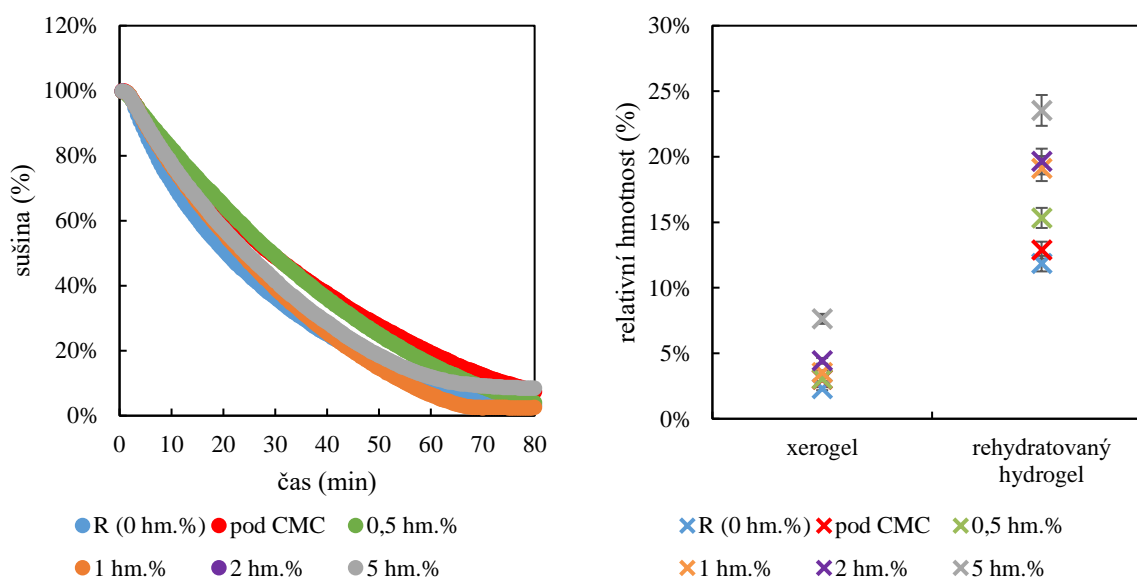
závislosti). I přesto provedené testy slouží jako univerzální základ při charakterizaci hydrogelových systémů.

6.2.5 Sušení a rehydratace hydrogelů modifikovaných tenzidy

Sušení a následná rehydratace jsou poměrně jednoduché experimenty, které nám ovšem můžou pomoci s celkovou charakterizací hydrogelových vzorků. Jelikož voda je jednou z hlavních složek hydrogelového systému, tak to, jak se z hydrogelu dostává a následně jakým způsobem se do hydrogelu zase absorbuje, poskytuje cenné informace o hydrogelu jako celku a zároveň o jeho měnících se vlastnostech před a po rehydrataci. Jelikož je struktura sítě během sušení pozměněna, tak je zajímavé studovat, jaký vliv má tento proces na opětovnou rehydrataci vody do těchto vzorků.

Sušící experimenty, spojené s následnou rehydratací byly provedeny pro fyzikálně síťovanou agarózu i želatinu s přidávkou všech studovaných tenzidů. Sušení bylo studováno při různých teplotách a v různých nastavení, avšak rozdíly mezi nimi nebyly markantní, a tak jsou zde vždy zobrazeny výsledky získané pomocí analyzátoru vlhkosti při 70 °C. Rehydratace byla zaznamenávána tak, že vzorky byly vysušeny až do konstantní hmotnosti a poté následně rehydratovány a v každém stavu jim byla zaznamenána jejich hmotnost. Hodnota rehydratovaného hydrogelu byla zaznamenána vždy tři dny po přidání vody. U agarózových hydrogelů byla do grafů zaznamenána pouze hodnota xerogelů a rehydratovaných hydrogelů. U želatinových systémů byla zaznamenána i hodnota původních hydrogelů, jelikož byla tato hodnota nižší než hodnota rehydratovaných hydrogelů, a tudíž bylo možné tyto hodnoty porovnávat.

6.2.5.1 Kationtový tenzid – CTAB

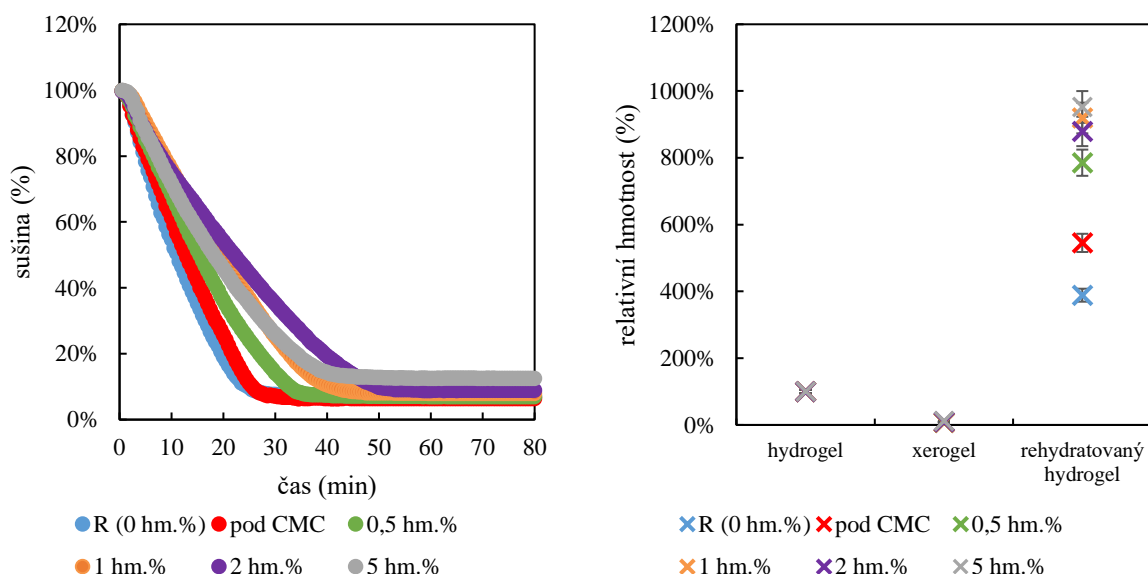


Obrázek 62: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přidávkou kladně nabitého tenzidu CTAB zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované CTAB (vpravo)

Přídavek CTAB, kladně nabitého tenzidu, neměl vliv na průběh sušení agarózových hydrogelů, a to ani v případě koncentrací nad CMC, kdy se uvnitř hydrogelového systému

vyskytovaly micelární struktury. Hydrogely byly vysušeny do úplného bezvodého stavu za 65 minut. Rehydratace prozradila, že přídavky CTAB zvyšují schopnost vzorků přijímat vodu (Obrázek 62), avšak ne tak výrazně jako např. SDS [201]. Se zvyšující koncentrací rostlo i množství reabsorbované vody. Překročení CMC vedlo také k podpoře příjmu vody oproti referenčnímu vzorku a vzorku s CTAB pod CMC.

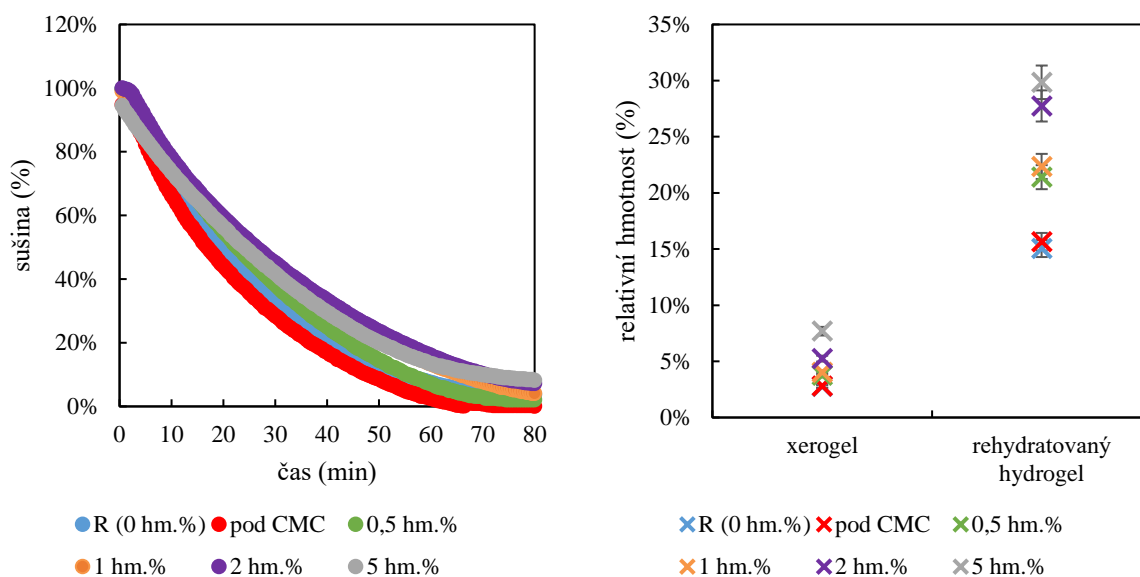
Přídavky kladně nabitého CTAB měly vliv na vysoušení želatinových hydrogelů, což byl první rozdíl oproti agarózovým systémům. Voda byla uvnitř hydrogelů lépe držena po přídavku CTAB. Po tvorbě micel byla tato voda držena uvnitř hydrogelu pevněji a doba vysoušení byla z 25 minut prodloužena až na 40, pro vzorky s nejvyšší koncentrací CTAB. Opětovná rehydratace měla obdobný průběh jako pro agarózové hydrogely, tedy že se zvyšující koncentrací tenzidu docházelo k vyššímu příjmu vody (Obrázek 63). Vliv CTAB a posléze i tvorba micel tento trend mnohonásobně zvyšovaly. Vzorky s tenzidem nad CMC až ztrojnásobili svou hmotnost oproti referenčnímu vzorku. Na co je u těchto želatinových hydrogelů důležité upozornit, je také jejich schopnost absorbovat vodu až do stavu mnohonásobně vyššího, než byl jejich původní hydratovaný stav [202, 203]. Přídavky CTAB tento trend značně zesilují.



Obrázek 63: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přídavky kladně nabitého tenzidu CTAB zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované CTAB (vpravo)

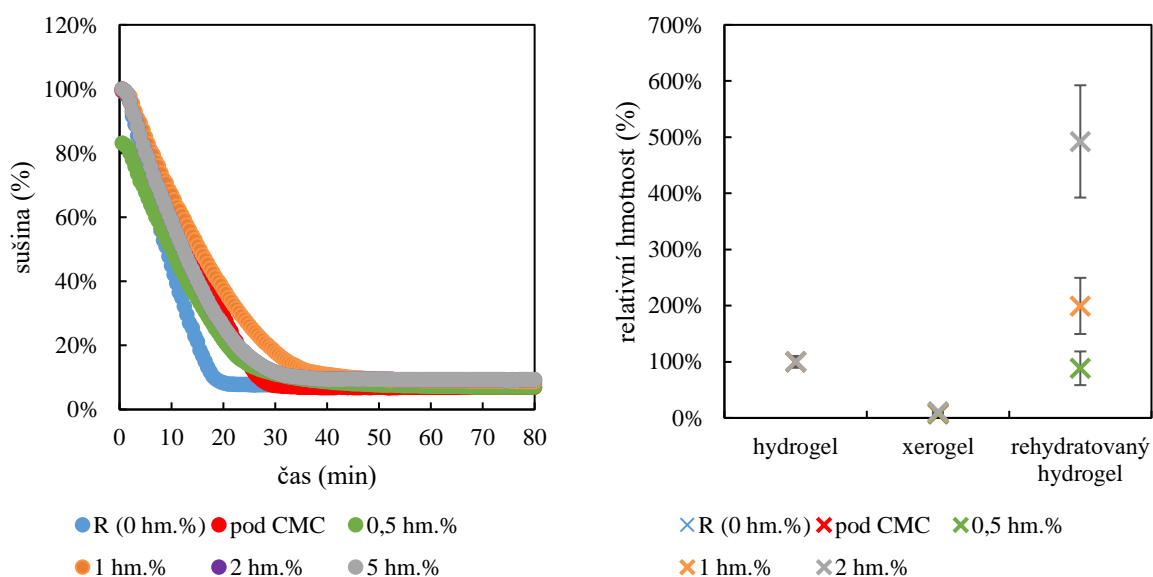
6.2.5.2 Aniontový tenzid – SDS

Stejně jako tomu bylo u kladně nabitého CTAB, tak ani záporně nabitý SDS nemělo výrazný vliv na průběh sušení agarózové matrice, což svědčilo o neutralitě a pevnosti agarózové sítě. Stejně tak i doba do úplného vysoušení se nezměnila a k vysoušení došlo zhruba po 65 minutách. Micelární struktury ovšem hrály roli při opětovné rehydrataci agarózových hydrogelů. Jak je možné vidět z obrázku (Obrázek 64), tak vzorky bez tenzidových micel (referenční a pod CMC) byly schopny přijmout nejméně vody a se vznikem micel docházelo k reabsorpci většího množství vody. Vyšší koncentrace SDS (2 a 5 hm.%) vedly až k šestinásobnému zvětšení hmotnosti [201].



Obrázek 64: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přidavky záporně nabitého tenzidu SDS zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované SDS (vpravo)

Na vysoušení želatinové matrice mělo SDS obdobný vliv jako CTAB. Přidavky SDS silněji udržovaly vodu (oproti referenčnímu vzorku) uvnitř hydrogelu. Jde ovšem pozorovat, že vysoušení bylo ovlivněno pouze přidavky SDS, nikoliv tvorbou micel.



Obrázek 65: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přidavky záporně nabitého tenzidu SDS zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované SDS (vpravo)

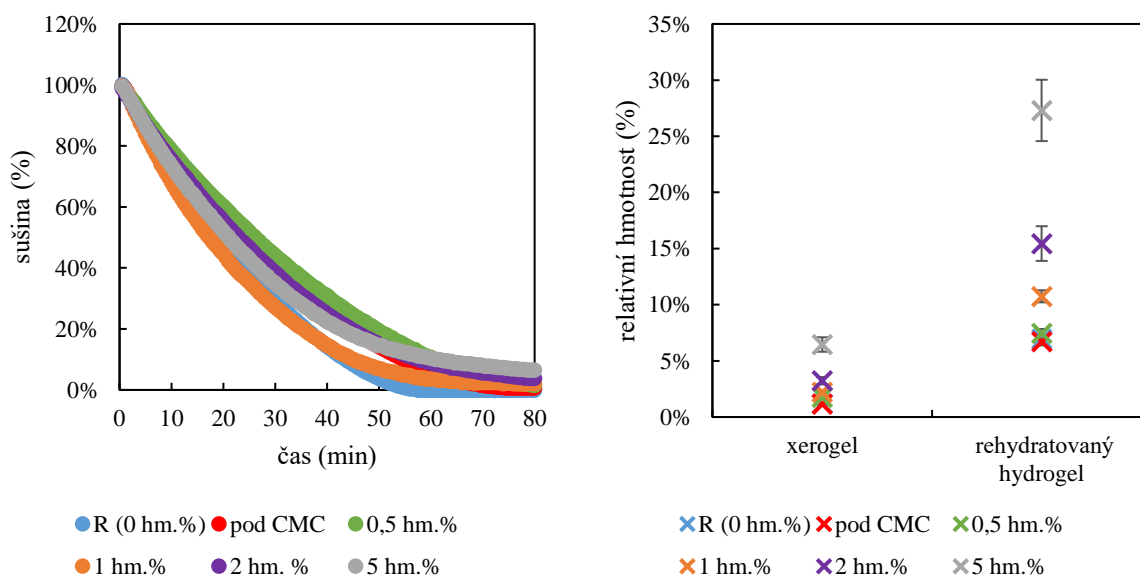
Rehydratace SDS-želatinových vzorků byla komplikovanější. Vzorky pod CMC a při nejvyšší koncentraci SDS (5 hm.%) nebyly při rehydrataci stabilní a rozpadly se. Ostatní vzorky byly schopny částečné rehydratace, jak je možné vidět z obrázku (Obrázek 65), tak vyšší koncentrace SDS podporovaly absorpci vody. To lze shrnout tak, že systém SDS-želatina má spodní a vrchní hraniční hodnoty přidavku SDS, při kterých dojde ke vzniku micel, které

podporují gelovou strukturu. Spodní hranice byla 0,5 hm.% SDS, při které došlo ke vzniku dostatečného množství micel k tomu, aby byla hydrogelová struktura zachována. Vrchní hodnota byla 2 hm.% SDS, ve které bylo vytvořeno tolik micel, že to výrazně podporovalo gelové absorpční vlastnosti, ale systém ještě nenyl přesycen na tolik, že by došlo k rozpadu gelu.

6.2.5.3 Neionogenní tenzid – Triton X-100

U agarózových hydrogelů po přidavku neionogenního tenzidu Tritonu X-100 nebylo očekáváno, že by došlo k zásadní změně během průběhu vysoušení hydrogelu. To bylo pomocí experimentů s analyzátozem vlhkosti a sušárnou potvrzeno (Obrázek 66). Výsledky byly velmi podobné experimentům provedených na agarózových hydrogelech s přidavky CTAB a SDS.

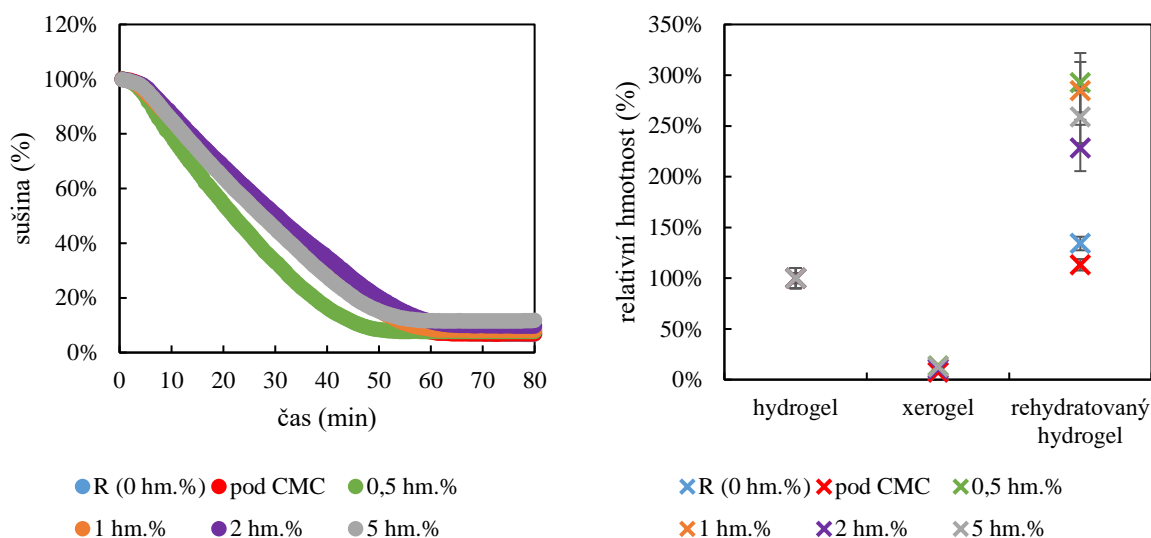
To stejné platilo i pro rehydratační experimenty. Přídavek tenzidu a tvorba micel podporovala rehydrataci hydrogelových systémů. Výrazné zlepšení rehydratačních vlastností bylo vidět až při přidavku 1 hm.% tenzidu, kdy byl v hydrogelovém systému dostatek micelárních struktur pro podporu rehydratace [204]. Se zvyšující koncentrací Tritonu X-100 a s tím i množstvím micel, se zvyšovaly i rehydratační schopnosti až k rehydrataci o 25 %, která byla pozorovatelná pro vzorek s nejvyšší koncentrací Tritonu X-100 (5 hm.%).



Obrázek 66: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přidavky neiontového tenzidu Tritonu X-100 zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované Tritonem X-100 (vpravo)

V případě želatinových hydrogelů (Obrázek 67) s přidavky Tritonu X-100 nedošlo na rozdíl od CTAB a SDS k žádnému vlivu micelárních struktur na průběh sušení a v rámci chyby byl průběh sušení všech vzorků stejný.

Rehydratace xerogelových vzorků se nesla ve stejném duchu, a tedy že přidavky nad CMC podporovaly opětovný příjem vody. Modifikace tímto tenzidem nepřinesla rozdíly mezi jednotlivými vzorky nad CMC a všechny hydrogely absorbovaly podobné množství vody.



Obrázek 67: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přidavky neiontového tenzidu Tritonu X-100 zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované Tritonem X-100 (vpravo)

6.2.6 Difúze hydrogelů modifikovaných tenzidy

Micely nepomáhají jen s mechanickými vlastnostmi hydrogelových systémů, ale také se zvýšením rozpustnosti špatně rozpustných léčiv a hydrofobních organických sloučenin [205]. Pro studium transportních vlastností fyzikálně síťovaných hydrogelových systémů ovlivněných tenzidovými micelárními strukturami byla využita barviva, která se mezi sebou lišila v náboji, molekulové hmotnosti a absorpčním maximu. Konkrétně se jednalo o kladně nabitou methylenovou modř, záporně nabitý eosin B a neutrálně vystupující riboflavin. Jedná se o ve vodě rozpustné látky, které se využívají v řadě průmyslových odvětvích, ale hlavně našly uplatnění ve farmacii a medicíně. To je činí jedinečnými látkami pro studium transportních vlastností v systémech a materiálech s potenciálním medicínským uplatněním, přesněji s materiály přicházejícími do styku s lidským tělem. Tato barviva, která se liší v náboji, jsou ideálními modelovými látkami (modelovými léčivy) pro studium modifikovaných hydrogelových materiálů s medicínským aplikačním potenciálem.

Methylenová modř (MM) je běžně využívané léčivo, původně syntetizované jako textilní barvivo v roce 1876 [206]. Jeho malá molekulová hmotnost umožňuje rychlé dodání MM do tkání. Lze jej redukovat na leukomethylenovu modř (leukoMM), a proto jej lze použít i jako antioxidant. Tato látka byla vůbec prvním plně syntetickým léčivem, které bylo využito v medicíně. V roce 1891 bylo využito pro léčbu malárie, a i dnes se v některých případech stále využívá [207–209]. Kromě léčiva na malárii, našlo MM řadu uplatnění v rámci medicínského výzkumu, ale také jako barvicí činidlo [210].

Eosin B, stejně jako MM, našel své uplatnění v boji s malárií. Pomocí molekulárního dokování, které predikuje preferovanou orientaci jedné molekuly na druhou, byl eosin B identifikován jako potenciální antiprotozoální léčivo [211]. Jeho citlivost byla studována *in vitro* na apikomplexních parazitech, což dokázalo, že eosin B je vysoce selektivní, silný inhibitor různých malarických kmenů odolných vůči lékům [212]. Nejčastěji se ovšem používá

jako kontrastní barvivo k hematoxylinu. Toto barvení je jednou z nejčastějších technik v histologii [213].

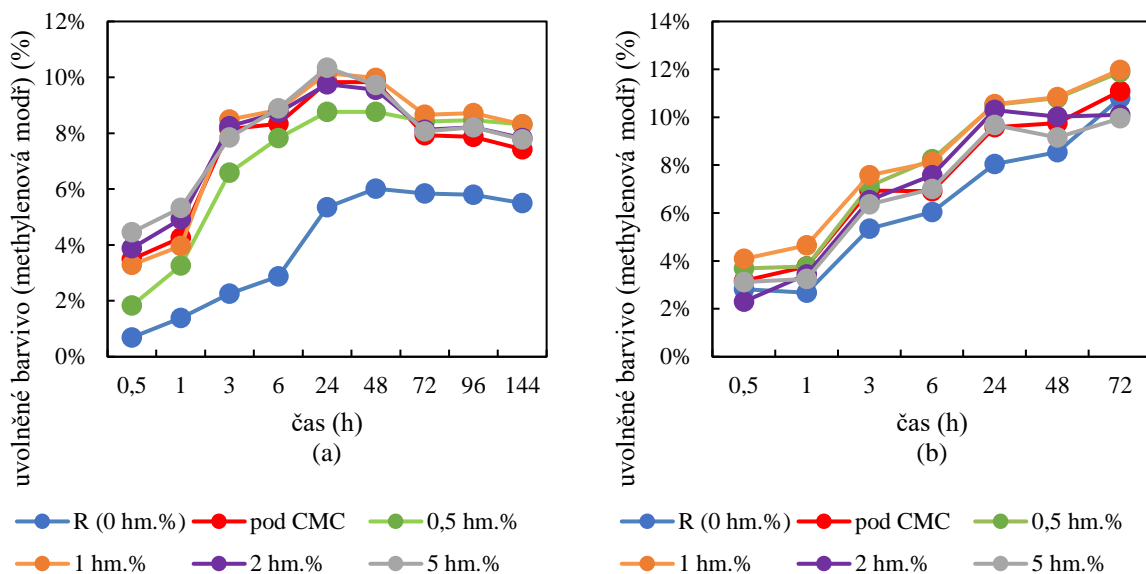
Riboflavin, taktéž znám jako vitamín B₂, je nezbytnou mikroživinou pro lidské tělo se širokou škálou fyziologických funkcí a musí být přijímán exogenně z potravin nebo doplňků. Světovou zdravotnickou organizací (WHO) byl zařazen mezi šest hlavních ukazatelů pro hodnocení lidského růstu, vývoje a nutričního stavu. Řada studií naznačila hlavní roli riboflavinu v prevenci a léčbě různých onemocnění [214].

Studovanými tenzidy byly, stejně jako barviva, tři zástupci s různým nábojem. Jednalo se o kladně nabitý CTAB, záporně nabitý SDS a bez nábojový Triton X-100. Tyto tenzidy byly přidávány do fyzikálně síťovaných hydrogelů (1% agaróza a 8% želatina). Tenzidy byly studovány v několika různých koncentracích (pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%) a vždy porovnávány s referenčním vzorkem (R), ve kterém se nevyskytoval žádný tenzid.

6.2.6.1 *Methylenová modř*

Průběh uvolňování kladně nabitého barviva z agarózových a želatinových hydrogelů, které byly modifikovány přísadkou CTAB, byl studován v průběhu několika desítek hodin (Obrázek 68) pomocí UV/Vis spektrofotometrie. Přísadky CTAB do agarózového hydrogelu podpořily uvolňování barviva, které zrychlilo uvolňování a zvětšilo množství barviva v roztoku mimo gel. Jelikož byl modifikátor i modelové léčivo stejně nabitý, tak tento nárůst množství uvolněného barviva byl spojen s nábojovou interakcí, kdy kladně nabitý CTAB nepodporovalo ukládání barviva uvnitř gelu ani do svých micelárních systémů. To bylo podpořeno i tím, že množství barviva nebylo odlišné ani pro vzorek s CTAB koncentrací pod CMC, kdy nedošlo k tvorbě micelárních systémů, a i přes minimální množství CTAB uvnitř gelu, došlo k vypuzení stejného množství barviva jako pro vzorky, které v sobě micelární systémy měly. Uvolňování barviva bylo možné pozorovat 48 hodin, poté docházelo k ustanovení rovnováhy. Průběh a rychlost uvolňování byl téměř totožný s referenčním vzorkem, rozdílné bylo pouze množství. Přísadkou tohoto tenzidu ke stejně nabitému modelovému léčivu jsme tedy byli schopni zrychlit a zvýšit množství uvolněného barviva [205].

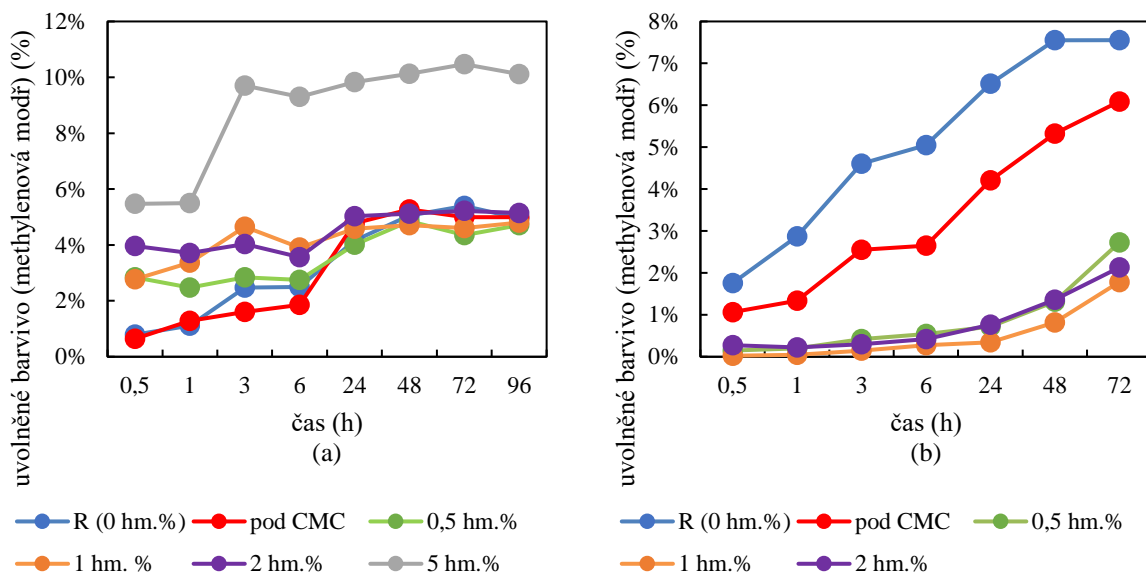
Transportní vlastnosti methylenové modři pro želatinový hydrogelový systém s přísadkou tenzidů byly ovlivněny interakcí CTAB s želatinou. To popsal již **Saxena a spol.** [200] ve své studii, kde dokázal, že v tomto systému nad CMC koexistují komplexy želatina-CTAB s volnými micelami. To je důvod proč v rámci uvolňovacích experimentů nebylo možné najít rozdíly mezi jednotlivými hydrogely nezávisle na množství CTAB uvnitř systému. Hydrogely bez CTAB, pod CMC i nad CMC vykazovaly stejný průběh uvolňování, tak i množství uvolněného barviva v okolí hydrogelu. To bylo způsobeno právě interakcí želatina-CTAB, která docílila toho, že nedocházelo k odpuzování kladně nabitého barviva. Koncentrace CTAB neměla na tento systém za přítomnosti kladně nabitého modelu barviva vliv a uvolňování probíhalo zcela totožně jako tomu bylo u referenčního vzorku. To z tohoto modifikátoru činí ideálního aplikačního zástupce při potřebě zachovat stejné uvolňovací vlastnosti, ale nutnosti ovlivnění jiných vlastností než transportních (např. mechanických).



Obrázek 68: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

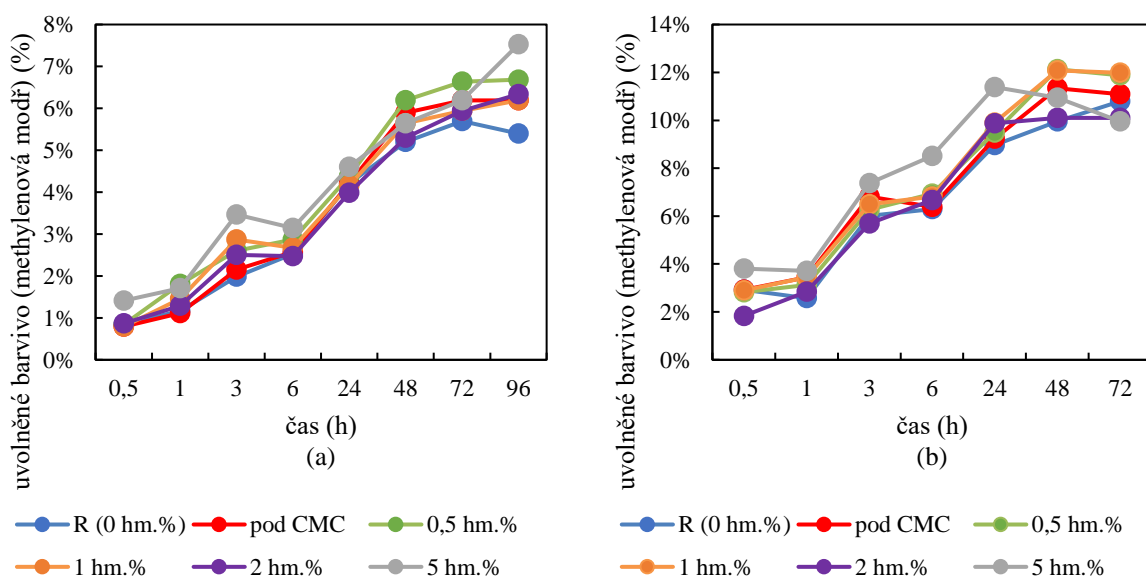
Druhým studovaným modifikátorem byl záporně nabitý tenzid SDS. Vliv tohoto tenzidu byl sledován při uvolňovacích experimentech methylenové modři (Obrázek 69). Z výsledků tohoto experimentu pro agarózové hydrogely je zřejmé, že průběh uvolňování byl velmi podobný pro všechny vzorky. Rozdíly šlo ovšem nalézt v množství uvolněného barviva. Ihned si lze povšimnout, že množství SDS uvnitř hydrogelu mělo vliv na rychlost a množství uvolněného barviva. Vzorky bez SDS a pod jeho CMC, vykazovaly nejpomalejší uvolňování a rychlost uvolňování se zvyšovala s rostoucí koncentrací SDS. Mezi 6 a 24 hodinami došlo ke zpomalení uvolňování a všechny hydrogely byly v podobné pozici, co se týče množství uvolněného barviva. Jediným rozdílem ovšem byl vzorek s nejvyšším množstvím SDS (5 hm.%), který uvolňoval výrazně více barviva od počátku experimentu a taktéž i po hraniční časové hodnotě 6 hodin. To bylo nejspíše způsobeno množstvím micelárních struktur, které zabíraly uvnitř hydrogelu místo a vytlačovaly barvivo ven z hydrogelu.

Opačný průběh byl pozorovatelný pro želatinový hydrogelový systém s přísadkou SDS. Rychlost a množství uvolněného barviva bylo výrazně vyšší pro vzorek bez SDS a pro vzorek, který neměl dostatečné množství SDS pro vznik micelárních systémů. Rozdíly bylo možné ovšem pozorovat i mezi těmito dvěma vzorky, kde referenční vzorek měl nejrychlejší kinetiku uvolňování, a i byl schopen uvolnit nejvíce barviva. U vzorků, ve kterých se vyskytoval SDS modifikátor, tak došlo k interakci SDS-želatina. Tato interakce ve spojení s tvorbou volných micelárních systémů do sebe ukládala opačně nabitě barvivo, které poté nebylo téměř vůbec uvolněno do prostředí mimo hydrogel. Jak bylo zmíněno výše, tak jediný vzorek s SDS, který byl schopen uvolňovat MM ve větším množství, byl vzorek bez micelárních systémů, kde jediné zpomalení uvolňování je způsobeno pouze nábojovou interakcí mezi maticí a tenzidem. Také je třeba zmínit to, co bylo již v literatuře publikováno [199] a také potvrzeno v této práci (kapitola 6.2), že SDS v želatinových gelech výrazně ovlivňuje jeho mechanické vlastnosti a vyšší koncentrace SDS snižují gelovou pevnost a mechanické vlastnosti, což nevedlo ke tvorbě gelu u vzorku s nejvyšší koncentrací SDS (5 hm.%).



Obrázek 69: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Třetím studovaným tenzidem byl nenabitý Triton X-100. Jelikož se jedná o bez nábojový tenzid, tak se neočekávala interakce jak s matricí, tak ani s uvolňovaným kladně nabitým barvivem. To bylo dodrženo a uvolňovací experimenty nevykazovaly rozdíly mezi jednotlivými vzorky s různou koncentrací tenzidu ani s referenčním vzorkem, který neobsahoval žádné množství tenzidu, pro agarózové ani želatinové hydrogely (Obrázek 70). Jelikož nedocházelo k žádným interakcím, tak barvivo mělo možnost se libovolně a volně uvolňovat ven z hydrogelu. To podporuje i literatura [200], která u želatinových hydrogelů v systému želatina-Triton X-100 popisuje dominantní hydrofobní interakce.



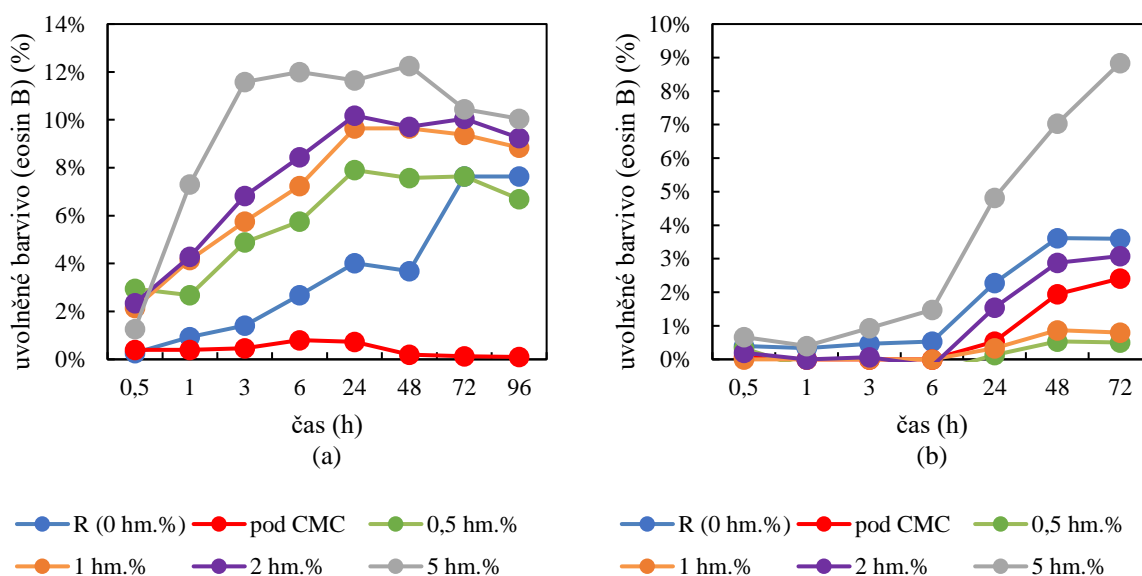
Obrázek 70: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

6.2.6.2 Eosin B

Druhým studovaným barvivem byl eosin B, který měl napodobovat modelové léčivo se záporným nábojem. Barvivo bylo studováno totožně jako byla MM, a to na třech různě nabitých tenzidech a dvou fyzikálně síťovaných hydrogelových maticích.

Vliv CTAB na fyzikálně síťované agarózové hydrogely a uvolňování záporně nabitého modelového léčiva byl podobný jako tomu bylo pro kladně nabitý model s jediným rozdílem, kterým byl vzorek s koncentrací CTAB pod CMC. Rychlost uvolňování i množství barviva byla úměrně s rostoucí koncentrací tenzidu zvětšována. Tvorba micel zamezovala ukládání barviva do hydrogelu a se zvětšujícím se množstvím micelárních struktur docházelo k vytlačování barviva z hydrogelu. Proto bylo možné pozorovat, sice velmi malé, ale vyskytující se, rozdíly v množství uvolněného barviva s rostoucí koncentrací tenzidu nad CMC. Jediným vzorkem, který nepotvrzoval tyto závěry byl vzorek s tenzidem vyskytující se v hodnotě pod CMC. Uvnitř tohoto hydrogelu nedocházelo ke tvorbě micelárních struktur a uvnitř hydrogelu se vyskytovaly pouze volné molekuly CTAB s kladným nábojem. Tyto molekuly tedy mohly interagovat s opačně nabitým barvivem a držet ho pevně uvnitř hydrogelu. Což je na obrázku (Obrázek 71a) zobrazeno jeho téměř nulovým zaznamenaným množstvím mimo hydrogel.

Modelové léčivo bylo uvnitř želatinového hydrogelového systému modifikovaného kladně nabitým CTAB pevně drženo. Podle výsledků bylo zřejmé, že docházelo k interakci přímo záporně nabitého eosinu B s želatinou, jelikož nezávisle na koncentraci či výskytu CTAB uvnitř hydrogelu, nedocházelo k téměř žádnému uvolnění barviva (Obrázek 71b). Mírnou změnu šlo pozorovat až pro nejvyšší koncentraci CTAB (5 hm.%), a to výrazněji až od 24. hodiny experimentu. To bylo nejspíše způsobeno množstvím tenzidu, které bylo již na daný systém příliš velké a s největší pravděpodobností docházelo k uvolnění barviva zároveň i s micelami tenzidu.

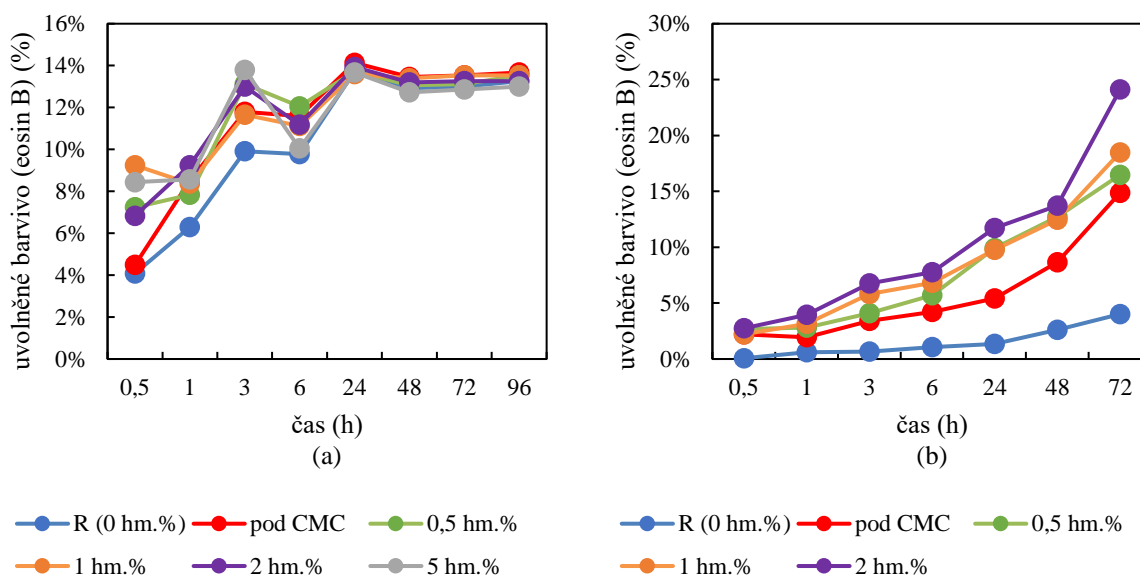


Obrázek 71: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

V případě agarózových hydrogelů, které byly modifikovány záporně nabitým tenzidem SDS (Obrázek 72a) se výsledky velmi podobaly výsledkům získaným pro agarózové hydrogely modifikované CTAB a uvolňování kladně nabitého barviva (Obrázek 68a). V tomto případě taktéž docházelo k nábojovému odpuzování mezi SDS a eosinem B. To bylo zobrazeno ve výsledcích tak, že na počátku experimentu docházelo k rychlejšímu a většímu množství uvolnění barviva ven z gelu. Rozdíly nebyly příliš velké ani mezi referenčním vzorkem bez tenzidu a s dalšími hydrogelovými systémy, kde se SDS vyskytovalo.

U želatinových hydrogelů tomu bylo jinak. U vzorků, které měly koncentraci SDS nad CMC, tak docházelo k vytlačování barviva ven z gelu (0,5; 1 a 2 hm.%). U vzorků, u kterých nedocházelo ke tvorbě micelárních struktur byla primární interakce želatina-barvivo, která držela barvivo uvnitř hydrogelu. U vzorku s SDS pod CMC docházelo také k odpuzování volných molekul SDS eosinem B, ovšem kvůli menšímu množství SDS nebyla rychlost uvolňování tak výrazná jako u ostatních vzorků. Stejně jako v předešlých případech, tak i u těchto vzorků při kombinaci SDS a želatiny nedošlo ke gelaci vzorku s nejvyšší koncentrací SDS (5 hm.%).

Pozorovatelné rozdíly mezi agarózovou a želatinovou maticí (Obrázek 72b), i přes to, že se jednalo o stejný typ síťování s totožným nábojem, byly způsobeny hustotou sítě (rozdíly mezi hustotami sítí byly diskutovány v kapitole 0). Želatinové hydrogely byly schopny mnohem vyšších koncentrací, které by síť zahustily a taktéž ovlivnily vliv micel na strukturu. S myšlenkou aplikačního potenciálu byla ovšem želatinová koncentrace nižší, aby došlo k bližšímu přiblížení k přírodní tkáni v podobě extracelulární matrice. Stejně modifikátory se stejnými modelovými léčivy, jaké byly použity pro agarózové hydrogely, se tak mohly projevat uvnitř želatinových hydrogelů odlišně.

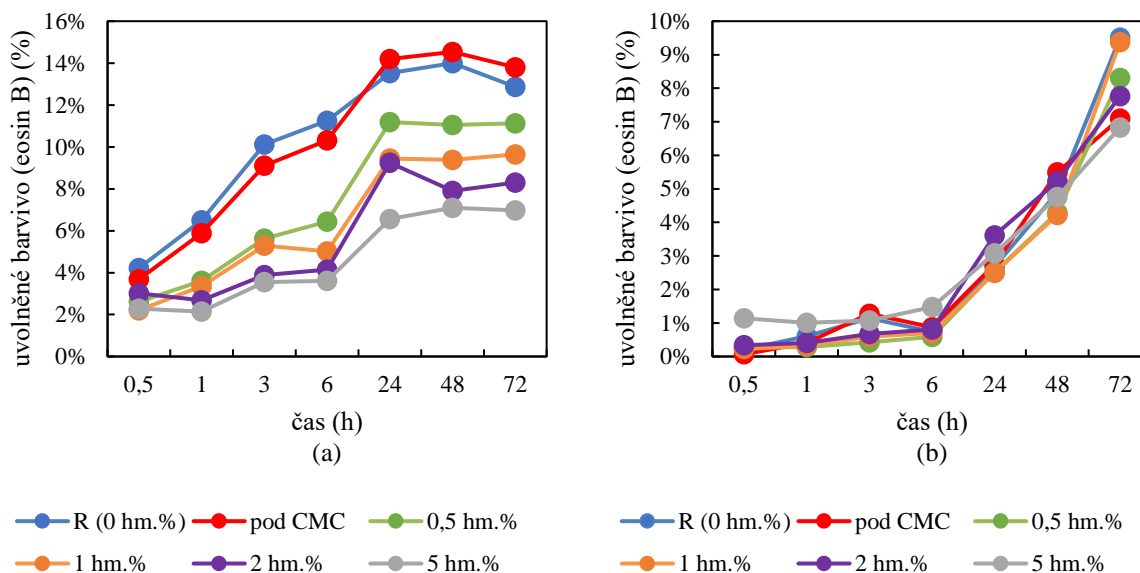


Obrázek 72: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

Agarózové hydrogely ovlivněny přidavky Tritonu X-100 znázorňovaly vliv micelárních struktur na uvolňování záporně nabitého barviva eosinu B (Obrázek 73a). Barvivo bylo uvnitř micelárních struktur drženo pevněji, což vedlo k jeho pomalejšímu uvolňování. To bylo

popsáno na obrázku tak, že vzorky nad CMC (0,5; 1; 2 a 5 hm.%) vykazovaly nižší hodnoty uvolněného barviva, než tomu bylo u referenčního vzorku a vzorku s Tritonem X-100 pod hodnotou CMC.

Stejně jako tomu bylo v případě předešlých experimentů s MM, tak z důvodů hustoty sítě želatinových hydrogelů a nepřítomnosti nábojových interakcí, tak v uvolňování záporně nabitého barviva z Tritonem X-100 modifikovaného želatinového systému, nebyly pozorovatelné rozdíly (Obrázek 73b).



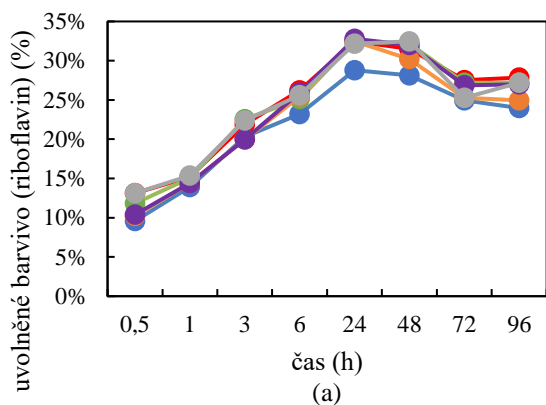
Obrázek 73: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

6.2.6.3 Riboflavin

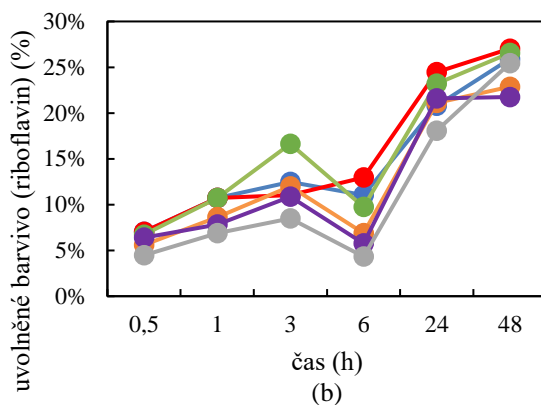
V případě, kdy barvivo neneslo žádný náboj (riboflavin), tak se neočekávalo žádné zpomalení ani zrychlení uvolňování. To platilo pro všechny studované tenzidy (CTAB, SDS a Triton X-100) i pro obě studované hydrogelové matrice (agaróza a želatina). Všechny agarózové hydrogely byly schopné uvolnit zhruba 30% barviva (Obrázek 74). Po této hodnotě se ustanovila rovnováha a nebylo uvolněno další barvivo. Těto hodnoty dosáhly všechny agarózové hydrogely nezávisle na tenzidu mezi 24. a 48. hodinou.

Želatinové hydrogely měly taktéž všechny stejný průběh uvolňování barviva nezávisle na druhu tenzidu. U všech byl pozorovatelný lineární nárůst uvolněného barviva z hydrogelu. Jediný zaznamatelný rozdíl byl u bez nábojového tenzidu (Obrázek 74), kde vzorek s nejvyšším množstvím tenzidu (5 hm.%) výrazně podporoval uvolňování barviva.

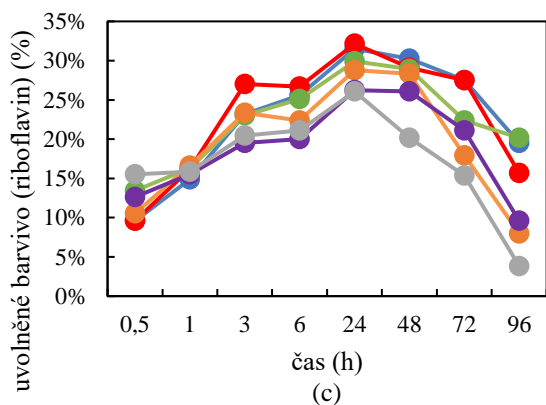
To, z hydrogelů modifikovaných tímto neionogenním tenzidem, činilo ideální modifikátory v případě využití jiných než transportních vlastností, v případě, kdy přídatky tenzidu a výskyt micelárních struktur, měl za následek modifikaci např. mechanických (kapitoly 6.2.1, 6.2.2, 6.2.3 a 6.2.4) nebo hydratačních (kapitola 6.2.5) vlastností.



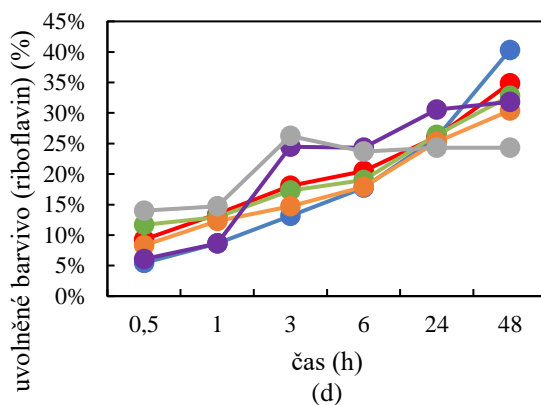
— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%



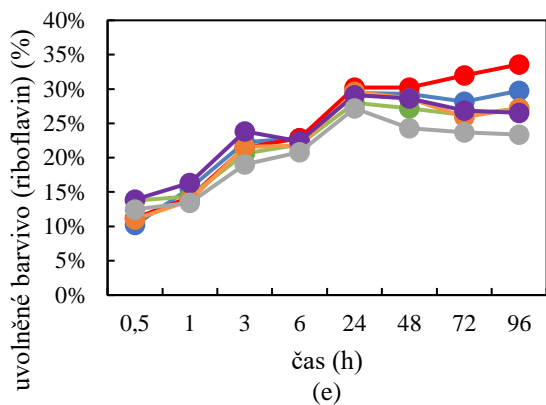
— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%



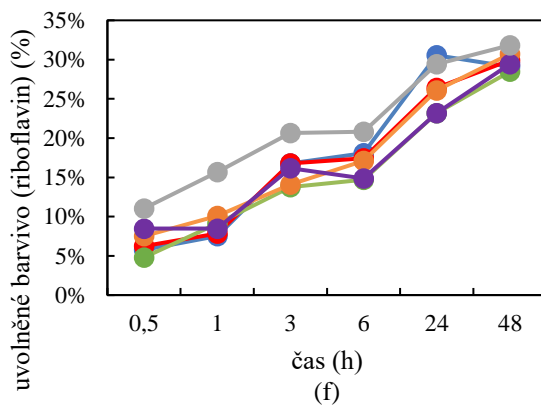
— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%



— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%



— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%

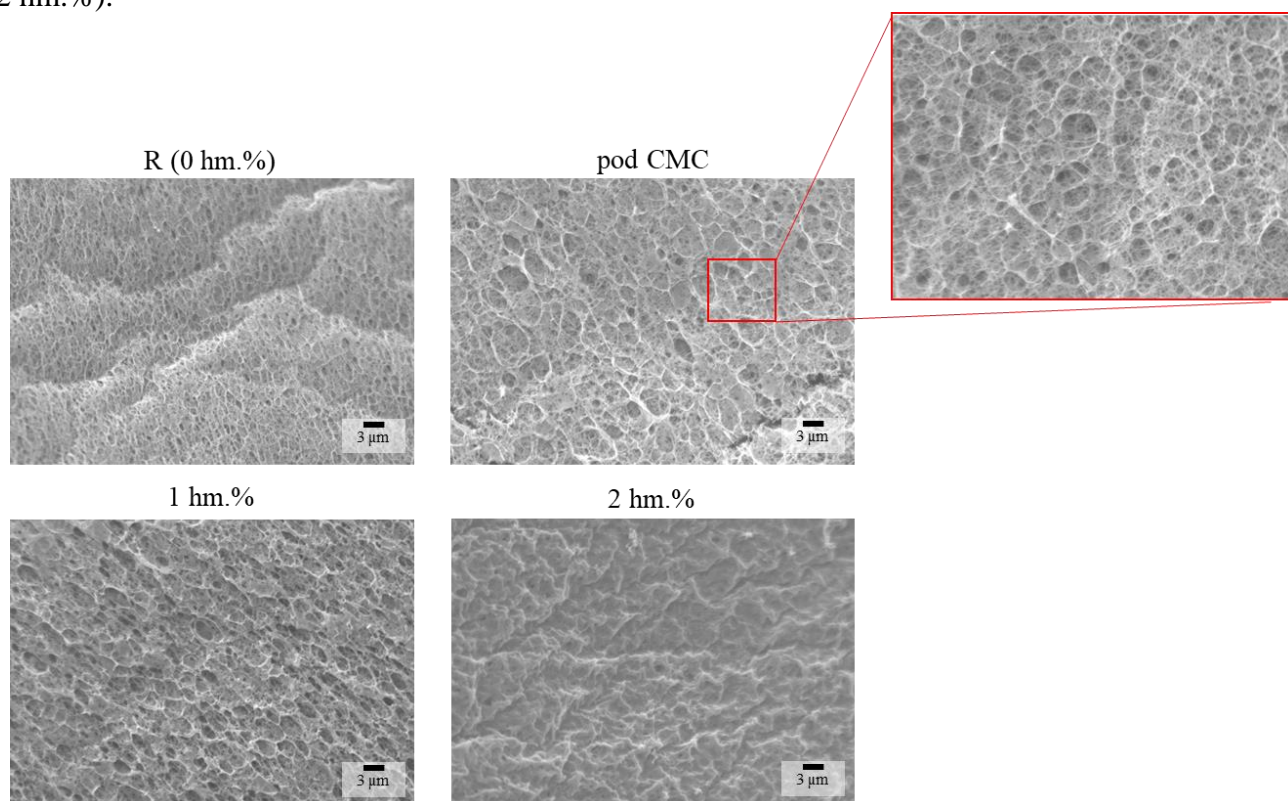


— R (0 hm.%) — pod CMC — 0,5 hm.%
 — 1 hm.% — 2 hm.% — 5 hm.%

Obrázek 74: Difúze uvolňovacích experimentů riboflavinu z agarózových (a, c, e) a želatinových (b, d, f) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (a, b), SDS (c, d) a Tritonu X-100 (e, f) (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)

6.2.7 Morfologická charakterizace

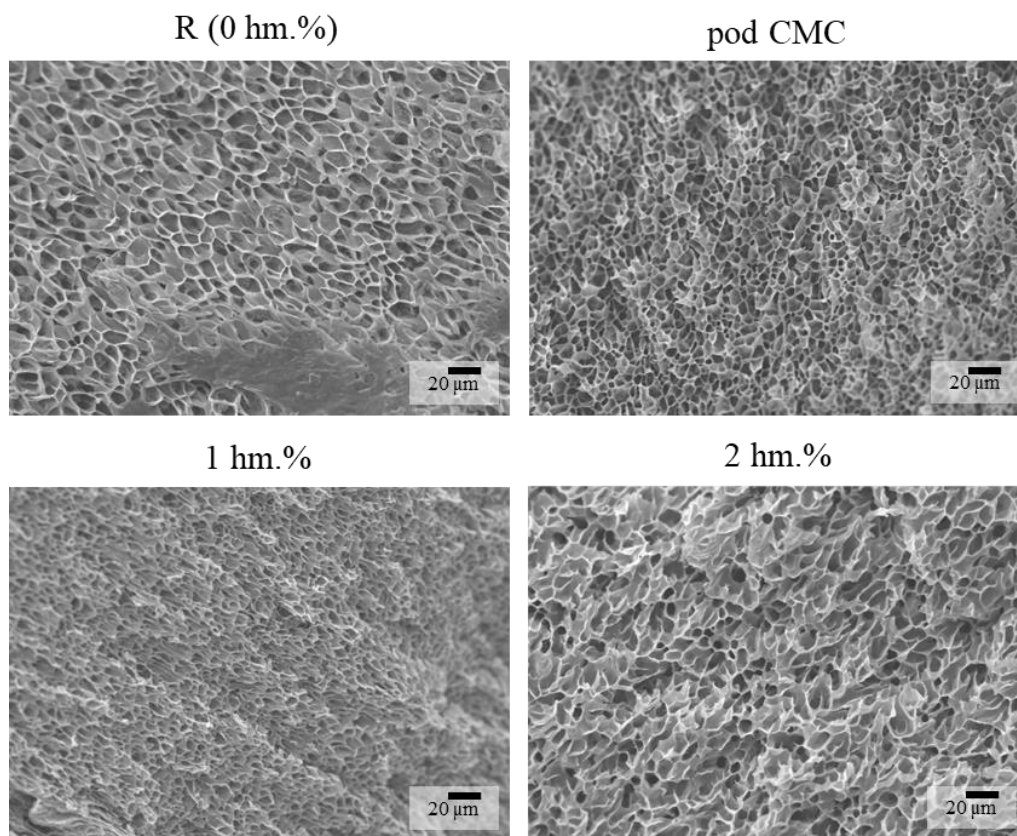
Studium fyzikálně síťovaných hydrogelových systémů modifikovaných různými tensidy bylo také rozšířeno o morfologickou charakterizaci. Z předešlých experimentů (kapitola 6.1.6) byl vybrán vhodný postup přípravy vzorků, který redukoval vznik artefaktů a dovoľoval pozorovat strukturu blízkou nativní (nabotnalé) formě. Z toho důvodu byly hydrogely šokově mrazeny tekutým dusíkem, což omezilo růst klasických krystalů ledu a tím zamezovalo kolapsu struktury vlivem těchto ledových krystalů. Po zmrazení byly vzorky okamžitě lyofilizovány. Vysušené vzorky bylo možné po pokovení pozorovat v dále neupravovaném stavu. Pro každý ze tří tensidů byly vybrány čtyři koncentrace, které byly pomocí SEM pozorovány (0; pod CMC; 1 a 2 hm.%).



Obrázek 75: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přídávky CTAB zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×

Na první pohled se mohlo zdát, že CTAB se zvyšující koncentrací docházelo ke zvětšení velikosti pórů agarózové hydrogelové struktury (Obrázek 75). Ovšem při bližším studiu snímků získaných pro tyto hydrogely, bylo zřejmé, že vzorky s CTAB měly síť komplexnější a hustší [205]. To by potvrdzoval i výpočet hustoty sítě z frekvenčních testů pro tyto vzorky (Tabulka 27). Přídavky dalších látek do hydrogelové struktury také zvyšoval pravděpodobnost výskytu artefaktů, které ovlivňovaly strukturu. Tvorba artefaktů byla nežádoucí, ovšem při dodržení podmínek přípravy a pozorování se očekávalo, že k tvorbě artefaktů docházelo ve stejné míře pro všechny vzorky, tudíž rozdíly mezi jednotlivými vzorky pozorovanými u lyofilizovaných gelů značily rozdíly i v původní struktuře. Kromě zmíněného rozdílu přídávky CTAB a referenčního vzorku bez CTAB se nezdál být vliv micel na tuto strukturu nikterak významný. Rozdíly bylo opět možné pozorovat až u vzorků s vyšší tensidovou koncentrací (2 hm.%), při

keré nebylo možné póry pozorovat a struktura se jevila slepená dohromady. To mohlo být způsobeno vlivem nízkých teplot tekutého dusíku, které způsobily tvorbu CTAB krystalů.

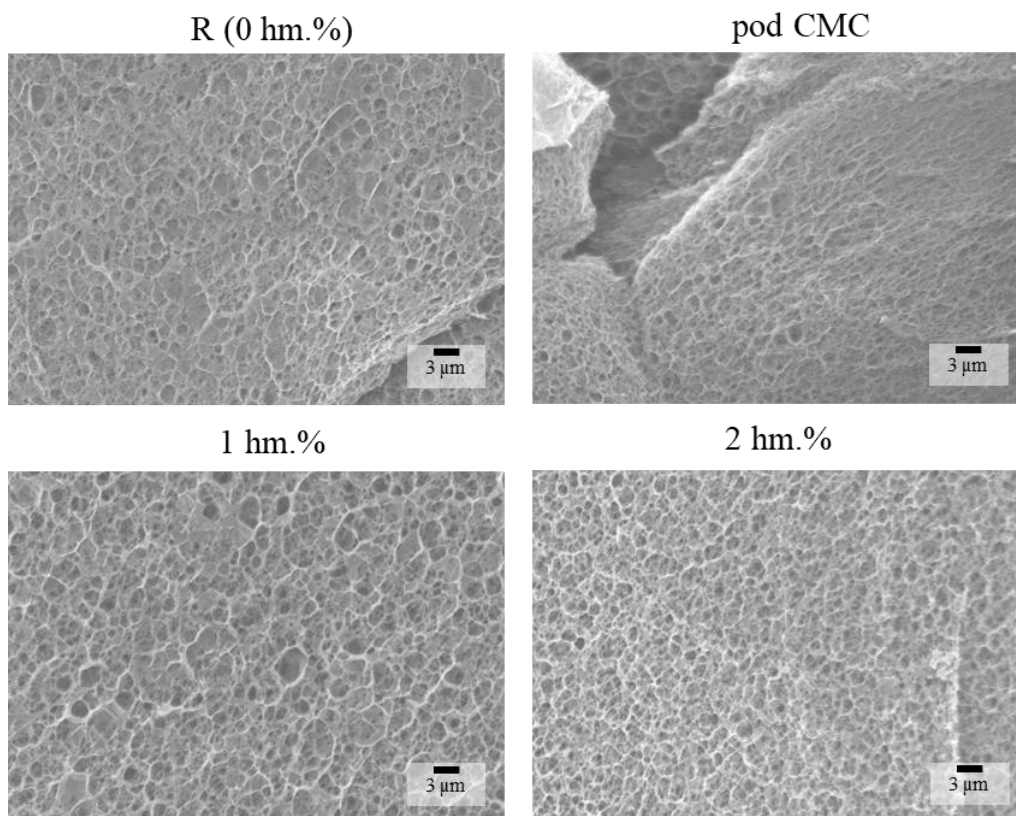


Obrázek 76: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přídávky CTAB zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×

Snímky SEM pro želatinové hydrogely s přídávky CTAB lze pozorovat výše (Obrázek 76). Rozdíly mezi jednotlivými vzorky byly na první pohled minimální. Velikost pórů se jevila být nezávislá na množství přidaného kladně nabitého tenzidu. To by bylo možné blíže analyzovat pomocí obrazové analýzy, která by ovšem byla u těchto hydrogelů obtížná. Bylo by třeba pracovat s hladkým povrchem, ze kterého nic nevyčnívá. To by vyžadovalo úpravu postupu přípravy a také úpravu zlyofilizovaných vzorků, což by ovlivnilo i samotné snímky ze SEM a takový postup by bylo potřeba nejprve optimalizovat. Nerovnosti způsobují rozostřená místa na snímcích, které poté nelze analyzovat. Zároveň zde také hraje významnou roli natočení vzorku, póry natočené jiným směrem by zkreslovaly výsledky. Hustota sítě byla taktéž neovlivněna, což mohlo být dáno samou podstatou želatinových hydrogelů a jejich koncentrací, která byla na možnosti této sítě nízká. To potvrzovaly také výsledky z frekvenčních testů, u kterých hustota sítě byla počítána a ani tam se neobjevovaly statisticky významné rozdíly.

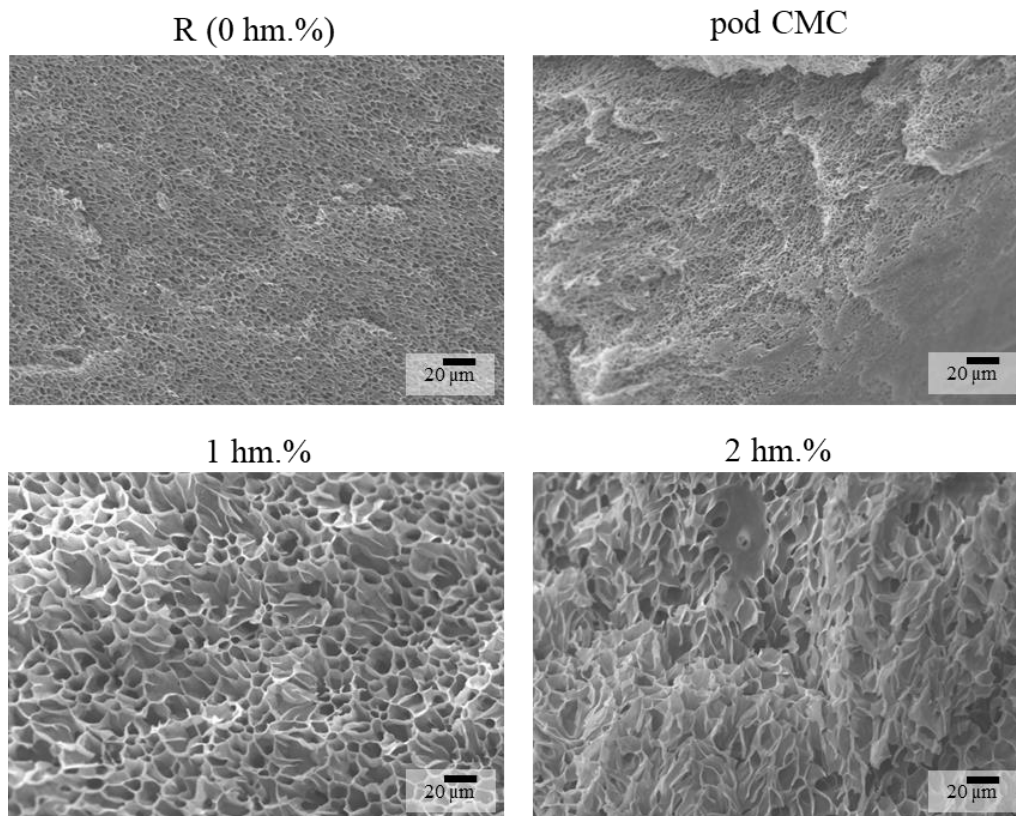
Co se týče přídávky SDS do agarózové hydrogelové sítě (Obrázek 77), tak na rozdíl od CTAB přídávky nedocházelo k výraznému ovlivnění morfologie a všechny vzorky si byly velmi podobné. Záporné SDS by nemělo stejně jako kladné CTAB s agarózou, která vystupuje jako neutrální, nijak interagovat. Z toho důvodu bylo nejpravděpodobnější, že hydrogelová struktura byla v případě CTAB ovlivněna právě vznikem krystalů při nižších teplotách, anebo jeho vyšší molární hmotností. Strukturální podobnost všech vzorků podporovaly taktéž výpočty

hustoty sítě z frekvenčních testů, podle kterých měly všechny vzorky velmi podobné hodnoty hustoty sítě (Tabulka 28).



Obrázek 77: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přídávky SDS zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×

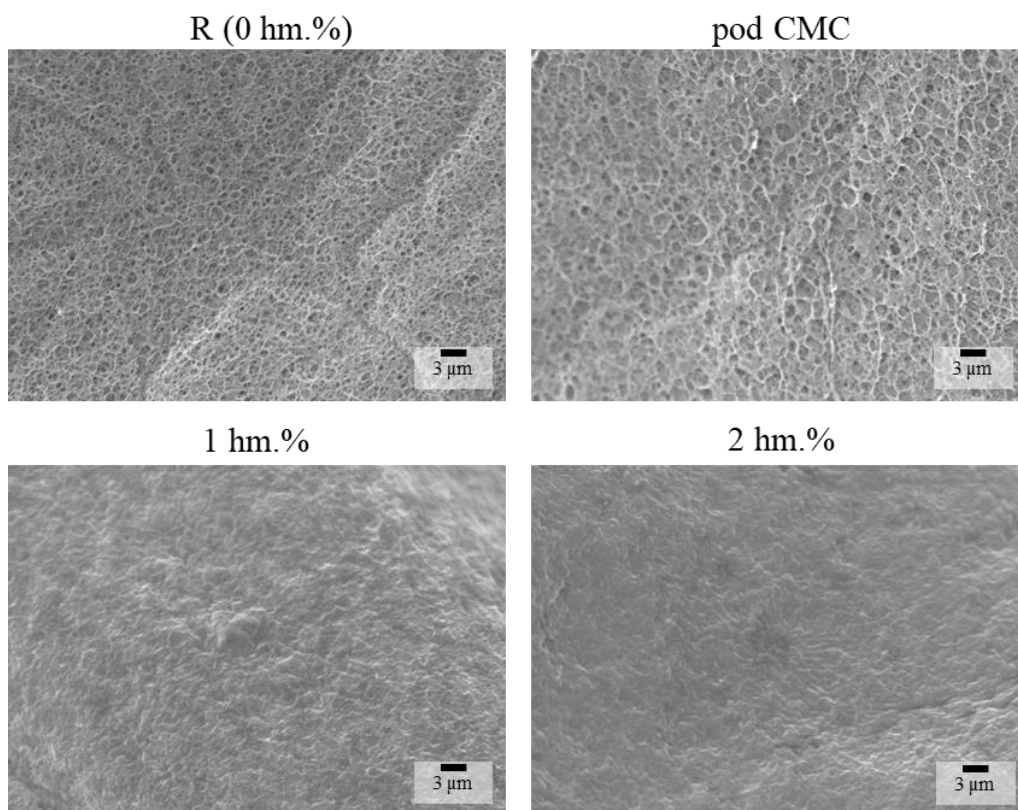
Naopak u želatinových hydrogelů (Obrázek 78), s přídávky SDS, byl zřejmý vliv tvorby micel, protože pro referenční vzorek a vzorek s koncentrací pod CMC byly póry jednoznačně menší, než tomu bylo u hydrogelů s koncentrací nad CMC (1 a 2 hm.%). Vliv SDS na mechanické vlastnosti želatinových hydrogelů byl již dříve popsán a vysvětluje i vliv na tuto hydrogelovou strukturu.



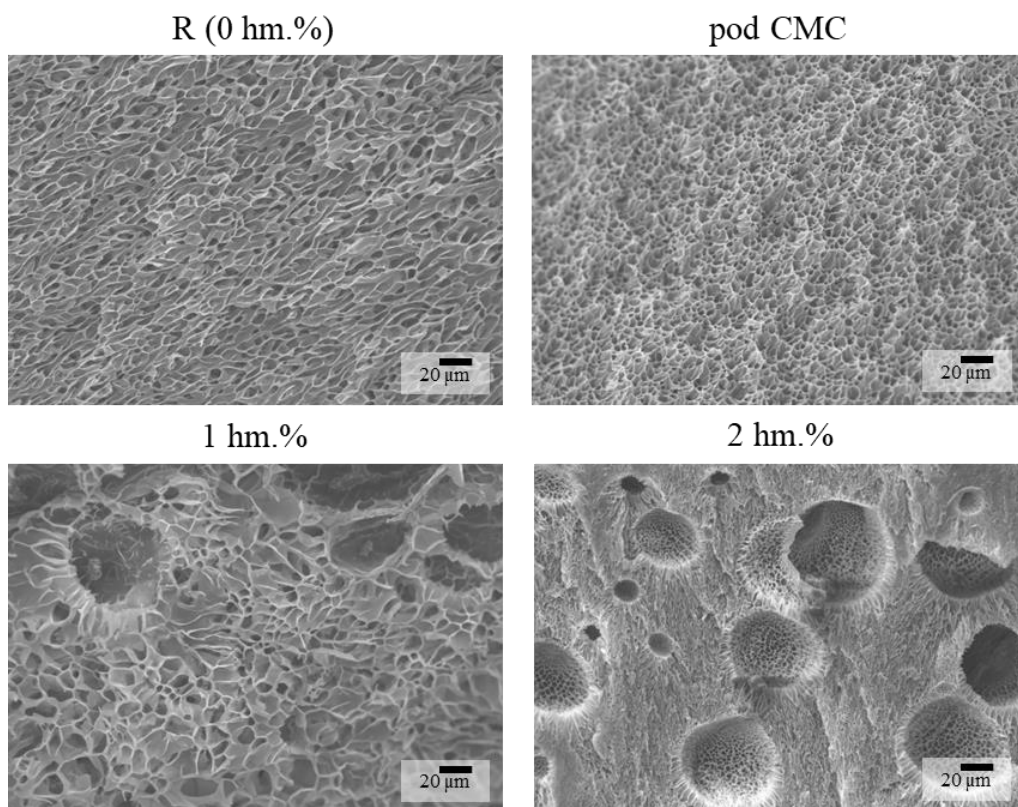
Obrázek 78: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přídávky SDS zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×

Posledním studovaným tenzidem, který byl přidáván do agarózových a želatinových hydrogelových struktur byl neionogenní Triton X-100. V případě agarózových hydrogelů (Obrázek 79) měl za následek ovlivnění hydrogelové struktury u vzorků nad CMC. Referenční vzorek a vzorek s koncentrací tohoto tenzidu pod CMC měl viditelné póry se zdánlivě stejnou velikostí. Změna nastala u vzorků nad CMC (1 a 2 hm.%), které neměly viditelnou strukturu a hydrogel se zdál slepený a povrch hladký. Triton X-100 má ještě vyšší molární hmotnost než CTAB, který u vzorku s nejvyšší koncentrací vykazoval slepenou morfologii také. Z důvodu téměř dvojnásobné hmotnosti tohoto tenzidu mohlo jeho přidání vést ke zborcení struktury dříve než až při nejvyšší studované koncentraci.

Přidavky Tritonu X-100 do želatinové struktury (Obrázek 80) vedly, stejně jako u agarózových hydrogelů, k výrazným zásahům do struktury pro vzorky s tenzidem nad CMC. Vzorky s koncentrací, která nevedla ke vzniku micel (R a pod CMC), nevykazovaly mezi sebou rozdíly. U vzorku s 1 hm.% tenzidu se v pórovité struktuře začaly objevovat větší póry, které vznikly zakoncentrováním tenzidu na jednom místě. Tento jev byl ještě zesílen u vzorku s nejvyšší koncentrací tenzidu (2 hm.%). U něj byl pozorovatelný větší výskyt těchto jader, ve kterých bylo možné pozorovat další uniformní pórovitou strukturu.



Obrázek 79: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísadkami Tritonu X-100 zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×



Obrázek 80: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přísadkami Tritonu X-100 zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×

7 ZÁVĚR

Předložená dizertační práce se zabývá vlivem amfifilních látek na klíčové fyzikálně-chemické vlastnosti hydrogelových systémů. Jejich charakterizace byla opřena o reologickou charakterizaci viskoelastických vlastností, charakterizaci transportních vlastností pomocí uvolňovacích experimentů, a morfologickou charakterizaci rastrovací elektronovou mikroskopií. Mezi další podpůrné techniky patřily jednoduché vysoušecí a botnací experimenty, plynová sorpce nebo průtokové experimenty za využití difúzních cel.

Rešerše zohlednila aplikační potenciály materiálů vhodných pro hydrogelové matrice, a i samotné amfifilní látky schopné modifikovat hydrogelové vlastnosti, což vedlo k výběru hydrogelových matric a amfifilních modifikátorů. Po provedení úvodních experimentů byla zvolena řada různých materiálů k přípravě hydrogelů a také amfifilů pro jejich modifikaci. Jako hlavní modifikátor byl vybrán přírodní a člověku vlastní lecitin, který má také vhodné samouspořádací vlastnosti. Pro potvrzení a komplexnější charakterizaci bylo kromě lecitinu taktéž pracováno s klasickými tenzidy, které se hojně využívají v čistících prostředcích a člověku jsou při vyšších koncentracích toxické. Tenzidy byly vybrány tři různé, lišící se v molární hmotnosti, struktuře a hlavně náboji. Konkrétně se jednalo o kladné CTAB, záporné SDS a neionogenní Triton X-100. Hydrogelové matrice byly vybrány pod podmínkou biokompatibility a biodegradability. Nejhojněji bylo pracováno s fyzikálně síťovanými hydrogely, s agarózou a želatinou, ovšem pro potřeby porovnání byli vybráni zástupci i iontového síťování, alginát, a také chemického síťování, což zaštitila směs PVA1 s chitosanem.

Inspirace pro tuto práci byla čerpána v přírodě, přesněji u extracelulární matrice, která je hydrogely velmi často napodobována a její vlastnosti využívány. Nebylo záměrem ECM mimikovat, ale pouze se teoreticky inspirovat a její vlastnosti co nejjednodušeji přenést do hydrogelového systému. Z toho důvodu nebylo pracováno s lipozomy nebo jinými složitějšími systémy, a hydrogelové systémy v této práci byly modifikovány pouze přísadami amfifilních látek, které měly volnost ve své úpravě a samouspořádání.

Bylo dokázáno, že lecitin různě ovlivňuje hydrogelové systémy v závislosti na jejich síťování. Lecitin ovlivňoval nejen mechanické vlastnosti, ale taktéž transportní a morfologické. V tomto ohledu byly studovány hydrogely v nabotnalém stavu, ale také rehydratované hydrogely po vysušení. Vliv lecitinu byl výraznější u rehydratovaných vzorků. Vliv na mechanické vlastnosti byl zřejmý pro všechny typy síťování, ovšem nejvýraznější změny byly pozorovatelné u chemického síťování, což bylo spojeno s pevností sítě. Tyto závěry byly podpořeny SEM snímky, plynovou sorpcí a botnacími experimenty. Transportní vlastnosti studovány uvolňovacími experimenty dokázaly, že lecitin je schopen ovlivnit množství a dobu uvolňování modelového léčiva. Kromě lecitinu má na transportní vlastnosti největší vliv typ a náboj modelového léčiva.

U klasických tenzidů bylo pracováno pouze s fyzikálně síťovanými hydrogely, kterým měly tenzidy pomoci s nedokonalými mechanickými vlastnostmi. Množstvím různých reologických testů bylo potvrzeno, že tenzidové micelární struktury jsou schopny upravovat mechanické vlastnosti jen do určité míry. Ovlivnění není ve většině případů výrazné, nezávisle na typu a náboji tenzidu. Rozdílně tomu ovšem je u transportních vlastností, kde micelární vliv je

výrazný. Morfologie těchto systémů je taktéž ovlivněna jen do určité míry, což koreluje s výše zmíněným.

V rámci této práce, byla hojně využívána metoda SEM, se kterou byly studovány nejvhodnější typy úpravy vzorku pro pozorování. Byly pozorovány vzorky ve vysušeném xerogelovém stavu, ale i v hydrogelovém („nativním“) stavu, a to v řezu nebo na povrchu. Rozdíly mezi těmito přístupy byly diskutovány a pro konkrétní potřeby zhodnoceny.

Tato práce dokázala, že přidání amfifilů je možným přístupem k hydrogelové modifikaci. Za předpokladu využití těchto systémů jako prostředí pro živé tkáně, pro jehož využití mají tyto hydrogely předpoklady, by bylo potřeba provést stejné experimenty i s buňkami. Z této práce lze vyvozovat předpoklady, jak by ony experimenty mohly dopadnout, jelikož právě amfifily měly vliv buněk mimikovat, ale v případě živé tkáně není možné spoléhat jen na předpoklady. Jelikož jsou medicínské aplikace jedním z hlavních potenciálních aplikačních cílů, tak kromě testů s živými buňkami se jako zřejmý další krok jeví experimentální činnost za podmínek napodobující prostředí lidského těla jako je např. práce při teplotě 37 °C nebo ve fyziologickém roztoku místo deionizované vody.

Předložená práce slouží jako náhled do základního výzkumu hydrogelových systémů modifikovaných amfifilními látkami. Jedná se o úvodní kapitulu, na které je možné stavět a rozvést výzkum hydrogelů s amfifily. Zejména ve směru různých amfifilních materiálů v kombinaci s dalšími hydrogelovými matricemi a dalšími charakterizačními technikami, pro které v této práci nebyl prostor. Takových kombinací může být nekonečně mnoho. Závěrem by bylo dobré si z této práce přebrat, že modifikace hydrogelů nemusí být vždy prováděna složitě a za účelem okamžitého aplikačního využití, zvláště když v tomto základním výzkumu jsou stále místa, kterým plně nerozumíme a existuje prostor nejen pro rozvinutí základního výzkumu, ale rozhodně také aplikačních možností.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] JONES, Richard G. a Jaroslav KAHOVEC, c2009. *Compendium of polymer terminology and nomenclature: IUPAC recommendations 2008*. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 978-0-85404-491-7.
- [2] PARHI, Rabinarayan, 2017. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 7(4), 515-530. ISSN 2228-5881. Dostupné z: doi:10.15171/apb.2017.064.
- [3] YAMAUCHI, A, 2001. Gels: Introduction. *Gels Handbook*. Elsevier, 2001, 4-12. DOI: 10.1016/B978-012394690-4/50075-X. ISBN 978-0-12-394690-4.
- [4] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ, 2005. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0579-X.
- [5] POUCHLÝ, Julius, 2008. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [6] LARSON, Ronald G., 1999. *The Structure and Rheology of Complex Fluids*. New York: Oxford University Press. ISBN 01-951-2197-X.
- [7] VINCHHI, Preksha, Shruti U. RAWAL a Mayur M. PATEL, 2021. Biodegradable hydrogels. *Drug Delivery Devices and Therapeutic Systems*. Elsevier, 395-419. ISBN 9780128198384. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-819838-4.00012-2.
- [8] KOPEČEK, Jindřich a Jiyuan YANG, 2007. Hydrogels as smart biomaterials. *Polymer International*. 56(9), 1078-1098. ISSN 09598103. Dostupné z: doi:10.1002/pi.2253.
- [9] SHUKLA, Sandeep, A. K. BAJPAI a R. A. KULKARNI, 2005. Preparation, characterization, and water-sorption study of polyvinyl alcohol based hydrogels with grafted hydrophilic and hydrophobic segments. *Journal of Applied Polymer Science*. 2005-03-05, 95(5), 1129-1142. ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.21344.
- [10] PEKAŘ, Miloslav, 2015. Hydrogels with Micellar Hydrophobic (Nano)Domains. *Frontiers in Materials*. 2015-01-28, 1. ISSN 2296-8016. Dostupné z: doi:10.3389/fmats.2014.00035.
- [11] BAHRAM, Morteza, Naimeh MOHSENI a Mehdi MOGHTADER, 2016. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*. InTech, 2016-08-24. ISBN 978-953-51-2509-9. Dostupné z: doi:10.5772/64301.
- [12] DAS, Nilimanka, 2013. Preparation methods and properties of hydrogel: A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(3), 112-117. ISSN 0975-1491.

- [13] OYEN, M. L., 2013. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews*. 2013-12-05, 59(1), 44-59. ISSN 0950-6608. Dostupné z: doi:10.1179/1743280413Y.0000000022.
- [14] ASSARSSON, Per G., Paul A. KING a Steven N. YEN, *Disposable absorbent articles containing hydrogel composites having improved fluid absorption efficiencies and processes for preparation*. USA. US3901236A. Uděleno 26.8. 1975.
- [15] HSUEH, Kesyn Fugger, Pedro Antonio RODRIGUEZ, Shuji MAENO, Motohiro SHIMIZU a Ebrahim REZAI, *Process for making perfume-impregnated hydrogel-forming absorbent polymers*. WO1999004830A1. Uděleno 4.2. 1999.
- [16] PARENTE, M. E., A. OCHOA ANDRADE, G. ARES, F. RUSSO a Á. JIMÉNEZ-KAIRUZ, 2015. Bioadhesive hydrogels for cosmetic applications. *International Journal of Cosmetic Science*. 37(5), 511-518. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12227.
- [17] LUI, Y. F. a W. Y. IP, 2016. Application of Hydrogel in Reconstruction Surgery: Hydrogel/Fat Graft Complex Filler for Volume Reconstruction in Critical Sized Muscle Defects. *BioMed Research International*. 2016, 1-9. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2016/3459431.
- [18] SONG, Huijuan, Pengxiang YANG, Pingsheng HUANG, Chuangnian ZHANG, Deling KONG a Weiwei WANG, 2019. Injectable polypeptide hydrogel-based co-delivery of vaccine and immune checkpoint inhibitors improves tumor immunotherapy. *Theranostics*. 9(8), 2299-2314. ISSN 1838-7640. Dostupné z: doi:10.7150/thno.30577.
- [19] FINETTI, Chiara, Laura SOLA, Jim ELLIOTT a Marcella CHIARI, 2017. Synthesis of hydrogel via click chemistry for DNA electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 1513, 226-234. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2017.07.042.
- [20] PERTICI, Vincent, Caroline PIN-BARRE, Claudio RIVERA, Christophe PELLEGRINO, Jérôme LAURIN, Didier GIGMES a Thomas TRIMAILLE, 2019. Degradable and Injectable Hydrogel for Drug Delivery in Soft Tissues. *Biomacromolecules*. 2019-01-14, 20(1), 149-163. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.8b01242.
- [21] VUNDAVALLI, Ramesh, Suresh VUNDAVALLI, Mamatha NAKKA a D. Srinivasa RAO, 2015. Biodegradable Nano-Hydrogels in Agricultural Farming - Alternative Source For Water Resources. *Procedia Materials Science*. 10, 548-554. ISSN 22118128. Dostupné z: doi:10.1016/j.mspro.2015.06.005.
- [22] CHOUDHURY, N. A., S. SAMPATH a A. K. SHUKLA, 2009. Hydrogel-polymer electrolytes for electrochemical capacitors: an overview. *Energy & Environmental Science*. 2(1), 55-67. ISSN 1754-5692. Dostupné z: doi:10.1039/B811217G.

- [23] RENN, Donald W., 1984. Agar and agarose: indispensable partners in biotechnology. *Industrial and Engineering Chemistry Product Research and Development*. 23(1), 17-21. ISSN 0196-4321. Dostupné z: doi:10.1021/i300013a004.
- [24] DUCKWORTH, M. a W. YAPHE, 1971. The structure of agar. *Carbohydrate Research*. 16(1), 189-197. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/S0008-6215(00)86113-3.
- [25] HJERTÉN, Stellan, 1961. Agarose as an anticonvection agent in zone electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 53(3), 514-517. ISSN 00063002. Dostupné z: doi:10.1016/0006-3002(61)90210-4.
- [26] CAMBREX. *A Handbook for Gel Electrophoresis SouceBook*. Appendix B: Agarose Physical Chemistry [online]. Basel: Lonza Group [cit. 2023-09-17]. Dostupné z: <https://lifewp.bgu.ac.il/wp/zarivach/wp-content/uploads/2017/11/Manual-for-Gel-electrophoeresis.pdf>.
- [27] STELLWAGEN, John a Nancy C. STELLWAGEN, 1995. Internal Structure of the Agarose Gel Matrix. *The Journal of Physical Chemistry*. 99(12), 4247-4251. ISSN 0022-3654. Dostupné z: doi:10.1021/j100012a054.
- [28] Agarose polymere, 2008. In: *Wikimedia Commons* [online]. San Francisco: Wikimedia Foundation [cit. 2023-09-17]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Agarose_polymere.svg.
- [29] CALLADINE, C.R., C.M. COLLIS, H.R. DREW a M.R. MOTT, 1991. A study of electrophoretic mobility of DNA in agarose and polyacrylamide gels. *Journal of Molecular Biology*. 221(3), 981-1005. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1016/0022-2836(91)80187-Y.
- [30] SERWER, P., Agarose Gels – Properties and Use for Electrophoresis. *Electrophoresis*, 1983. 4(6): p. 375–382. ISSN: 1522-2683. Dostupné z: doi: 10.1002/elps.1150040602.
- [31] LEE, Pei Yun, John COSTUMBRADO, Chih-Yuan HSU a Yong Hoon KIM, 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*. (62). ISSN 1940-087X. Dostupné z: doi:10.3791/3923.
- [32] ROACH, Brendan L., Adam B. NOVER, Gerard A. ATESHIAN a Clark T. HUNG, 2016. Agarose Hydrogel Characterization for Regenerative Medicine Applications: Focus on Engineering Cartilage. *Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies*. Hoboken, New Jersey, 2016-10-21, 258-273. ISBN 9781119126218. Dostupné z: doi:10.1002/9781119126218.ch16.
- [33] PERNODET, Nadine, Mounir MAALOUM a Bernard TINLAND, 1997. Pore size of agarose gels by atomic force microscopy. *Electrophoresis*. 18(1), 55-58. ISSN 0173-0835. Dostupné z: doi:10.1002/elps.1150180111.

- [34] JOHNSON, E.M., D.A. BERK, R.K. JAIN a W.M. DEEN, 1996. Hindered diffusion in agarose gels: test of effective medium model. *Biophysical Journal*. 70(2), 1017-1023. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-3495(96)79645-5.
- [35] KHAING, Zin Z. a Christine E. SCHMIDT, 2012. Advances in natural biomaterials for nerve tissue repair. *Neuroscience Letters*. 519(2), 103-114. ISSN 03043940. Dostupné z: doi:10.1016/j.neulet.2012.02.027.
- [36] STOKOLS, Shula, Jeff SAKAMOTO, Chris BRECKON, Todd HOLT, James WEISS a Mark H. TUSZYNSKI, 2006. Templated Agarose Scaffolds Support Linear Axonal Regeneration. *Tissue Engineering*. 12(10), 2777-2787. ISSN 1076-3279. Dostupné z: doi:10.1089/ten.2006.12.2777.
- [37] ALIPAL, J., N.A.S. MOHD PU'AD, T.C. LEE, N.H.M NAYAN, N. SAHARI, H. BASRI, M.I. IDRIS a H.Z. ABDULLAH, 2021. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*. 42, 240-250. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2020.12.922.
- [38] SAID, M I, 2020. Role and function of gelatin in the development of the food and non-food industry: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 492(1). ISSN 1755-1307. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/492/1/012086.
- [39] NORMAND, Valéry, Stéphane MULLER, Jean-Claude RAVEY a Alan PARKER, 2000. Gelation Kinetics of Gelatin: A Master Curve and Network Modeling. *Macromolecules*. 33(3), 1063-1071. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/ma9909455.
- [40] KTARI, Naourez, Mourad JRIDI, Rim NASRI, Imen LASSOUED, Hanen BEN AYED, Ahmed BARKIA a Moncef NASRI, 2014. Characteristics and functional properties of gelatin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) skin. *LWT - Food Science and Technology*. 58(2), 602-608. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2014.03.036.
- [41] DESHMUKH, K., M. BASHEER AHAMED, R.R. DESHMUKH, S.K. KHADHEER PASHA, P.R. BHAGAT a K. CHIDAMBARAM, 2017. Biopolymer Composites With High Dielectric Performance: Interface Engineering. *Biopolymer Composites in Electronics*. Elsevier, 2017, 27-128. ISBN 9780128092613. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-809261-3.00003-6.
- [42] GHEORGHITA PUSCASELU, Roxana, Andrei LOBIUC, Mihai DIMIAN a Mihai COVASA, 2020. Alginate: From Food Industry to Biomedical Applications and Management of Metabolic Disorders. *Polymers*. 12(10). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12102417.
- [43] DAVIES, Jane C., 2002. Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence. *Paediatric Respiratory Reviews*. 3(2), 128-134. ISSN 15260542. Dostupné z: doi:10.1016/S1526-0550(02)00003-3.

- [44] GRANT, Gregor T., Edwin R. MORRIS, David A. REES, Peter J.C. SMITH a David THOM, 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*. 32(1), 195-198. ISSN 00145793. Dostupné z: doi:10.1016/0014-5793(73)80770-7.
- [45] BRUS, Jiri, Martina URBANOVA, Jiri CZERNEK, et al., 2017. Structure and Dynamics of Alginate Gels Cross-Linked by Polyvalent Ions Probed via Solid State NMR Spectroscopy. *Biomacromolecules*. 18(8), 2478-2488. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.7b00627.
- [46] HU, Chuhuan, Wei LU, Analucia MATA, Katsuyoshi NISHINARI a Yapeng FANG, 2021. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 177, 578-588. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086.
- [47] MOLLAH, M. Z. I., H. M. ZAHID, Z. MAHAL, Mohammad Rashed Iqbal FARUQUE a M. U. KHANDAKER, 2021. The Usages and Potential Uses of Alginate for Healthcare Applications. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 8. ISSN 2296-889X. Dostupné z: doi:10.3389/fmolb.2021.719972.
- [48] ULMANN, F. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2011. 7th. Wiley-VCH. ISBN 978-3527329434.
- [49] KAWAI, Fusako a Xiaoping HU, 2009. Biochemistry of microbial polyvinyl alcohol degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 84(2), 227-237. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-009-2113-6.
- [50] CHEN, Yuanyuan, Chen JIAO, Xin PENG, Tianqi LIU, Yunqi SHI, Min LIANG a Huiliang WANG, 2019. Biomimetic anisotropic poly(vinyl alcohol) hydrogels with significantly enhanced mechanical properties by freezing–thawing under drawing. *Journal of Materials Chemistry B*. 7(20), 3243-3249. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/C9TB00372J.
- [51] CHEN, Ying, Jie LI, Jiawei LU, Meng DING a Yi CHEN, 2022. Synthesis and properties of Poly(vinyl alcohol) hydrogels with high strength and toughness. *Polymer Testing*. 108. ISSN 01429418. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymertesting.2022.107516.
- [52] PARADOSSI, Gaio, Francesca CAVALIERI, Ester CHIESSI, Chiara SPAGNOLI a Mary K. COWMAN. Poly(vinyl alcohol) as versatile biomaterial for potential biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 14(8), 687-691. ISSN 09574530. Dostupné z: doi:10.1023/A:1024907615244.
- [53] ARANAZ, Inmaculada, Andrés R. ALCÁNTARA, Maria Concepción CIVERA, Concepción ARIAS, Begoña ELORZA, Angeles HERAS CABALLERO a Niuris ACOSTA, 2021. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers*. 13(19). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13193256.

- [54] KUMAR, M. N. V. Ravi, R. A. A. MUZZARELLI, C. MUZZARELLI, H. SASHIWA a A. J. DOMB, 2004. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chemical Reviews*. 104(12), 6017-6084. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr030441b.
- [55] TEIXEIRA-COSTA, Barbara E. a Cristina T. ANDRADE, 2021. Chitosan as a Valuable Biomolecule from Seafood Industry Waste in the Design of Green Food Packaging. *Biomolecules*. 11(11). ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom11111599.
- [56] SHARIATINIA, Zahra a Azin Mazloom JALALI, 2018. Chitosan-based hydrogels: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 115, 194-220. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.034.
- [57] AHMADI F, OVEISI Z, SAMANI SM, AMOOZGAR Z. Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2015 Jan-Feb;10(1):1-16. PMID: 26430453; PMCID: PMC4578208.
- [58] HOLMBERG, Krister, c2003. *Surfactants and polymers in aqueous solution*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley. ISBN 0-471-49883-1.
- [59] LOMBARDO, Domenico, Mikhail A. KISELEV, Salvatore MAGAZÙ a Pietro CALANDRA, 2015. Amphiphiles Self-Assembly: Basic Concepts and Future Perspectives of Supramolecular Approaches. *Advances in Condensed Matter Physics*. 2015, 1-22. ISSN 1687-8108. Dostupné z: doi:10.1155/2015/151683.
- [60] TORCHILIN, V. P., 2006. Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical Perspectives. *Pharmaceutical Research*. 24(1), 1-16. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-006-9132-0.
- [61] LOPPINET, B., MONTEUX, C., Soft Matter at Aqueous Interfaces. *Dynamics of Surfactants and Polymers at Liquid Interfaces*. 2016. Cham: Springer International Publishing. Lecture Notes in Physics. ISBN 978-3-319-24500-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-24502-7_5.
- [62] MAGID, L. J., Z. LI a P. D. BUTLER, 2000. Flexibility of Elongated Sodium Dodecyl Sulfate Micelles in Aqueous Sodium Chloride: A Small-Angle Neutron Scattering Study. *Langmuir*. 16(26), 10028-10036. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la0006216.
- [63] AOUN, B., V. K. SHARMA, E. PELLEGRINI, S. MITRA, M. JOHNSON a R. MUKHOPADHYAY, 2015. Structure and Dynamics of Ionic Micelles: MD Simulation and Neutron Scattering Study. *The Journal of Physical Chemistry B*. 119(15), 5079-5086. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jpbc.5b00020.
- [64] PSIBERG TEAM. *Micelle Formation: Explanation with CMC*. Psiberg [online]. [cit. 2023-09-17]. Dostupné z: <https://psiberg.com/micelle-formation/>.

- [65] KABANOV, Alexander V., Irina R. NAZAROVA, Irina V. ASTAFIEVA, Elena V. BATRAKOVA, Valery Yu. ALAKHOV, Alexander A. YAROSLAVOV a Victor A. KABANOV, 1995. Micelle Formation and Solubilization of Fluorescent Probes in Poly(oxyethylene-b-oxypropylene-b-oxyethylene) Solutions. *Macromolecules*. 28(7), 2303-2314. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/ma00111a026.
- [66] JONES, Marie-Christine a Jean-Christophe LEROUX. Polymeric micelles – a new generation of colloidal drug carriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 101-111. ISSN 0939-6411. Dostupné z: doi:10.1016/S0939-6411(99)00039-9.
- [67] DEMUS, Dietrich, c1998. *Handbook of liquid crystals*. New York: Wiley-VCH. ISBN 3-527-29270-5.
- [68] RINCÓN-LEÓN, F., 2003. FUNCTIONAL FOODS. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Elsevier, 2003, 2827-2832. ISBN 9780122270550. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-227055-X/01328-6.
- [69] BUSH, Robert K. a Steve L. TAYLOR, 2014. Reactions to Food and Drug Additives. *Middleton's Allergy*. Elsevier, 1340-1356. ISBN 9780323085939. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-08593-9.00083-8.
- [70] DWORKEN, Harvey J., 1982. The Liver: Structure and Function. *Gastroenterology: Pathophysiology and Clinical Applications*. Elsevier, 1982, 173-199. ISBN 9780409950212. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-409-95021-2.50012-1.
- [71] Phosphatidylcholine (PC): Structure. Lipoid [online]. Ludwigshafen [cit. 2023-09-17]. Dostupné z: <https://lipoid.com/en/products/synthetic-phospholipids/synthetic-phosphatidylcholine/>.
- [72] SCHOLFIELD, C. R., 1981. Composition of soybean lecithin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 58(10), 889-892. ISSN 0003021X. Dostupné z: doi:10.1007/BF02659652.
- [73] SHCHIPUNOV, Yu A., 2016. Lecithin. In: SOMASUNDARAN, P. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. 3rd Edition. Boca Raton (Florida): CRC Press, s. 3674-3693. ISBN 978-1-4665-9045-8. Dostupné z: doi: 10.1081/E-ESCS3-120000622.
- [74] DERVICHIAN, D.G., 1964. The physical chemistry of phospholipids. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 14, 263-IN3. ISSN 00796107. Dostupné z: doi:10.1016/S0079-6107(64)80008-0.
- [75] SMALL, Donald M., 1967. Phase equilibria and structure of dry and hydrated egg lecithin. *Journal of Lipid Research*. 8(6), 551-557. ISSN 0022-2275.
- [76] BERGENSTÅHL, B. a K. FONTELL, 1983. Phase equilibria in the system soybean lecithin/water. *Progress in Colloid & Polymer Science*. 68, 48-52. ISSN 0340-255X.

- [77] Lecithin Applications, 2009. American Lecithin Company [online]. Oxford (Connecticut): American Lecithin Company [cit. 2023-09-17]. Dostupné z: http://www.americanlecithin.com/leci_appfood.html.
- [78] BANAT, Ibrahim M.; THAVASI, Rengathavasi (ed.). *Microbial biosurfactants and their environmental and industrial applications*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2019. ISBN 9780367780555.
- [79] MARQUEZ, Ronald, Ana M. FORGIARINI, Dominique LANGEVIN a Jean-Louis SALAGER, 2018. Instability of Emulsions Made with Surfactant–Oil–Water Systems at Optimum Formulation with Ultralow Interfacial Tension. *Langmuir*. 34(31), 9252-9263. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/acs.langmuir.8b01376.
- [80] KRALOVA, Iva a Johan SJÖBLOM, 2009. Surfactants Used in Food Industry: A Review. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 30(9), 1363-1383. ISSN 0193-2691. Dostupné z: doi:10.1080/01932690902735561.
- [81] DIAZ, Mayri A., Isora Urdaneta DE RANSON, Blas DORTA, Ibrahim M. BANAT, Maria L. BLAZQUEZ, Felisa GONZALEZ, Jesús A. MUÑOZ a Antonio BALLESTER, 2014. Metal Removal from Contaminated Soils Through Bioleaching with Oxidizing Bacteria and Rhamnolipid Biosurfactants. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 24(1), 16-29. ISSN 1532-0383. Dostupné z: doi:10.1080/15320383.2014.907239.
- [82] PACIFICO, Carl a Serge GIERS, 1955. Surfactants used in textile applications. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 32(4), 231-235. ISSN 0003021X. Dostupné z: doi:10.1007/BF02649020.
- [83] REBELLO, Sharrel, Aju K. ASOK, Sathish MUNDAYOOR a M. S. JISHA, 2013. Surfactants: Chemistry, Toxicity and Remediation. *Pollutant Diseases, Remediation and Recycling*. Springer International Publishing, 2013-12-8, 277-320. Environmental Chemistry for a Sustainable World. ISBN 978-3-319-02386-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-02387-8_5.
- [84] SINGH, Vinayika a Rashmi TYAGI, 2018. Investigations of mixed surfactant systems of lauryl alcohol-based bisulfosuccinate anionic gemini surfactants with conventional surfactants: A fluorometric study. *Journal of Taibah University for Science*. 2018-04-16, 9(4), 477-489. ISSN 1658-3655. Dostupné z: doi:10.1016/j.jtusci.2015.01.010.
- [85] CLARKE, Joseph D., 2009. Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB) DNA Miniprep for Plant DNA Isolation. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2009(3). ISSN 1940-3402. Dostupné z: doi:10.1101/pdb.prot5177.
- [86] MEHTA, S. K., Sanjay KUMAR, Savita CHAUDHARY a K. K. BHASIN, 2009. Effect of Cationic Surfactant Head Groups on Synthesis, Growth and Agglomeration Behavior of ZnS Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*. 4(10). ISSN 1556-276X. Dostupné z: doi:10.1007/s11671-009-9377-8.

- [87] Final Report on the Safety Assessment of Cetrimonium Chloride, Cetrimonium Bromide, and Steartrimonium Chloride, 1997. *International Journal of Toxicology*. 16(3), 195-220. ISSN 1091-5818. Dostupné z: doi:10.1080/109158197227152.
- [88] RAY, PARESH CHANDRA, HONGTAO YU a PETER P. FU, 2009. Toxicity and Environmental Risks of Nanomaterials: Challenges and Future Needs. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 27(1), 1-35. ISSN 1059-0501. Dostupné z: doi:10.1080/10590500802708267.
- [89] IGOE, R. S. (2011). *Dictionary of Food Ingredients*. Fifth edition. New York: Springer. ISBN 978-1-4419-9712-8.
- [90] JANSON, Lee W. a Marc E. TISCHLER, c2012. *The Big Picture: Medical Biochemistry*. New York: McGraw-Hill Medical. ISBN 978-007-1637-916.
- [91] MARRAKCHI, S. a H.I. MAIBACH, 2006. Sodium Lauryl Sulfate-Induced Irritation in the Human Face: Regional and Age-Related Differences. *Skin Pharmacology and Physiology*. 19(3), 177-180. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000093112.
- [92] SHIM, YJ, J-H CHOI, H-J AHN a J-S KWON, 2012. Effect of sodium lauryl sulfate on recurrent aphthous stomatitis: a randomized controlled clinical trial. *Oral Diseases*. 18(7), 655-660. ISSN 1354523X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01920.x.
- [93] JOHNSON, Mary, 2013. Detergents: Triton X-100, Tween-20, and More. *Materials and Methods*. 3. ISSN 2329-5139. Dostupné z: doi:10.13070/mm.en.3.163.
- [94] KOLEY, Dipankar a Allen J. BARD, 2010. Triton X-100 concentration effects on membrane permeability of a single HeLa cell by scanning electrochemical microscopy (SECM). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(39), 16783-16787. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1011614107.
- [95] BARNES, Howard A., J. F. HUTTON a Kenneth WALTERS, 1989. *An introduction to rheology*. Vyd. 3., přeprac. New York: Distributors for the U.S. and Canada, Elsevier Science Pub. Co. Rheology series, 3. ISBN 04-448-7140-3.
- [96] HOFMANN, Jaroslav a Marie URBANOVÁ, 2011. *Fyzika I*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-777-4.
- [97] BRUMMER, Rüdiger. *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer. ISBN 354025553.
- [98] LAKES, Roderic S., 2009. *Viscoelastic materials*. New York: Cambridge University Press. ISBN 978-052-1885-683.
- [99] MEZGER, Thomas G., 2006. *The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers*. 2nd rev. Ed. Hannover: Vincentz. ISBN 3-87870-174-8.

- [100] KAVANAGH, Gaynor M. a Simon B. ROSS-MURPHY, 1998. Rheological characterisation of polymer gels. *Progress in Polymer Science*. 23(3), 533-562. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/S0079-6700(97)00047-6.
- [101] WYSS, Hans M., 2016. Rheology of Soft Materials. *Fluids, Colloids and Soft Materials: An Introduction to Soft Matter Physics*. Hoboken, NJ, USA, 2016-04-25, 149-164. ISBN 9781119220510. Dostupné z: doi:10.1002/9781119220510.ch9.
- [102] MEZGER, Thomas, 2015. *Applied rheology: with Joe Flow on rheology road*. 5th edition. Graz: Anton Paar. ISBN 978-3-9504016-0-8.
- [103] GRADZIELSKI, Michael a Ingo HOFFMANN, 2018. Polyelectrolyte-surfactant complexes (PESCs) composed of oppositely charged components. *Elsevier*. 35, 124-141. ISSN 13590294. Dostupné z: doi:10.1016/j.cocis.2018.01.017.
- [104] PESCOLIDIO, Laura, Luigi FERUGLIO, Rossella FARRA, et al., 2012. Mesh size distribution determination of interpenetrating polymer network hydrogels. *Soft Matter*. 8(29). ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/c2sm25677k.
- [105] FLORY, P.J. *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell University Press: New York, NY, USA, 1953.
- [106] MASARO, L a X.X ZHU, 1999. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. *Progress in Polymer Science*. 24(5), 731-775. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/S0079-6700(99)00016-7.
- [107] ATKINS, P. W. a Julio DE PAULA, c2006. *Physical chemistry for the life sciences*. Oxford: Oxford Univ. Press. ISBN 01-992-8095-9.
- [108] PHILIBERT, Jean, 2005. One and a Half Century of Diffusion: Fick, Einstein, Before and Beyond. *Diffusion Fundamentals*. 2: 1.1-1.10.
- [109] CRANK, John, 1975. *The mathematics of diffusion*. 2d ed. Oxford, [Eng]: Clarendon Press. ISBN 0 19 853344 6.
- [110] CUSSLER, E. L., 2009. *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. 3rd ed. New York: Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-87121-1.
- [111] BAUR, John E., 2007. Diffusion Coefficients. *Handbook of Electrochemistry*. Elsevier, 829-848. ISBN 9780444519580. Dostupné z: doi:10.1016/B978-044451958-0.50036-7.
- [112] RAGHUWANSHI, Vikram Singh a Gil GARNIER, 2019. Characterisation of hydrogels: Linking the nano to the microscale. *Advances in Colloid and Interface Science*. 274. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2019.102044.
- [113] SUCHÝ, Tomáš, Monika ŠUPOVÁ, Martin BARTOŠ, et al., 2018. Dry versus hydrated collagen scaffolds: are dry states representative of hydrated states?. *Journal of Materials*

- Science: Materials in Medicine*. 29(2). ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-017-6024-2.
- [114] MUTHULAKSHMI, Lakshmanan, U. PAVITHRA, V. SIVARANJANI, N. BALASUBRAMANIAN, Kunnathur Murugesan SAKTHIVEL a Catalin Iulian PRUNCU, 2021. A novel Ag/carrageenan–gelatin hybrid hydrogel nanocomposite and its biological applications: Preparation and characterization. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 115. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2020.104257.
- [115] MARMORAT, Clement, Arkadii ARINSTEIN, Naama KOIFMAN, Yeshayahu TALMON, Eyal ZUSSMAN a Miriam RAFAILOVICH, 2016. Cryo-Imaging of Hydrogels Supermolecular Structure. *Scientific Reports*. 6(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep25495.
- [116] KABEROVA, Zhansaya, Evgeny KARPUSHKIN, Martina NEVORALOVÁ, Miroslav VETRÍK, Miroslav ŠLOUF a Miroslava DUŠKOVÁ-SMRČKOVÁ, 2020. Microscopic Structure of Swollen Hydrogels by Scanning Electron and Light Microscopies: Artifacts and Reality. *Polymers*. 12(3). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12030578.
- [117] BHAGAT, Sharad D., Yong-Ha KIM, Gyeongbeom YI, Young-Soo AHN, Jeong-Gu YEO a Young-Tai CHOI, 2008. Mesoporous SiO₂ powders with high specific surface area by microwave drying of hydrogels: A facile synthesis. *Microporous and Mesoporous Materials*. 108(1-3), 333-339. ISSN 13871811. Dostupné z: doi:10.1016/j.micromeso.2007.03.026.
- [118] WEBER, Jens a Lennart BERGSTRÖM, 2010. Mesoporous Hydrogels: Revealing Reversible Porosity by Cryoporometry, X-ray Scattering, and Gas Adsorption. *Langmuir*. 26(12), 10158-10164. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la100290j.
- [119] TRUDICOVA, Monika, Jiri SMILEK, Michal KALINA, Marcela SMILKOVA, Katerina ADAMKOVA, Kamila HRUBANOVA, Vladislav KRZYZANEK a Petr SEDLACEK, 2020. Multiscale Experimental Evaluation of Agarose-Based Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels as Materials with Tunable Rheological and Transport Performance. *Polymers*. 12(11). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12112561.
- [120] KULAR, Jaspreet K, Shouvik BASU a Ram I SHARMA, 2014. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*. 5. ISSN 2041-7314. Dostupné z: doi:10.1177/2041731414557112.
- [121] ASWATHY, S.H., U. NARENDRAKUMAR a I. MANJUBALA, 2020. Commercial hydrogels for biomedical applications. *Heliyon*. 6(4). ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e03719.

- [122] GECKIL, Hikmet, Feng XU, Xiaohui ZHANG, SangJun MOON a Utkan DEMIRCI, 2010. Engineering hydrogels as extracellular matrix mimics. *Nanomedicine*. 5(3), 469-484. ISSN 1743-5889. Dostupné z: doi:10.2217/nmm.10.12.
- [123] GADJANSKI, Ivana, 2017. Recent advances on gradient hydrogels in biomimetic cartilage tissue engineering. *F1000Research*. 6. ISSN 2046-1402. Dostupné z: doi:10.12688/f1000research.12391.2.
- [124] ZHANG, Yuchen, Qing CHEN, Zhengwei DAI, Yu DAI, Fan XIA a Xiaojin ZHANG, 2021. Nanocomposite adhesive hydrogels: from design to application. *Journal of Materials Chemistry B*. 9(3), 585-593. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/D0TB02000A.
- [125] TUNCABOYLU, Deniz C., Aslihan ARGUN, Melek Pamuk ALGI a Oguz OKAY, 2013. Autonomic self-healing in covalently crosslinked hydrogels containing hydrophobic domains. *Polymer*. 54(23), 6381-6388. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2013.09.051.
- [126] LIU, Jianhong a Lin LI, 2005. SDS-aided immobilization and controlled release of camptothecin from agarose hydrogel. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 25(2-3), 237-244. ISSN 09280987. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejps.2005.02.013.
- [127] LIU, Jianhong, Lin LI a Yiyu CAI, 2006. Immobilization of camptothecin with surfactant into hydrogel for controlled drug release. *European Polymer Journal*. 42(8), 1767-1774. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2006.03.005.
- [128] LIU, Jianhong a Lin LI, 2007. Diffusion of camptothecin immobilized with cationic surfactant into agarose hydrogel containing anionic carrageenan. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007-12-15, 83A(4), 1103-1109. ISSN 1549-3296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.31445.
- [129] TEDESCHI, Annamaria, Finizia AURIEMMA, Rosa RICCIARDI, et al., 2006. A Study of the Microstructural and Diffusion Properties of Poly(vinyl alcohol) Cryogels Containing Surfactant Supramolecular Aggregates. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006-11-01, 110(46), 23031-23040. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp061941m.
- [130] MANGIAPIA, Gaetano, Rosa RICCIARDI, Finizia AURIEMMA, et al., 2007. Mesoscopic and Microscopic Investigation on Poly(vinyl alcohol) Hydrogels in the Presence of Sodium Decylsulfate. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007-03-01, 111(9), 2166-2173. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp0663107.
- [131] STOPPEL, Whitney L., Joseph C. WHITE, Sarena D. HORAVA, Surita R. BHATIA a Susan C. ROBERTS, 2011. Transport of biological molecules in surfactant-alginate composite hydrogels. *Acta Biomaterialia*. 7(11), 3988-3998. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2011.07.009.

- [132] FRISMAN, Ilya, Dror SELIKTAR a Havazelet BIANCO-PELED, 2012. Nanostructuring biosynthetic hydrogels for tissue engineering: A cellular and structural analysis. *Acta Biomaterialia*. 8(1), 51-60. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2011.07.030.
- [133] JU, Caoyun, Juan SUN, Peng ZI, Xiang JIN a Can ZHANG, 2013. Thermosensitive Micelles–Hydrogel Hybrid System Based on Poloxamer 407 for Localized Delivery of Paclitaxel. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 102(8), 2707-2717. ISSN 00223549. Dostupné z: doi:10.1002/jps.23649.
- [134] WANG, YuJun, LiJuan CHEN, LiWei TAN, Qian ZHAO, Feng LUO, YuQuan WEI a ZhiYong QIAN, 2014. PEG–PCL based micelle hydrogels as oral docetaxel delivery systems for breast cancer therapy. *Biomaterials*. 35(25), 6972-6985. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2014.04.099.
- [135] YOM-TOV, Ortal, Ilya FRISMAN, Dror SELIKTAR a Havazelet BIANCO-PELED, 2014. A novel method for hydrogel nanostructuring. *European Polymer Journal*. 52, 137-145. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.01.004.
- [136] SHUKLA, Sandeep Kumar, A. Wasif SHAIKH, Nikhil GUNARI, A. K. BAJPAI a R. A. KULKARNI, 2009. Self assembled hydrophobic nanoclusters of poly(methyl methacrylate) embedded into polyvinyl alcohol based hydrophilic matrix: Preparation and water sorption study. *Journal of Applied Polymer Science*. 2009-02-05, 111(3), 1300-1310. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.29155.
- [137] INOUE, Tadaaki, Guohua CHEN, Katsuhiko NAKAMAE a Allan S HOFFMAN, 1997. A hydrophobically-modified bioadhesive polyelectrolyte hydrogel for drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 49(2-3), 167-176. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-3659(97)00072-2.
- [138] KIM, Yang-Hee, Hiroyuki FURUYA a Yasuhiko TABATA, 2014. Enhancement of bone regeneration by dual release of a macrophage recruitment agent and platelet-rich plasma from gelatin hydrogels. *Biomaterials*. 35(1), 214-224. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2013.09.103.
- [139] GUO, Mingyu, Louis M. PITET, Hans M. WYSS, Matthijn VOS, Patricia Y. W. DANKERS a E. W. MEIJER, 2014. Tough Stimuli-Responsive Supramolecular Hydrogels with Hydrogen-Bonding Network Junctions. *Journal of the American Chemical Society*. 2014-05-14, 136(19), 6969-6977. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja500205v.
- [140] BROMBERG, Lev, 2005. Intelligent hydrogels for the oral delivery of chemotherapeutics. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2005-11-04, 2(6), 1003-1013. ISSN 1742-5247. Dostupné z: doi:10.1517/17425247.2.6.1003.
- [141] THOMAS, Brian H., J. CRAIG FRYMAN, Kaifeng LIU a Jim MASON, 2009. Hydrophilic–hydrophobic hydrogels for cartilage replacement. *Journal of the*

- Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2(6), 588-595. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2008.08.001.
- [142] LEE, Soo Hyeon, Yuhan LEE, Sang-Woo LEE, Ha-Yeun JI, Ji-Hee LEE, Doo Sung LEE a Tae Gwan PARK, 2011. Enzyme-mediated cross-linking of Pluronic copolymer micelles for injectable and in situ forming hydrogels. *Acta Biomaterialia*. 7(4), 1468-1476. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2010.11.029.
- [143] MISSIRLIS, Dimitris, Nicola TIRELLI a Jeffrey A. HUBBELL, 2005. Amphiphilic Hydrogel Nanoparticles. Preparation, Characterization, and Preliminary Assessment as New Colloidal Drug Carriers. *Langmuir*. 2005-03-01, 21(6), 2605-2613. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la047367s.
- [144] HAO, Jinkun a R. A. WEISS, 2011. Viscoelastic and Mechanical Behavior of Hydrophobically Modified Hydrogels. *Macromolecules*. 2011-12-13, 44(23), 9390-9398. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/ma202130u.
- [145] LI, Yan, Chuan YANG, Majad KHAN, Shaoqiong LIU, James L. HEDRICK, Yi-Yan YANG a Pui-Lai R. EE, 2012. Nanostructured PEG-based hydrogels with tunable physical properties for gene delivery to human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*. 33(27), 6533-6541. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2012.05.043.
- [146] ZHANG, Hua, Penggang REN, Yanling JIN a Fang REN, 2019. Injectable, strongly compressible hyaluronic acid hydrogels via incorporation of Pluronic F127 diacrylate nanomicelles. *Materials Letters*. 243, 112-115. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2019.01.159.
- [147] WISNIEWSKA, Malgorzata Anna a John Georg SELAND, 2019. Investigating structure-dependent diffusion in hydrogels using spatially resolved NMR spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*. 533, 671-677. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2018.08.112.
- [148] ASSEM, Menna, Omneya Mohammed KHOWESSAH a Dalia GHORAB, 2019. Optimization and Evaluation of Beclomethasone Dipropionate Micelles Incorporated into Biocompatible Hydrogel Using a Sub-Chronic Dermatitis Animal Model. *AAPS PharmSciTech*. 20(4). ISSN 1530-9932. Dostupné z: doi:10.1208/s12249-019-1355-6.
- [149] HAQUE, Md. Anamul a Jian Ping GONG, 2013. Multi-functions of hydrogel with bilayer-based lamellar structure. *Reactive and Functional Polymers*. 73(7), 929-935. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2013.01.016.
- [150] HASSAN, Puthusserickal Abdulrahiman a Santosh L. GAWALI, 2019. Directing Amphiphilic Self-Assembly: From Microstructure Control to Interfacial Engineering. *Langmuir*. 2019-07-30, 35(30), 9635-9646. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/acs.langmuir.8b02921.

- [151] WANG, Jiao, Weilin QI, Nana LEI a Xiao CHEN, 2019. Lamellar hydrogel fabricated by host-guest interaction between α -cyclodextrin and amphiphilic phytosterol ethoxylates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 570, 462-470. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2019.03.069.
- [152] ILYAS, Muhammad, Md. Anamul HAQUE, Youfeng YUE, Takayuki KUROKAWA, Tasuku NAKAJIMA, Takayuki NONOYAMA a Jian Ping GONG, 2017. Water-Triggered Ductile–Brittle Transition of Anisotropic Lamellar Hydrogels and Effect of Confinement on Polymer Dynamics. *Macromolecules*. 2017-10-24, 50(20), 8169-8177. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/acs.macromol.7b01438.
- [153] TSUJII, Kaoru, Masaki HAYAKAWA, Tomohiro ONDA a Toyochi TANAKA, 1997. A Novel Hybrid Material of Polymer Gels and Bilayer Membranes. *Macromolecules*. 1997-12-01, 30(24), 7397-7402. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/ma9705329.
- [154] HAQUE, Md. Anamul, Gen KAMITA, Takayuki KUROKAWA, Kaoru TSUJII a Jian Ping GONG, 2010. Unidirectional Alignment of Lamellar Bilayer in Hydrogel: One-Dimensional Swelling, Anisotropic Modulus, and Stress/Strain Tunable Structural Color. *Advanced Materials*. 2010-12-01, 22(45), 5110-5114. ISSN 09359648. Dostupné z: doi:10.1002/adma.201002509.
- [155] NASCIMENTO, M.H.M., M.K.K.D. FRANCO, F. YOKAICHYIA, E. DE PAULA, C.B. LOMBELLO a D.R. DE ARAUJO, 2018. Hyaluronic acid in Pluronic F-127/F-108 hydrogels for postoperative pain in arthroplasties: Influence on physico-chemical properties and structural requirements for sustained drug-release. *International Journal of Biological Macromolecules*. 111, 1245-1254. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.01.064.
- [156] MISBAH, M. Hamed, Luis QUINTANILLA, M. ALONSO a J. Carlos RODRÍGUEZ-CABELLO, 2015. Evolution of amphiphilic elastin-like co-recombinamer morphologies from micelles to a lyotropic hydrogel. *Polymer*. 81, 37-44. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2015.11.013.
- [157] ZHANG, Juan, Zongli XIE, Anita J. HILL, Feng Hua SHE, Aaron W. THORNTON, Manh HOANG a Ling Xue KONG, 2012. Structure retention in cross-linked poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogel templated from a hexagonal lyotropic liquid crystal by controlling the surface tension. *Soft Matter*. 8(7), 2087-2094. ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/C1SM06526B.
- [158] FORNEY, Bradley S. a C. ALLAN GUYMON, 2011. Fast Deswelling Kinetics of Nanostructured Poly(N -Isopropylacrylamide) Photopolymerized in a Lyotropic Liquid Crystal Template. *Macromolecular Rapid Communications*. 2011-05-18, 32(9-10), 765-769. ISSN 1022-1336. Dostupné z: doi:10.1002/marc.201100046.

- [159] SANANDAJI, Nima, Nils CARLSSON, Marina VOINOVA a Björn ÅKERMAN, 2006. Comparison of oligonucleotide migration in a bicontinuous cubic phase of monoolein and water and in a fibrous agarose hydrogel. *Electrophoresis*. 27(15), 3007-3017. ISSN 0173-0835. Dostupné z: doi:10.1002/elps.200500812.
- [160] MATHEWS, Patrick D. a Omar MERTINS, 2017. Dispersion of chitosan in liquid crystalline lamellar phase: Production of biofriendly hydrogel of nano cubic topology. *Carbohydrate Polymers*. 157, 850-857. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.071.
- [161] MERTINS, Omar, Marcelo SEBEN, Adriana Raffin POHLMANN a Nádyá Pesce DA SILVEIRA, 2005. Production of soybean phosphatidylcholine–chitosan nanovesicles by reverse phase evaporation: a step by step study. *Chemistry and Physics of Lipids*. 138(1-2), 29-37. ISSN 00093084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2005.07.004.
- [162] GU, Song, Lijie DUAN, Xiuyan REN a Guang Hui GAO, 2017. Robust, tough and anti-fatigue cationic latex composite hydrogels based on dual physically cross-linked networks. *Journal of Colloid and Interface Science*. 492, 119-126. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2017.01.002.
- [163] LI, Ang, Yunfei JIA, Shengtong SUN, et al., 2018. Mineral-Enhanced Polyacrylic Acid Hydrogel as an Oyster-Inspired Organic–Inorganic Hybrid Adhesive. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 10(12), 10471-10479. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.8b01082.
- [164] CUI, Chunyan, Tengling WU, Fei GAO, Chuanchuan FAN, Ziyang XU, Hongbo WANG, Bo LIU a Wenguang LIU, 2018. An Autolytic High Strength Instant Adhesive Hydrogel for Emergency Self-Rescue. *Advanced Functional Materials*. 28(42). ISSN 1616301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201804925.
- [165] FAN, Xianmou, Shaobing WANG, Yan FANG, Peiyuan LI, Weikang ZHOU, Zhengchao WANG, Mingfeng CHEN a Haiqing LIU, 2020. Tough polyacrylamide-tannic acid-kaolin adhesive hydrogels for quick hemostatic application. *Materials Science and Engineering: C*. 109. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2020.110649.
- [166] RAJABI, Negar, Mahshid KHARAZIHA, Rahmatollah EMADI, Ali ZARRABI, Hamidreza MOKHTARI a Sahar SALEHI, 2020. An adhesive and injectable nanocomposite hydrogel of thiolated gelatin/gelatin methacrylate/Laponite® as a potential surgical sealant. *Journal of Colloid and Interface Science*. 564, 155-169. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2019.12.048.
- [167] ARNO, Maria C., Maria INAM, Andrew C. WEEMS, et al., 2020. Exploiting the role of nanoparticle shape in enhancing hydrogel adhesive and mechanical properties. *Nature Communications*. 11(1). ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-020-15206-y.

- [168] ZHANG, Hongbin, Rui HAO, Xiangkui REN, Li YU, Huai YANG a Haifeng YU, 2013. PEG/lecithin–liquid-crystalline composite hydrogels for quasi-zero-order combined release of hydrophilic and lipophilic drugs. *RSC Advances*. 3(45). ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/c3ra44080j.
- [169] ELNAGGAR, Yosra S.R., Wessam M. EL-REFAIE, Magda A. EL-MASSIK a Ossama Y. ABDALLAH, 2014. Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: An update on state of art and recent applications. *Journal of Controlled Release*. 180, 10-24. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2014.02.004.
- [170] THOMPSON, Benjamin R., Brady C. ZARKET, E. Hunter LAUTEN, Samiul AMIN, Sivaramakrishnan MUTHUKRISHNAN a Srinivasa R. RAGHAVAN, 2020. Liposomes Entrapped in Biopolymer Hydrogels Can Spontaneously Release into the External Solution. *Langmuir*. 36(26), 7268-7276. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/acs.langmuir.0c00596.
- [171] LI, Dandan, Xueqin AN a Yao MU, 2019. A liposomal hydrogel with enzyme triggered release for infected wound. *Chemistry and Physics of Lipids*. 223. ISSN 00093084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2019.104783.
- [172] TALAAT, Sara M., Yosra S. R. ELNAGGAR a Ossama Y. ABDALLA, 2019. Lecithin Microemulsion Lipogels Versus Conventional Gels for Skin Targeting of Terconazole: In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Investigation. *AAPS PharmSciTech*. 20(4). ISSN 1530-9932. Dostupné z: doi:10.1208/s12249-019-1374-3.
- [173] SERRANO-AROCA, Ángel. 2018. Enhancement of Hydrogels' Properties for Biomedical Applications: Latest Achievements. *Hydrogels*. 2018-08-01. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.71671.
- [174] JALAGERI, Mallikarjun B. a G. C. MOHAN KUMAR, 2022. Hydroxyapatite Reinforced Polyvinyl Alcohol/Polyvinyl Pyrrolidone Based Hydrogel for Cartilage Replacement. *Gels*. 8(9). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels8090555.
- [175] JAYASH, Soher N., Paul R. COOPER, Richard M. SHELTON, Sarah A. KUEHNE a Gowsihan POOLOGASUNDARAMPILLAI, 2021. Novel Chitosan-Silica Hybrid Hydrogels for Cell Encapsulation and Drug Delivery. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(22). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms222212267.
- [176] APPEL, Eric A., Mark W. TIBBITT, Matthew J. WEBBER, Bradley A. MATTIX, Omid VEISEH a Robert LANGER, 2015. Self-assembled hydrogels utilizing polymer–nanoparticle interactions. *Nature Communications*. 6(1). ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/ncomms7295.
- [177] RIAZI, M. R., 2005. *Characterization and Properties of Petroleum Fractions*. West Conshohocken (Pennsylvania): American Society for Testing and Materials. ISBN 0-8031-3361-8.

- [178] KUO, Catherine K a Peter X MA, 2001. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*. 22(6), 511-521. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(00)00201-5.
- [179] RAHMAN, F., RAFIQUEE M. Z. A., AAZAM S., ALSHABI A. M., IQUBAL S. M. S, et al., 2020. Determination of Rate of Release of Dye from the Hydrogels using Spectrophotometer Studies. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2020-12-15. Dostupné z: doi:10.22377/ajp.v14i4.3817.
- [180] FENG, Yue, Marc TARABAN a Y. Bruce YU, 2012. The effect of ionic strength on the mechanical, structural and transport properties of peptide hydrogels. *Soft Matter*. 8(46). ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/c2sm26572a.
- [181] PRICE, William S., 1997. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 1. Basic theory. *Concepts in magnetic resonance*. 299-336. ISSN 1043-7347. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1099-0534(1997)9:5<299::AID-CMR2>3.0.CO;2-U.
- [182] EVANS, Stephanie M., Andrew L. LITZENBERGER, Anne E. ELLENBERGER, James E. MANEVAL, Erin L. JABLONSKI a Brandon M. VOGEL, 2014. A microfluidic method to measure small molecule diffusion in hydrogels. *Materials Science and Engineering: C*. 35, 322-334. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2013.10.035.
- [183] RICHBOURG, Nathan R. a Nicholas A. PEPPAS, 2021. High-Throughput FRAP Analysis of Solute Diffusion in Hydrogels. *Macromolecules*. 54(22), 10477-10486. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/acs.macromol.1c01752.
- [184] PIECHOCKI, Krzysztof, Kaloian KOYNOV, Justyna PIECHOCKA, Kordian CHAMERSKI, Jacek FILIPECKI, Paulina MACZUGOWSKA a Marcin KOZANECKI, 2022. Small molecule diffusion in poly-(olygo ethylene glycol methacrylate) based hydrogels studied by fluorescence correlation spectroscopy. *Polymer*. 244. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2022.124628.
- [185] JAIN, Era, Michael FLANAGAN, Saahil SHETH, Shiragi PATEL, Qi GAN, Birju PATEL, Adriana M. MONTAÑO a Silviya P. ZUSTIAK, 2020. Biodegradable polyethylene glycol hydrogels for sustained release and enhanced stability of rhGALNS enzyme. *Drug Delivery and Translational Research*. 10(5), 1341-1352. ISSN 2190-393X. Dostupné z: doi:10.1007/s13346-020-00714-7.
- [186] QUESADA-PÉREZ, Manuel a Alberto MARTÍN-MOLINA, 2021. Solute diffusion in gels: Thirty years of simulations. *Advances in Colloid and Interface Science*. 287. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2020.102320.
- [187] JANG, Seung Soon, William A. GODDARD a M. Yashar S. KALANI, 2007. Mechanical and Transport Properties of the Poly(ethylene oxide)–Poly(acrylic acid)

- Double Network Hydrogel from Molecular Dynamic Simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 111(7), 1729-1737. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp0656330.
- [188] HEGER, Richard, Martin KADLEC, Monika TRUDICOVA, Natalia ZINKOVSKA, Jan HAJZLER, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2022. Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach. *Gels*. 8(2). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels8020115.
- [189] GARNICA-PALAFIX, I.M., F.M. SÁNCHEZ-ARÉVALO, C. VELASQUILLO, et al., 2013. Mechanical and structural response of a hybrid hydrogel based on chitosan and poly(vinyl alcohol) cross-linked with epichlorohydrin for potential use in tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 25(1), 32-50. ISSN 0920-5063. Dostupné z: doi:10.1080/09205063.2013.833441.
- [190] KLUČÁKOVÁ, Martina, 2020. Agarose Hydrogels Enriched by Humic Acids as the Complexation Agent. *Polymers*. 12(3). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12030687.
- [191] FATIN-ROUGE, Nicolas, Konstantin STARCHEV a Jacques BUFFLE, 2004. Size Effects on Diffusion Processes within Agarose Gels. *Biophysical Journal*. 86(5), 2710-2719. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-3495(04)74325-8.
- [192] LAI, M. a B. LÜ, 2012. *Tissue Preparation for Microscopy and Histology. Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. Elsevier, 53-93. ISBN 9780123813749. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.00070-3.
- [193] GOLMOHAMADI, Mahmood a Kevin J. WILKINSON, 2013. Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion. *Carbohydrate Polymers*. 94(1), 82-87. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.046.
- [194] HEGER, Richard, Natalia ZINKOVSKA, Monika TRUDICOVA, Martin KADLEC, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2023. Lecithin as an Effective Modifier of the Transport Properties of Various Crosslinked Hydrogels. *Gels*. 9(5). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels9050367.
- [195] COHEN, Smadar, M. Carmen BANˆO, Marie CHOW a Robert LANGER, 1991. Lipid-alginate interactions render changes in phospholipid bilayer permeability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 1063(1), 95-102. ISSN 00052736. Dostupné z: doi:10.1016/0005-2736(91)90358-F.
- [196] KLAKEK, Marie-Cécile, Elodie LEFEBVRE, Laure RÉMY, Rémy AGNIEL, Julien PICARD, Sébastien GIRAUDIER a Véronique LARRETA-GARDE, 2013. Gelatin-Alginate Gels and Their Enzymatic Modifications: Controlling the Delivery of Small

- Molecules. *Macromolecular Bioscience*. 13(6), 687-695. ISSN 16165187. Dostupné z: doi:10.1002/mabi.201200386.
- [197] ABED, Mazin Ahmad a H.B. BOHIDAR, 2005. Surfactant induced softening in gelatin hydrogels. *European Polymer Journal*. 41(10), 2395-2405. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2005.04.027.
- [198] OSORIO, Fernando A., Elizabeth BILBAO, Rubén BUSTOS a Fresia ALVAREZ, 2007. Effects of Concentration, Bloom Degree, and pH on Gelatin Melting and Gelling Temperatures Using Small Amplitude Oscillatory Rheology. *International Journal of Food Properties*. 2007-10-26, 10(4), 841-851. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942910601128895.
- [199] MARTIN TORREJON, Virginia, Yanqiu DENG, Guidong LUO, Bingjie WU, Jim SONG, Song HANG a Dongmei WANG, 2021. Role of Sodium Dodecyl Sulfate in Tailoring the Rheological Properties of High-Strength Gelatin Hydrogels. *Gels*. 7(4). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels7040271.
- [200] SAXENA, A., T. ANTONY a H. B. BOHIDAR, 1998. Dynamic Light Scattering Study of Gelatin–Surfactant Interactions. *The Journal of Physical Chemistry B*. 102(26), 5063-5068. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp972556n.
- [201] BIBI, Azeem, Sadiq-ur REHMAN, Rashida FAIZ, Tasleem AKHTAR, Mohsan NAWAZ a Saira BIBI, 2019. Effect of surfactants on swelling capacity and kinetics of alginate-chitosan/CNTs hydrogel. *Materials Research Express*. 2019-08-01, 6(8). ISSN 2053-1591. Dostupné z: doi:10.1088/2053-1591/ab0697.
- [202] SHULL, Charles A. a S. P. SHULL, 1920. Absorption of Moisture by Gelatin in a Saturated Atmosphere. *Journal of Botany*. 7(8). ISSN 00029122. Dostupné z: doi:10.2307/2435247.
- [203] PAVLIUK, Bohdana, 2020. The development of composition and characterization of biodegradable hemostatic and absorbable sponges for medical application. *FARMACIA*. 2020-06-22, 68(3), 419-425. ISSN 00148237. Dostupné z: doi:10.31925/farmacia.2020.3.6.
- [204] BAGCHI, Biman, 2005. Water Dynamics in the Hydration Layer around Proteins and Micelles. *Chemical Reviews*. American Chemical Society, 105(9), 3197 - 3219. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr020661+.
- [205] MARRAS-MARQUEZ, T., J. PEÑA a M.D. VEIGA-OCHOA, 2014. Agarose drug delivery systems upgraded by surfactants inclusion: Critical role of the pore architecture. *Carbohydrate Polymers*. 103, 359-368. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2013.12.026.
- [206] AHMAD, Iqbal a Farrukh AQIL, ed., 2009. *New Strategies Combating Bacterial Infection*. John Wiley. ISBN 9783527322060.

- [207] VENNERSTROM, J L, M T MAKLER, C K ANGERHOFER a J A WILLIAMS, 1995. Antimalarial dyes revisited: xanthenes, azines, oxazines, and thiazines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39(12), 2671-2677. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.39.12.2671.
- [208] FÄRBER, P.M, L.D ARSCOTT, C.H WILLIAMS, K BECKER a R.H SCHIRMER, 1998. Recombinant Plasmodium falciparum glutathione reductase is inhibited by the antimalarial dye methylene blue. *FEBS Letters*. 422(3), 311-314. ISSN 00145793. Dostupné z: doi:10.1016/S0014-5793(98)00031-3.
- [209] MEISSNER, Peter E, Germain MANDI, Boubacar COULIBALY, et al., 2006. Methylene blue for malaria in Africa: results from a dose-finding study in combination with chloroquine. *Malaria Journal*. 5(1). ISSN 1475-2875. Dostupné z: doi:10.1186/1475-2875-5-84.
- [210] SCHIRMER, R. Heiner, Heike ADLER, Marcus PICKHARDT a Eckhard MANDELKOW, 2011. “Lest we forget you — methylene blue ...”. *Neurobiology of Aging*. 32(12), 2325.e7-2325.e16. ISSN 01974580. Dostupné z: doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.12.012.
- [211] ATREYA, Chloé E., Eric F. JOHNSON, John J. IRWIN, et al., 2003. A Molecular Docking Strategy Identifies Eosin B as a Non-active Site Inhibitor of Protozoal Bifunctional Thymidylate Synthase-Dihydrofolate Reductase. *Journal of Biological Chemistry*. 278(16), 14092-14100. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M212690200.
- [212] ZAMANI, Zahra, Alireza Sadeghi TAFRESHI, Hossein NAHREVANIAN, et al., 2012. Efficacy of Eosin B as a New Antimalarial Drug in a Murine Model. *Malaria Research and Treatment*. 2012, 1-5. ISSN 2090-8075. Dostupné z: doi:10.1155/2012/381724.
- [213] FISCHER, Andrew H., Kenneth A. JACOBSON, Jack ROSE a Rolf ZELLER, 2010. Hematoxylin and Eosin Staining of Tissue and Cell Sections. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2008(5). ISSN 1940-3402. Dostupné z: doi:10.1101/pdb.prot4986.
- [214] SAEDISOMEOLIA, Ahmad a Marziyeh ASHOORI, 2018. Riboflavin in Human Health: A Review of Current Evidences. *New Research and Developments of Water-Soluble Vitamins*. Elsevier, 2018, 57-81. Advances in Food and Nutrition Research. ISBN 9780128118030. Dostupné z: doi:10.1016/bs.afnr.2017.11.002.

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Zkratka	Význam
CTAB	cetyltrimethylammoniumbromid
SDS	dodecylsírán sodný
Triton X-100	2-[4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy]ethanol
UV/Vis	ultrafialovo-viditelná spektroskopie
IPN	interpenetrované polymerní sítě
sIPN	semi-interpenetrované polymerní sítě
AFM	mikroskopie atomárních sil
ECM	extracelulární matrice
M	β -D-manuronový zbytek
G	α -L-guluronátový zbytek
PVAI	polyvinylalkohol
CMC	kritická micelární koncentrace
CMT	kritická micelární teplota
LLC	lyotropní kapalný krystal
PL	fosfolipidy
DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
SDS-PAGE	elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti SDS
LVO	lineární viskoelastická oblast
BET	Brunauer-Emmet-Teller teorie
PEG	polyethylenglykol
PHEMA	poly(2-hydroxyethylmethakrylát)
HA	hydrofobní asociace
EPR	elektronová paramagnetická rezonance
DTAB	dodecyltrimethylammoniumbromid
SANS	maloúhlový rozptyl neutronů
NMR	nukleární magnetická rezonance
USANS	ultramaloúhlový rozptyl neutronů
PCEC	poly(ϵ -kapolakton)
UV	ultrafialové
PDGI	polydodecyl glyceryl itakonát
PAAm	polyakrylamid
DGI	dodecylglyceryl itakonát
AAm	akrylamid
MBAA	<i>N,N'</i> -methylenbis akrylamid
SAXS	maloúhlový rozptyl rentgenového záření
HyA	kyselina hyaluronová
PNIPAM	poly(<i>N</i> -isopropylakrylamid)
LP	latexové částice
HNt	hydroxyapatit

PVP	polyvinylpyrolidin
HPMC-X	hydroxypropylmethylcelulóza
FRAP	obnovení fluorescence po fotovybělení
FCS	fluorescenční korelační spektroskopie
PVAI-chit	polyvinylalkoholová a chitosanová směs
SEM	rastrovací elektronová mikroskopie
AG	agarózové hydrogely
ALG	alginátové hydrogely
3ITT	tří intervalový tixotropní test
ECH	epichlorohydrin
MM	methylenová modř
leuko-MM	leukomethylenová modř
WHO	Světová zdravotnická organizace
PC	fosfatidylcholin
PAL	povrchově aktivní látka
P-F68	Pluronic F-68
P-F127	Pluronic F-127
SE	sekundární elektron
VUT	Vysoké učení technické v Brně
R	referenční vzorek

10 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ

Symbol	Význam	Jednotka
c	koncentrace	$\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$
T	termodynamická teplota	K
σ_n	normálové napětí	Pa
ε	relativní prodloužení	–
Δl	prodloužení	m
l	délka	m
E	Youngův modul pružnosti v tahu	Pa
σ	smykové napětí	Pa
η	dynamická viskozita	$\text{Pa}\cdot\text{s}$
$\dot{\gamma}$	smyková rychlost	s^{-1}
G'	paměťový modul	Pa
G''	ztrátový modul	Pa
G^*	komplexní modul	Pa
δ	ztrátový úhel	°
n	mocninný modul	–
S	relaxační síla	$\text{Pa}\cdot\text{s}^n$
γ	amplituda deformace	%
G_E	relaxační modul	Pa
λ	relaxační čas	s
ρ_x	hustota zesíťení	$\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$
G	suma prvků relaxačních modulů	Pa
R	univerzální plynová konstanta	$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
ζ	velikost pórů	m
N_A	Avogadrova konstanta	mol^{-1}
D_r	deformační stav	%
G_0	paměťový modul na počátku 3. kroku (3ITT)	Pa
G'_i	paměťový modul v 1. kroku (3ITT)	Pa
R_r	relaxační (regenerativní) stav	Pa
G_k	paměťový modul na konci 3. kroku (3ITT)	Pa
$J(t)$	creepová poddajnost	Pa^{-1}
J_i	difúzní tok	$\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
n_i	látkové množství difundující složky	mol
t	čas	s
A	plocha	m^2
u_i	střední rychlost toku částic	$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
j	tok	$\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$
z	vzdálenost	m
D	difúzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
D_{eff}	efektivní difúzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
k_B	Boltzmannova konstanta	$\text{J}\cdot\text{K}^{-1}$

f	frikční koeficient	$\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$
T_K	Krafftova teplota	$^{\circ}\text{C}$
I_1	micelární kubická fáze	–
I_2	obrácená micelární kubická fáze	–
H_1	hexagonální fáze	–
H_2	obrácená hexagonální fáze	–
L_1	micelární fáze	–
L_2	obrácená micelární fáze	–
V_1	bikontinuální kubická fáze	–
V_2	obrácená bikontinuální kubická fáze	–
L_a	lamelární fáze	–
T_{gel}	teplota gelace	$^{\circ}\text{C}$
R_0	poloměr difundující látky	m
μ	viskozita	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
x	relativní hmotnost hydrogelu	g
m_t	hmotnost hydrogelu v čase t	g
m_0	hmotnost hydrogelu v nabotnalém stavu	g
m_a	stupeň absorpce vody	%
m_x	hmotnost xerogelu	g

11 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schématická reprezentace sIPN a IPN	12
Obrázek 2: Strukturní vzorec agarózy [28]	14
Obrázek 3: Želatina [41]	15
Obrázek 4: Chemická struktura alginátu, která vykresluje spojení manuronových a guluronátových zbytků.....	16
Obrázek 5: Polyvinylalkohol.....	16
Obrázek 6: Chitosan [55]	17
Obrázek 7: Změna fyzikálních vlastností a jejich diskontinuita spojená s tvorbou micel při CMC amfifilů ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59])	18
Obrázek 8: Struktura micely (převzato z [64]).....	19
Obrázek 9: Typický LLC fázový diagram amfifilů rozpuštěných ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59]) ..	20
Obrázek 10: Schématické znázornění typické progresse fází jako funkce koncentrace amfifilu rozpuštěného ve vybraném rozpouštědle (převzato z [59])	21
Obrázek 11: Vzorec lecitinu (fosfatidylcholinu) [71]	22
Obrázek 12: Binární fázový diagram pro lecitin z vaječného žloutku a sójových bobů. Lecitin ze sójových bobů je vyznačen v obrázku přerušovanou čarou. Jak je zřejmé z obrázku, tak se fázové chování obou lecitinů mezi sebou výrazně neliší [73]	23
Obrázek 13: Strukturní vzorec CTAB	24
Obrázek 14: Strukturní vzorec SDS	25
Obrázek 15: Strukturní vzorec Tritonu X-100	25
Obrázek 16: Viskozitní křivky pro různé látky (překresleno z [97]).....	27
Obrázek 17: Typický graf amplitudové deformace pro agarózové hydrogely	28
Obrázek 18: Typický graf frekvenčního testu pro agarózové gely	29
Obrázek 19: Typický graf tří intervalového tixotropního testu pro agarózový hydrogel	30
Obrázek 20: Typický graf creepového testu pro agarózový hydrogel.....	31
Obrázek 21: Zapojení horizontálních difúzních cel, akceptorová (vlevo), donorová (vpravo) a hydrogel v síťce mezi nimi	47
Obrázek 22: Graf amplitudového deformačního testu pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)	51
Obrázek 23: Graf frekvenčního testu pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo).....	52
Obrázek 24: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) fyzikálně síťovaných hydrogelů (agaróza 1 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)	53
Obrázek 25: Graf amplitudových deformačních testů pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)	54
Obrázek 26: Graf frekvenčních testů pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo).....	55
Obrázek 27: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) iontově síťovaných hydrogelů (alginát 2 hm.%) s různými přísadkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)	56

Obrázek 28: Graf amplitudových deformačních testů pro chemicky síťované hydrogely (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)	57
Obrázek 29: Graf frekvenčních testů pro chemicky síťované hydrogely (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) po přípravě (vlevo) a pro vysušené a rehydratované hydrogely (vpravo)	59
Obrázek 30: Sušení (vlevo) a rehydratace (vpravo) chemicky síťovaných hydrogelů (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)	60
Obrázek 31: Efektivní difúzní koeficienty fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelových a xerogelových vzorků s různými koncentracemi lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%), hydrogely (a) a xerogely (b) s rhodaminem 6G, hydrogely (c) a xerogely (d) s eosinem B a hydrogely (e) a xerogely (f) s amidovou černí 10B	62
Obrázek 32: Časový vývoj experimentů s uvolňováním barviva rhodaminem 6G (a), eosinem B (b) a amidovou černí 10B (c), studované optickými UV/Vis sondami pro fyzikálně síťované agarózové xerogely s různými koncentracemi lecitinu	63
Obrázek 33: Efektivní difúzní koeficienty iontově síťovaných alginátových hydrogelových a xerogelových vzorků s různými koncentracemi lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%), hydrogely (a) a xerogely (b) s rhodaminem 6G, hydrogely (c) a xerogely (d) s eosinem B a hydrogely (e) a xerogely (f) s amidovou černí 10B	67
Obrázek 34: Časový vývoj experimentů s uvolňováním barviva rhodaminem 6G (a), eosinem B (b) a amidovou černí 10B (c), studované optickými UV/Vis sondami pro iontově síťované alginátové xerogely s různými koncentracemi lecitinu	68
Obrázek 35: Koncentrace uvolněného barviva rhodaminu 6G z xerogelových vzorků pro experiment dlouhý několik dní (vlevo) a časový vývoj uvolňovacího experimentu (rhodamin 6G) pro prvních 60 minut, kontrolováno optickými UV/Vis sondami pro chemicky síťovaný PVAI-chitosan (vpravo)	71
Obrázek 36: Hodnoty difúzních koeficientů pro kladně nabitý rhodamin 6G, který se uvolňoval z chemicky síťovaných PVAI-chitosanových xerogelů s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%)	71
Obrázek 37: Časový průběh změny koncentrace rhodaminu 6G po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přísávkami lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele	73
Obrázek 38: Časový průběh změny koncentrace eosinu B po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přísávkami lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele	74
Obrázek 39: Časový průběh změny koncentrace amidové černi 10B po prostupu skrze fyzikálně (a) a iontově (b) síťované hydrogely s různými přísávkami lecitinu (0; 0,1 a 0,25 hm.%) v akceptorové horizontální difúzní cele	75
Obrázek 40: Snímky ze SEM pro fyzikálně síťované hydrogely (agaróza 1 hm.%) s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 5000×	76
Obrázek 41: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísávkami lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×	77
Obrázek 42: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísávkami lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×	78
Obrázek 43: Snímky ze SEM pro iontově síťované hydrogely (alginát 2 hm.%) s různými přísávkami lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 5000×	79
Obrázek 44: Povrchová morfologie iontově síťovaných alginátových hydrogelů s různými přísávkami lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×	80

Obrázek 45: Snímky ze SEM pro chemicky síťované hydrogely (PVAI 7,8 hm.% a chitosan 2,5 hm.%) s různými přísádky lecitinu (0; 0,5; 1 a 2 hm.%) v řezu. Originální přiblížení 1000×	81
Obrázek 46: Povrchová morfologie chemicky síťovaných PVAI-chitosanových hydrogelů s různými přísádky lecitinu zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 500×	82
Obrázek 47: Graf amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	83
Obrázek 48: Graf amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	84
Obrázek 49: Graf amplitudových deformačních testů pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	87
Obrázek 50: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	89
Obrázek 51: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	90
Obrázek 52: Graf frekvenčního testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	91
Obrázek 53: Graf průběhu 3ITT pro agarózové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	92
Obrázek 54: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	94
Obrázek 55: Graf průběhu 3ITT pro agarózové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	95
Obrázek 56: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	96
Obrázek 57: Graf průběhu 3ITT pro agarózové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	97
Obrázek 58: Graf průběhu 3ITT pro želatinové hydrogely (1 hm.%) s deformačním krokem dlouhým 20 s (a) a 120 s (b) s různými přísádky Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	98
Obrázek 59: Graf creepového testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky CTAB	99
Obrázek 60: Graf creepového testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky SDS.....	100
Obrázek 61: Graf creepového testu pro agarózové hydrogely (1 hm.%, a) a želatinové hydrogely (8 hm.%, b) s různými přísádky Tritonu X-100.....	101
Obrázek 62: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přísádky kladně nabitého tenzidu CTAB zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované CTAB (vpravo)	102
Obrázek 63: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přísádky kladně nabitého tenzidu CTAB zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované CTAB (vpravo)	103
Obrázek 64: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přísádky záporně nabitého tenzidu SDS zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované SDS (vpravo).....	104

Obrázek 65: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přísady záporně nabitého tenzidu SDS zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované SDS (vpravo).....	104
Obrázek 66: Průběh vysoušení agarózových hydrogelů s přísady neiontového tenzidu Tritonu X-100 zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro agarózové hydrogely modifikované Tritonem X-100 (vpravo)	105
Obrázek 67: Průběh vysoušení želatinových hydrogelů s přísady neiontového tenzidu Tritonu X-100 zaznamenáno pomocí analyzátoru vlhkosti (vlevo); analýza váhy vzorků v xerogelovém a rehydratovaném stavu pro želatinové hydrogely modifikované Tritonem X-100 (vpravo)	106
Obrázek 68: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	108
Obrázek 69: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	109
Obrázek 70: Difúze uvolňovacích experimentů methylenové modři z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	109
Obrázek 71: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	110
Obrázek 72: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi SDS (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	111
Obrázek 73: Difúze uvolňovacích experimentů eosinu B z agarózových (a) a želatinových (b) hydrogelů s různými koncentracemi Tritonu X-100 (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%).....	112
Obrázek 74: Difúze uvolňovacích experimentů riboflavinu z agarózových (a, c, e) a želatinových (b, d, f) hydrogelů s různými koncentracemi CTAB (a, b), SDS (c, d) a Tritonu X-100 (e, f) (0; pod CMC; 0,5; 1; 2 a 5 hm.%)	113
Obrázek 75: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísady CTAB zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×	114
Obrázek 76: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přísady CTAB zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×	115
Obrázek 77: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísady SDS zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×	116
Obrázek 78: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přísady SDS zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×	117
Obrázek 79: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných agarózových hydrogelů s různými přísady Tritonu X-100 zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 5000×	118
Obrázek 80: Povrchová morfologie fyzikálně síťovaných želatinových hydrogelů s různými přísady Tritonu X-100 zobrazeny pomocí metody SEM. Originální přiblížení 1000×	118

12 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Procentuální zastoupení látek v sójovém lecitinu [72].....	22
Tabulka 2: Hodnoty pro fyzikálně síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením.....	50
Tabulka 3: Hodnoty pro fyzikálně síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci.....	51
Tabulka 4: Hodnoty pro iontově síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením.....	55
Tabulka 5: Hodnoty pro iontově síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci.....	56
Tabulka 6: Hodnoty pro chemicky síťované hydrogely po přípravě, získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů před vysušením.....	58
Tabulka 7: Hodnoty pro chemicky síťované hydrogely získané z amplitudových deformačních a frekvenčních testů po vysušení a rehydrataci.....	59
Tabulka 8: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G.....	64
Tabulka 9: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem eosinem B.....	65
Tabulka 10: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro fyzikálně síťované agarózové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem amidovou černí 10B.....	65
Tabulka 11: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G.....	66
Tabulka 12: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem eosinem B.....	69
Tabulka 13: Hodnoty efektivních difúzních koeficientů získaných z výpočtů z uvolňovacích difúzních experimentů pro iontově síťované alginátové hydrogely a xerogely s různými koncentracemi lecitinu a záporně nabitým barvivem amidovou černí 10B.....	69
Tabulka 14: Difúzní koeficient (D_{eff}) získaný z výpočtů z analýzy uvolňovacích experimentů chemicky síťovaných PVAI-chitosanových xerogelů s různými přísadkami lecitinu s kladně nabitým barvivem rhodaminem 6G.....	70
Tabulka 15: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí kladně nabitého rhodaminu 6G.....	73
Tabulka 16: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí záporně nabitého eosinu B.....	74

Tabulka 17: Čas průchodu skrze hydrogel, koncentrace barviva v gelu a efektivní difúzní koeficient získaný z průtokových difúzních experimentů pro fyzikálně a iontově síťované hydrogely studované pomocí záporně nabitě amidové černi 10B	75
Tabulka 18: Specifický povrch pro fyzikálně síťované agarózové xerogely s přísávkou lecitinu získaný plynovou sorpcí	77
Tabulka 19: Specifický povrch pro iontově síťované alginátové xerogely s přísávkou lecitinu získaný plynovou sorpcí	79
Tabulka 20: Specifický povrch pro chemicky síťované PVAI-chitosan xerogely s přísávkou lecitinu získaný plynovou sorpcí	80
Tabulka 21: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agarózové hydrogely s přísávkou CTAB	83
Tabulka 22: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přísávkou CTAB	84
Tabulka 23: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agarózové hydrogely s přísávkou SDS.....	86
Tabulka 24: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přísávkou SDS.....	86
Tabulka 25: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 1 hm.% agarózové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100.....	88
Tabulka 26: Hodnoty získané z amplitudových deformačních testů pro 8 hm.% želatinové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100.....	88
Tabulka 27: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované kladně nabitým CTAB.....	89
Tabulka 28: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované záporně nabitým SDS.....	90
Tabulka 29: Hodnoty získané z frekvenčních testů a výpočtů velikosti pórů pro agarózové (1 hm.%) a želatinové (8 hm.%) hydrogely modifikované ne nabitým Tritonem X-100.....	91
Tabulka 30: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agarózové a želatinové hydrogely s přísávkou CTAB	93
Tabulka 31: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agarózové a želatinové hydrogely s přísávkou SDS.....	96
Tabulka 32: Hodnoty deformace a relaxace v závislosti na hodnotě G' v prvním kroku 3ITT s délkou deformačního kroku 20 a 120 s pro agarózové a želatinové hydrogely s přísávkou Tritonu X-100.....	97

13 VĚDECKÁ A PUBLIKAČNÍ ČINNOST

13.1 Články v impaktovaném časopise

HEGER, Richard, Martin KADLEC, Monika TRUDICOVA, Natalia ZINKOVSKA, Jan HAJZLER, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2022. Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach. *Gels*. 8(2). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels8020115.

HEGER, Richard, Natalia ZINKOVSKA, Monika TRUDICOVA, Martin KADLEC, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2023. Lecithin as an Effective Modifier of the Transport Properties of Various Crosslinked Hydrogels. *Gels*. 9(5). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels9050367.

13.2 Konferenční příspěvky

HEGER, Richard, Filip MRAVEC a Miloslav PEKAŘ. *The study of the hydrogel systems with micellar nanodomains and the effect of the pH changes on their properties*. 2020, 440-445. Dostupné z: doi:10.37904/nanocon.2020.3734.

HEGER, R.; MRAVEC, F. *Influence of pH and Its Changes on the System of Phase-Separated Hydrogels*. Studentská odborná konference Chemie je život - Sborník abstraktů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. s. 48-48. ISBN: 978-80-214-5807-9.

HEGER, R.; PEKAŘ, M. *Characterization of Hydrogels with Amphiphilic Structures*. Studentská odborná konference CHEMIE JE ŽIVOT 2020 Sborník abstraktů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2020. s. 66-67. ISBN: 978-80-214-5920-0.

HEGER, R.; KADLEC, M.; TRUDIČOVÁ, M.; ZINKOVSKA, N.; SMILEK, J. *Structural and Mechanical Analyses of Hydrogel Systems Modified by Lecithin Nanodomains*. Nanocon 2021 - Abstracts. Ostrava, CZ: Tanger Ltd., 2021. s. 96-96. ISBN: 978-80-88365-00-6.

ZINKOVSKA, N.; HEGER, R.; KADLEC, M.; TRUDIČOVÁ, M.; SMILEK, J. *How the presence of lecithin nanodomains affects the transport properties of hydrogels - potential controlled release drug delivery*. Nanocon 2021 - Abstracts. Ostrava, CZ: Tanger Ltd., 2021. s. 95-95. ISBN: 978-80-88365-00-6.

HEGER, R.; KADLEC, M.; ZINKOVSKA, N.; TRUDIČOVÁ, M.; SMILEK, J. *Lecithin as internal architecture modifier of hydrogels for model drug delivery systems with tunable properties*. 35th Conference of the European Colloid & Interface Society, Book of Abstracts (Poster Presentations). 2021. s. 255-255.

HEGER, R.; PEKAŘ, M. *Amphiphilic Substances as Hydrogel Modifiers*. XXII. WORKSHOP OF BIOPHYSICAL CHEMISTS AND ELECTROCHEMISTS. 2022. s. 38-38.

HEGER, R.; PEKAŘ, M. *Physical Hydrogels Modified by Amphiphiles: Rheology as a Tool for Hydrogel Characterization*. Nanocon 2022 Abstracts 14th International Conference on Nanomaterials - Research & Application. Ostrava, CZ: Tanger Ltd., 2022. s. 90-91. ISBN: 978-80-88365-07-5.

13.3 Projekty

AKTION 82p6 (2019)

Study on viscoelastic and flow properties of “smart hydrogels” in micro- and macroscale with respect to their application potential

- Účast na projektu a pobyt na JKU (Univerzita Johana Keplera v Linci, Rakousko).

TIRSMZP719 (2020)

Forecasting waste production and determining the composition of municipal waste

- Účast na projektu a chemická analýza komunálního odpadu.

KInG VUT (2021)

Design and analysis of novel extracellular matrix mimicking materials with tailored internal architecture targeted for drug delivery systems

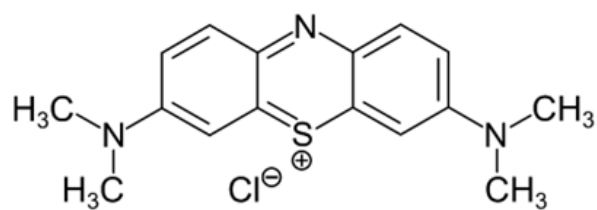
- Hlavní řešitel projektu, vedení projektu, správa financí, vedení týmu, publikace.

AKTION 94p1 (2022)

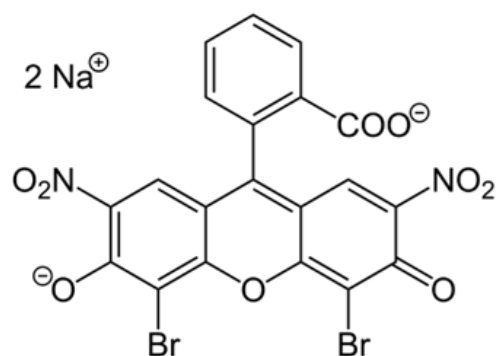
Deepening of knowledge about hydrogels with the controlled internal structure – CzechAustrian bilateral cooperation

- Účast na projektu a pobyt na JKU (Univerzita Johana Keplera v Linci, Rakousko).

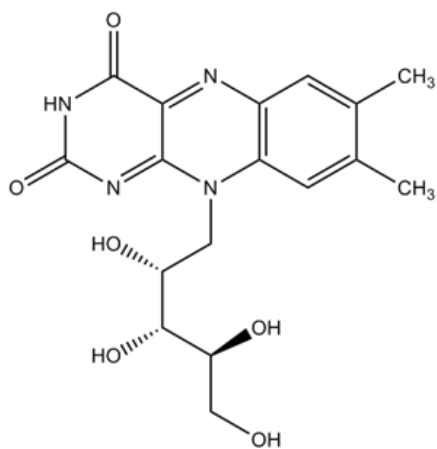
14 PŘÍLOHY



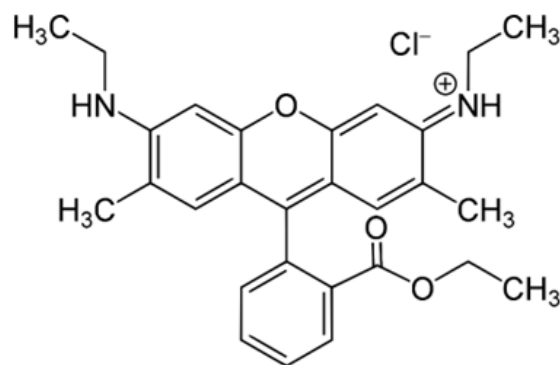
(a)



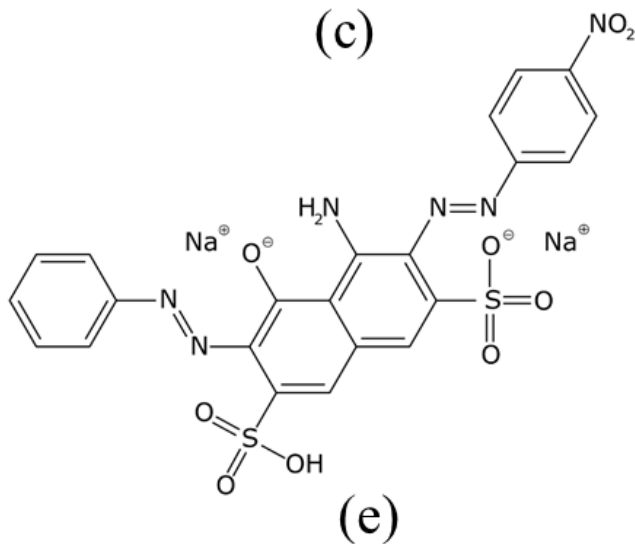
(b)



(c)



(d)



(e)

Obr. Příloha 1: methylenová modř (a), eosin B (b), riboflavin (c), rhodamin 6G (d), amidová černá 10B (e)



Obr. Příloha 2: Reometry DHR-2, TA Instruments (vlevo) a MCR92, Anton Paar (vpravo)



Obr. Příloha 3: Spodní a horní část vroubkované geometrie v nastavení deska-deska pro měření hydrogelových vzorků



Obr. Příloha 4: Analyzátor vlhkosti zapojený do notebooku



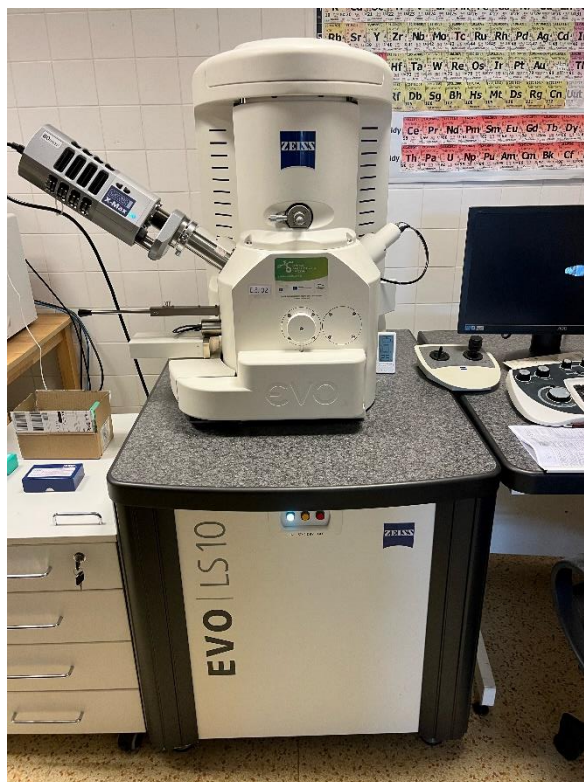
Obr. Příloha 5: Hydrogel v lyofilizovaném stavu



Obr. Příloha 6: Spektrometry Hitachi U3900H (vlevo) a Varian Cary 50 (vpravo)



Obr. Příloha 7: Průtokové měření transportních vlastností přes difúzní cely



Obr. Příloha 8: Rastrovací elektronový mikroskop (SEM) – ZEISS EVO LS 10



Obr. Příloha 9: Plynový sorpční analyzátor plynu NOVA 2200e

Příloha 1 – článek v impaktovaném časopise

HEGER, Richard, Martin KADLEC, Monika TRUDICOVA, Natalia ZINKOVSKA, Jan HAJZLER, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2022. Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach. *Gels*. 8(2). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels8020115. (IF: 4,6)

Article

Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach

Richard Heger ^{1,2,*} , Martin Kadlec ^{1,2} , Monika Trudicova ^{1,2} , Natalia Zinkovska ^{1,2}, Jan Hajzler ³, Miloslav Pekar ^{2,*}  and Jiri Smilek ^{2,*} 

¹ Materials Research Center, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Purkynova 118, 61200 Brno, Czech Republic; martin.kadlec@vut.cz (M.K.); xctrudicova@fch.vut.cz (M.T.); xczinkovska@fch.vut.cz (N.Z.)

² Institute of Physical and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Purkynova 118, 61200 Brno, Czech Republic

³ Institute of Materials Science, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Purkynova 118, 61200 Brno, Czech Republic; xchajzler@fch.vut.cz

* Correspondence: xchegerr@fch.vut.cz (R.H.); pekar@fch.vut.cz (M.P.); smilek@fch.vut.cz (J.S.)

Abstract: Nowadays, hydrogels are found in many applications ranging from the industrial to the biological (e.g., tissue engineering, drug delivery systems, cosmetics, water treatment, and many more). According to the specific needs of individual applications, it is necessary to be able to modify the properties of hydrogel materials, particularly the transport and mechanical properties related to their structure, which are crucial for the potential use of the hydrogels in modern material engineering. Therefore, the possibility of preparing hydrogel materials with tunable properties is a very real topic and is still being researched. A simple way to modify these properties is to alter the internal structure by adding another component. The addition of natural substances is convenient due to their biocompatibility and the possibility of biodegradation. Therefore, this work focused on hydrogels modified by a substance that is naturally found in the tissues of our body, namely lecithin. Hydrogels were prepared by different types of crosslinking (physical, ionic, and chemical). Their mechanical properties were monitored and these investigations were supplemented by drying and rehydration measurements, and supported by the morphological characterization of xerogels. With the addition of natural lecithin, it is possible to modify crucial properties of hydrogels such as porosity and mechanical properties, which will play a role in the final applications.

Keywords: lecithin; hydrogel; rheology; scanning electron microscopy; drying and swelling; extracellular matrix; mesh size



Citation: Heger, R.; Kadlec, M.; Trudicova, M.; Zinkovska, N.; Hajzler, J.; Pekar, M.; Smilek, J. Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach. *Gels* **2022**, *8*, 115. <https://doi.org/10.3390/gels8020115>

Academic Editor: Yang Liu

Received: 12 January 2022

Accepted: 11 February 2022

Published: 13 February 2022

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Hydrogels are hydrophilic polymers with a three-dimensional network structure that have the ability to absorb a large volume of water due to the presence of hydrophilic moieties, which makes them particularly suitable materials for biomedical applications (e.g., scaffolds) [1]. Selecting the pertinent components for the fabrication of the final hydrogel allows for a functional and applicable material with unique properties (e.g., porosity, biocompatibility, biodegradability) to be obtained. This exact customizable functionality makes these materials appropriate and desirable for a wide range of application areas (tissue engineering, pharmacy, water treatment, material engineering, etc.).

An equally important property of hydrogels is their ability to simulate and mimic biological systems such as the extracellular matrix (ECM), which is, in fact, a structural support network composed of diverse proteins, sugars, and other components. ECM regulates cellular processes including survival, growth, proliferation, migration, and differentiation [2]. Engineering a tailored in vitro environment mimicking the organized

structure of ECM is a huge challenge and a desired goal. Since the scaffolds must offer relevant properties sufficient for cellular function, hydrogels have an advantage as potential materials due to their tunable physico-chemical (electrical charge and pore size) and mechanical (stiffness, tensile strength) properties [3]. The majority of hydrogels are also biocompatible, for example, naturally derived polymers such as agarose, alginate, chitosan, collagen, fibrin, gelatin, hyaluronic acid, and dextran as well as biocompatible synthetic gels based on poly(ethylene glycol) (PEG), poly(vinyl alcohol) (PVA), and poly(hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) [4].

Since the 3D network structure of hydrogels is mainly responsible for their mechanical properties and porous microstructure, one of the possibilities of how to modify, upgrade, or tailor properties of hydrogels is to incorporate hydrophobic or micellar domains into the gel structure [5].

Pure hydrophobic association (HA) hydrogels refer to physically crosslinked hydrogels formed by hydrophobic interactions, which account for 5–20% of the total amount of polymer. The bulk of hydrophobic association hydrogels are produced by micellar copolymerization [6]. For instance, Tuncaboğlu et al. attempted to improve the low mechanical strength of self-healing hydrogels by creating hybrid hydrogels with strong hydrophobic interactions between hydrophilic polymers mediated by the large hydrophobic moiety of a physical crosslinker (stearyl methacrylate) [7]. The addition of NaCl to the reaction solution during the copolymerization of large hydrophobes (stearyl methacrylate (C18)) with the hydrophilic monomer acrylamide (AAm) in an aqueous solution of sodium dodecyl sulfate (SDS) led to micellar growth and the solubilization of the large hydrophobes within the SDS micelles. Rheological measurements showed that the hydrophobic associations surrounded by surfactant micelles acted as reversible breakable crosslinks responsible for the rapid self-healing of the hydrogels [7].

An alternative approach to enhance the toughness of the hydrogel network is to introduce particles as additional crosslinking points (e.g., latex particles, nanoparticles) [6]. Latex particles (LPs) that are usually prepared via emulsion polymerization ensure effective energy dissipation and provide hydrogels with higher mechanical properties. Gu et al. [8] proposed a method that encompassed the adsorption of the hydrophobic alkyl chains of hydrophobic monomers on the surface of the latex microspheres and their subsequent stabilization in the presence of surfactants, thus forming hydrophobic association centers as the first physical crosslinking points. Moreover, anionic sulfate radicals (originating from the dissociation of the persulfate) were attracted toward the cationic chains of latex microspheres (obtained via surfactant-free emulsion copolymerization of styrene with a vinylidene comonomer bearing a cationic side group) and formed secondary physical crosslinking centers. The incorporation of cationic latex microspheres led to an improvement in the tensile and compression strength of the modified hydrogel compared with pure hydrophobic association hydrogel.

Since inorganic nanoparticles have a high specific surface area, their incorporation into the hydrogel network could also improve its mechanical behavior relating to surface structure and charging [6]. At the same time, the introduction of calcium carbonate nanoparticles [9], hydroxyapatite [10], kaolin [11], and laponite particles [12] could also induce hydrogel adhesion.

On the other hand, the embodiment of polymeric nanoparticles provides the ability to encapsulate both hydrophobic and hydrophilic substances [6]. In addition, Arno et al. investigated how particle morphology (e.g., particle shape, size, and surface) affected the adhesion and mechanical properties of the resultant calcium-alginate hydrogels [13]. The authors demonstrated that 2D platelets substantially improved both the adhesion between hydrogel surfaces and the material's mechanical strength when blended into the polymeric network compared to their 0D spherical or 1D cylindrical counterparts.

The properties of hydrogels, as mentioned previously, can be adapted not only through the appropriate choice of materials and crosslinking techniques, but also by modifying the internal structure of the gel by using a structure modifier such as lecithin during the

preparation process. It should be remembered that lecithin is a typical amphiphilic phospholipid mixture primarily containing distearoylphosphatidylcholine, which possesses good biocompatibility and capability to enhance the bioavailability of co-administered drugs [14]. Lecithin in water systems can self-assemble into array of liquid-crystalline structures depending on the amount of water and temperature. The most likely structures formed under normal working laboratory conditions are lamellar liquid-crystalline structures [15]. Moreover, varying the ratio of lecithin in the multi-component hydrogel system may further improve the applicability and functionality of designed gels. The transport and mechanical properties of materials are given by their internal structure and can be greatly affected by its rearrangement.

Among the different types of lecithin-based systems, the most common platforms in this area are liposomes and microemulsions [16]. Liposomes are an example of soft phospholipid nanoparticles with typical diameters of around 100 nm [17]. Due to their closed vesicular structure, hydrophilic active compounds could be embedded into their internal water compartments, while hydrophobic compounds could be loaded into the bilayer of the liposome. In most cases, lecithin-based liposomal hydrogels are used as carriers; nevertheless, such systems still have certain disadvantages such as a slow and uncontrolled process of drug release [18]. In contrast, lecithin microemulsion-based gels or organogels have some advantages over liposomal hydrogels such as an easier preparation procedure, an absence of organic solvents, and higher storage stability due to the thermodynamic stability of microemulsions [19]. The matrix of lecithin microemulsion-based gels is composed of lecithin, which acts as a surfactant as well as a gelling agent in the presence of a nonpolar organic solvent (external phase) or a polar agent, which is usually water.

Substantial research is focused on modifying the internal structures of hydrogels, however, to the best of our knowledge, there has previously been no systematic study investigating the preparation and targeted modification of the internal structures of biocompatible hydrogels that focused on the use of natural amphiphilic substances and their crucial (e.g., mechanical) application properties.

Thus, this work focuses on the effect of the structure modifier lecithin (as stated before, the lecithin is able to self-organize into liquid-crystalline structures) and its concentration on the resultant mechanical properties of differently crosslinked hydrogels. The results of this work could provide a deeper understanding of the interactions between lecithin and the hydrogel network, and, alternatively, between lecithin and model drugs. Lecithin aggregates in hydrogels can also be viewed as a model of phospholipid structures (like cell membranes) occurring in real tissues, and thus as a model of their potential impact on the rheological or transport properties of the extracellular matrix.

2. Results and Discussion

On the basis of the prior experience of our team and in an attempt to investigate the effect of different crosslinking strategies on the final properties of hydrogels, the following materials were selected: agarose as a physically crosslinked hydrogel, alginate crosslinked by polyvalent ions as an ionically crosslinked hydrogel, and PVA-chitosan as a chemically crosslinked hydrogel.

As stated in Section 4, for each type of crosslinking, four different samples were investigated. Three samples with lecithin additions at different concentrations (0.5, 1, and 2 wt.%) were labeled according to their lecithin concentration (i.e., “0.5”, “1” and “2”). The fourth sample was a reference sample without lecithin, simply marked as “R”. The lecithin concentrations were selected on the basis of preliminary experiments focused mainly on estimating the maximum amount of lecithin that could be incorporated into the hydrogel matrix.

2.1. Physical Crosslinking

Agarose was a representative of the physically crosslinked hydrogel matrix, whose properties were affected by lecithin content. Hydrogel samples after preparation as well as

samples after the drying and rehydration procedure were studied (schematic figure of the preparation procedure can be seen in the Supplementary Materials Figure S1).

2.1.1. Rheology

Amplitude sweep results for physically crosslinked hydrogels obtained under an applied oscillatory strain of 1 Hz suggest that differences in lecithin concentration have, from a viscoelastic property point of view, a minimal influence on the hydrogel structure after preparation, especially with respect to the width of the linear viscoelastic region (as can be seen in Figure 1a). The storage as well as the loss modulus gradually increased with increasing lecithin concentration, which might be due to the overall higher dry content of the hydrogels. The effect of lecithin concentration on the viscoelastic properties of agarose hydrogels was also minimal in the linear viscoelastic region (LVR), which is the range of the values of storage modulus where the hydrogel is able to resist the applied oscillatory strain and can thus indicate the strength of non-covalent hydrogel nodes. Probably, the strength of the physically crosslinked hydrogel is provided mainly by non-covalent weak interactions (H-bonding) between the chains of agarose. Lecithin only had a small effect on the viscoelastic properties of 1 wt.% aq. agarose. The obtained values marking the end of the LVR were very similar for all samples physically crosslinked (Table 1). The values reported in the tables were either obtained by rheology software (TRIOS TA Instruments) analyses (cross-over point, average moduli values in LVR) or calculated. The end of LVR was obtained by comparing the average value of storage modulus in LVR with each point, where the deviation greater than 5% marked the end of the LVR. The mesh size calculations are described in Section 4.2. The cross-over point ($G' = G''$), the point at which the hydrogel was irreversibly damaged, was very similar for all samples.

Table 1. Values for physically crosslinked agarose hydrogels after preparation obtained from strain and frequency sweep tests before drying.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	157.5 ± 4.1	425.8 ± 2.2	3299 ± 277	366 ± 28	2.5 ± 1.0	13.3 ± 0.1
0.5	207.9 ± 2.1	414.1 ± 4.5	4576 ± 12	551 ± 15	1.8 ± 0.0	13.4 ± 0.4
1	194.9 ± 10.7	433.2 ± 10.2	4002 ± 81	461 ± 4	1.8 ± 0.0	12.7 ± 0.1
2	224.5 ± 0.0	468.0 ± 2.9	4880 ± 27	529 ± 8	1.8 ± 0.0	12.9 ± 0.3

The same amplitude sweep tests were performed on samples dried to the xerogel form and again rehydrated. The amount of absorbed water had a significant effect on these samples. As can be seen from Figure 1b as well as from the dry matter content experiments (Section 2.1.2), the samples with the highest lecithin content were able to reabsorb the largest amount of water (twice as much water as the sample without lecithin). This was also reflected in the amplitude sweep results because the moduli values for these hydrogels decreased proportionately. The reference sample had the highest moduli values, whereas the lowest values were observed for the samples with the greatest lecithin concentrations. The moduli values were somewhat larger than those for the samples studied after preparation (Table 2), mainly due to the elevated values of the swelling degrees of the systems after drying and rehydration in comparison with those of the just prepared hydrogels. Lecithin, therefore, favored water absorption. For the physically crosslinked hydrogels, even the cross-over point was affected, and samples with higher lecithin concentrations shifted the cross-over point to higher strain values. This could be the effect of the attractive interactions between lecithin and the polysaccharide chains, leading to the reinforcement of the hydrogels obtained after their drying and rehydration. In the initially prepared hydrogels, lecithin was dispersed to a greater extent in a liquid medium without this (strong) effect. This could be explained by the H-bonding between polysaccharide chains and lecithin,

which are more significant for the rehydrated hydrogels because of the absence of water (in xerogel), which could not interfere. The same could be observed for the cross-over point, which again gradually increased with lecithin concentration.

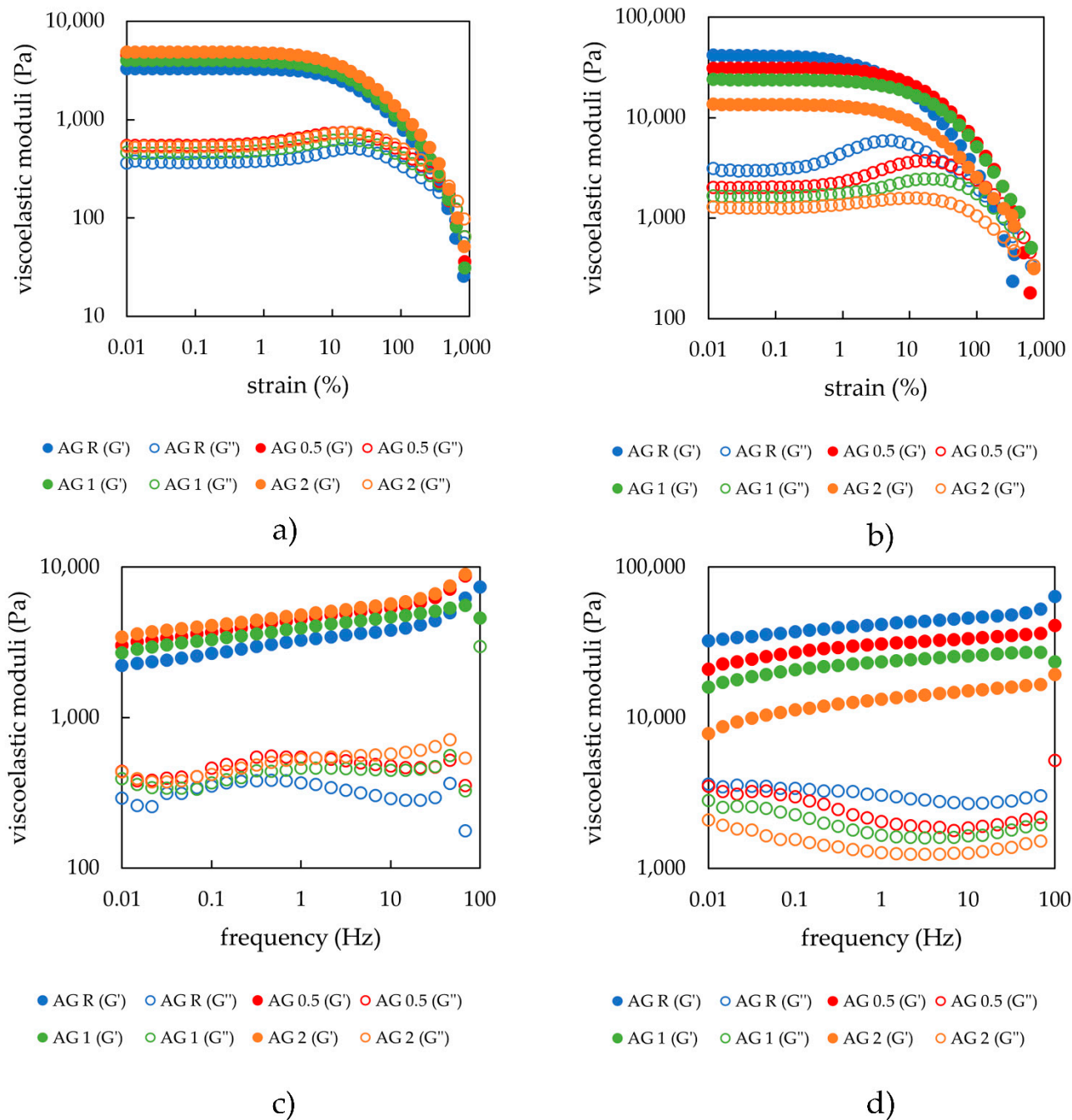


Figure 1. (a) Strain sweep of agarose hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (b) strain sweep of agarose hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels; (c) frequency sweep of agarose hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (d) frequency sweep of agarose hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels.

Table 2. Values obtained from strain and frequency sweep tests for physically crosslinked agarose hydrogels after drying and rehydration.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	1814 ± 340.6	250.4 ± 131.7	41,386 ± 10,517	2977 ± 707	0.3 ± 0.1	7.6 ± 1.1
0.5	1005.7 ± 142.9	718.5 ± 129.3	31,216 ± 980	2010 ± 4	1.2 ± 0.5	7.6 ± 0.2
1	542.7 ± 0.0	1148.7 ± 0.0	23,829 ± 3	1642 ± 118	1.4 ± 0.3	8.2 ± 0.1
2	350.8 ± 35.5	1257.6 ± 12.2	13,506 ± 1217	1256 ± 122	0.9 ± 0.0	9.0 ± 0.3

Frequency sweep test results are presented in Figure 1 and show that the shape of the rheograms for all hydrogel samples was very similar. The storage modulus was dominant, which means that the samples act as a fully crosslinked gel material with a fully crosslinked internal structure. The trend of the moduli values was the same as that observed for the amplitude sweep tests and therefore indicates that the lecithin addition increased the values of the storage moduli as well as of the loss moduli, which was well correlated with the higher dry matter content, as previously stated. With increasing oscillation frequency values, the moduli values increased, which means that the hydrogel samples were not completely relaxed, and the degree of relaxation was influenced by the type of crosslinking. Practically, the average relaxation time of the hydrogel network exceeds the period associated with the progressively increasing frequency of the applied oscillatory deformations. The values of the mesh size of the internal structure of the hydrogels calculated from the frequency sweep tests using Equations (3) and (4) are recorded in Tables 1 and 2. The results for the freshly prepared hydrogels showed the same trend as other rheological data (i.e., that the mesh size does not differ substantially between the concentrations), whereas for the rehydrated xerogels, a slight increase could be observed at higher lecithin concentrations, which can be explained by lecithin fitting itself into the pores and thus increasing its size. This could be explained by lecithin forming lamellar liquid-crystalline structures in absorbed water along with the already mentioned H-bonding between the polysaccharide chains and lecithin. When comparing the absolute values of mesh sizes for freshly prepared and rehydrated hydrogels, we can see that the pores decreased in size after rehydration.

Based on the results of the strain and frequency sweeps performed onto the freshly prepared agarose hydrogels, it can be seen that lecithin, as an amphiphilic natural component, does not lead to a substantially modified viscoelastic behavior of these physically crosslinked hydrogels in the range of lecithin concentrations used (see Figure 1a,c). Agarose, which forms a thermoreversible physical hydrogel in an aqueous medium in the form of a natural linear polysaccharide, was not expected to interact significantly with amphiphilic lecithin. Thus, it was not expected that agarose could significantly interact with amphiphilic lecithin. Lecithin thus serves only as a filler, and does not interfere significantly with the internal structure of the hydrogel. Therefore, lecithin plays an important role in the rehydration of dried samples. Thus, an increasingly higher content of lecithin in the structure of such type of hydrogels causes the viscoelastic moduli storage and loss moduli to gradually decrease. Practically, the presence of lecithin affects the ability of agarose xerogels (hydrogel after drying) to reabsorb water (i.e., to swell) (see Figures 1b,d and 2). The final viscoelastic properties of hydrogels are definitely affected by the amount of dispersion medium (water) after the swelling of xerogels. If the addition of lecithin, as the modifier of the internal architecture of hydrogels, is able to change the swelling properties, it will also definitely change the viscoelastic properties due to the different amount of water. From the applicative point of view, this finding is absolutely essential, given that by choosing a suitable concentration of additive (lecithin), we were able to prepare hydrogels with the required properties (especially viscoelastic) tailored to a specific purpose.

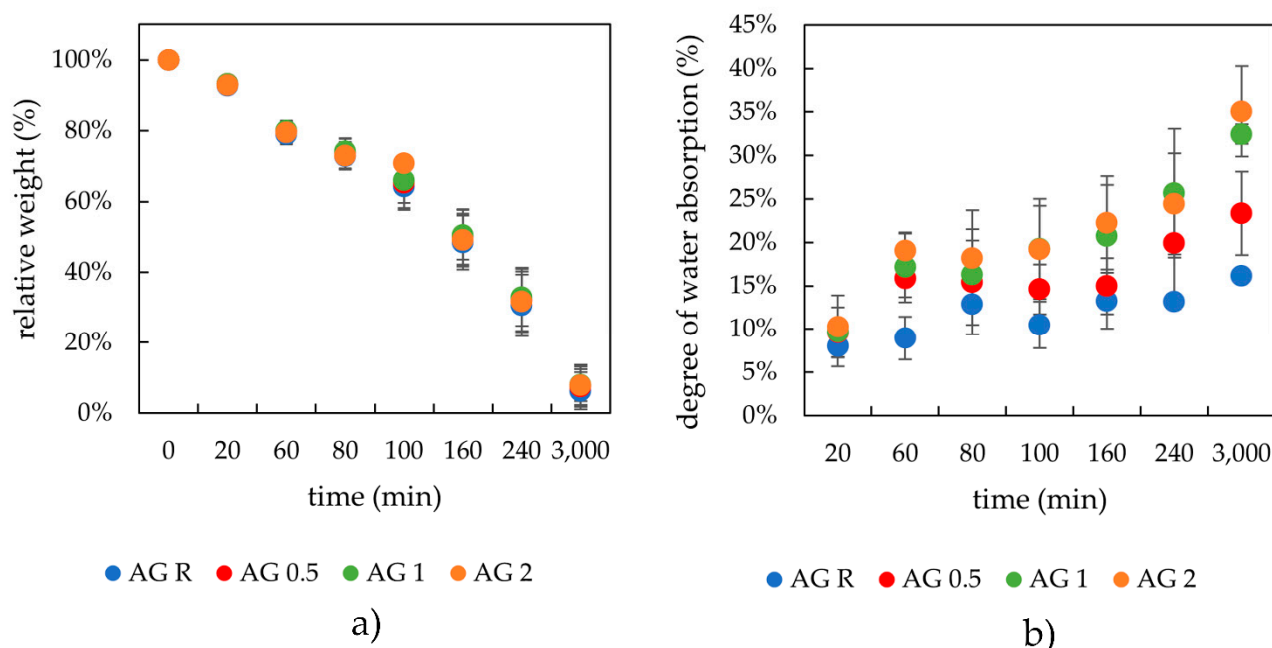


Figure 2. Drying (a) and rehydration (b) of the physically crosslinked agarose hydrogels with different contents of lecithin.

2.1.2. Drying and Rehydration Measurements

The amounts of water and dry matter associated with the studied gels are two of the most important parameters for hydrogel characterization and future applicability. Dry matter affects the behavior of the final material. The same is true for the water inside the hydrogel, which significantly affects, for example, the transport properties. As stated in Section 1, these parameters predetermine the applicative nature of the final system.

The results of the drying kinetics of physically crosslinked hydrogels can be seen in Figure 2a. At the start of these experiments, all weights of the hydrogels (2 ± 0.2 g) and xerogels were comparably the same. It can be seen that the lecithin addition had no influence on the drying kinetics. The most likely explanation is that water retained by lecithin is not bound as tightly as water hydrating agarose. Conversely, during the swelling process, hydrogel with lecithin easily draws water (more easily than the agarose hydrogel solely) and this resulted in the lecithin-agarose samples showing a higher swelling ability with corresponding lower moduli (Figure 1). The swelling experiments demonstrated the influence of lecithin on the swelling capacity. Therefore, the lecithin structures insert themselves into the hydrogel pores and support the water intake. The kinetics of the swelling process was very similar for all samples, with a peculiarity noted at the onset of the experiment, where the samples richer in lecithin (1 and 2 wt.%) revealed a greater rate of water absorption. Additionally, the same systems (agarose with 1 and 2 wt.% of lecithin) were able to absorb the largest amount of water.

2.1.3. Morphological Characterization of Xerogels

Morphological characterization was performed on dried samples; therefore, the results may not correspond to the results obtained from methods where hydrogels are studied in native form (specifically, rheology). From the results obtained by scanning electron microscopy (SEM), the effect of lecithin addition could be observed in sectional view. The surfaces of these xerogels were smooth and with no visible pores on the micrometer scale. In sectional view, the lecithin-free xerogel exhibited a layered structure of polymer fibers with no visible interferences (see Figure 3). The same layered morphology was also observed for xerogels of agarose with different contents of lecithin even though there were regions of fusion of adjacent layers. Overall, the general morphology, practically devoid of pores

as revealed by SEM, is most likely due to a compact structure resulting via the air drying procedure applied to hydrogels to finally obtain xerogels.

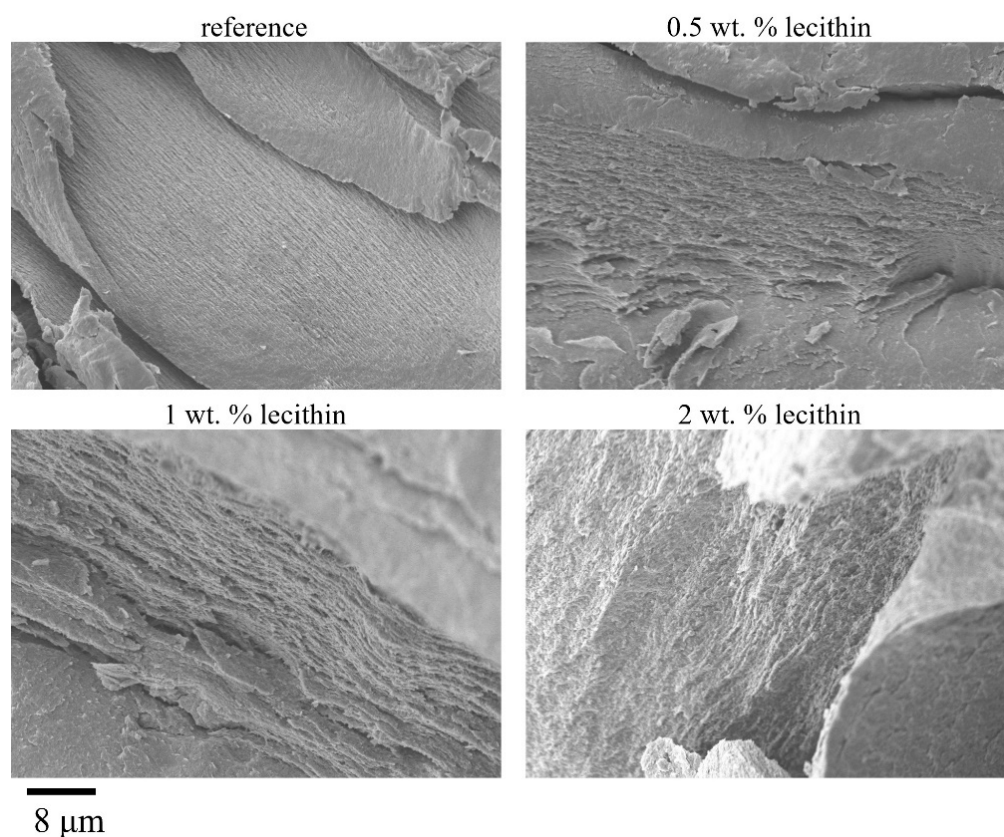


Figure 3. Physically crosslinked agarose xerogels with different lecithin contents observed in sectional view by SEM. Magnification 5000 \times .

For these xerogels, gas sorption measurements were also performed (Table 3). The low values of the specific surface suggest a lack of the pore structure of xerogels, with a slight dependence on the compactness of layered morphology of these systems in dry state. Even if the results of gas sorption are in line with those of SEM investigation, the gas sorption method is not quite a suitable technique for determining the structure of these xerogels.

Table 3. Specific surface area for physically crosslinked agarose xerogels with the addition of lecithin determined by gas sorption.

Concentration of Lecithin (wt.%)	Specific Surface Area (m ² /g)
0 (R)	3.4
0.5	1.0
1	1.9
2	2.1

2.2. Ionic Crosslinking

Sodium alginate crosslinked by the calcium chloride in the two to one weight ratio was a representative of the ionically crosslinked hydrogel matrix, where the negatively charged poly(guluronic) acid units of alginate ($-\text{COO}^-$) interact with the polyvalent ions (Ca^{2+}) to form a bond (schematic figure of the preparation procedure can be seen in Supplementary Materials, Figure S2). The final properties were also affected by lecithin addition. Hydrogel samples, both after preparation and dried and rehydrated, were studied by rheology, drying, and rehydration as well as morphological characterization.

2.2.1. Rheology

Ionically crosslinked hydrogels also underwent amplitude sweep tests. What is immediately observable is the decreasing trend of moduli for the freshly prepared samples as lecithin content increase (see Figure 4a). One of the reasons for this is the water intake during gelling, which increases for samples with ascending lecithin concentration (Section 2.2.2), the amphiphilic component playing a major role in the preparation of ionically crosslinked hydrogels. Larger lecithin addition also modified some characteristics of the hydrogels (see Table 4). The average moduli values in LVR steadily decreased after lecithin addition, thus making the gel softer. The most likely explanation is that after the crosslinking of alginate by calcium ions, free calcium chloride is still present in the system and is able to interact with the added lecithin micelles due to its dissociated form. Higher lecithin content causes a competitive interaction and as a result, lecithin displaces the calcium ions in the crosslinked alginate. Further lecithin could interact with the alginate via quaternary ammonia or with the calcium ions via negatively charged phosphate residues. For the moduli decrease, we could suggest that newly formed nodes are weaker and, in a lesser amount compared with the original alginate gel. Such competitive interactions were observable even during sample preparation, where the precipitate was visible on the surface of the solution. They were also confirmed by viscosity measurements, where the solution of calcium chloride and lecithin had higher viscosity values than expected, based on the viscosity of lecithin in water and of calcium chloride in water (figure is available in Supplementary Materials Figure S3). Other rheological data were very similar for the samples and, as stated earlier, the biggest differences were in the moduli values, thus in the hydrogel strength.

Table 4. Values for ionically crosslinked alginate hydrogels after preparation obtained from strain and frequency sweep tests before drying.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	150.4 ± 9.1	260.4 ± 18.6	1667 ± 192	165 ± 23	1.7 ± 0.0	10.9 ± 0.4
0.5	158.6 ± 12.5	275.3 ± 24.4	2138 ± 480	245 ± 66	1.3 ± 0.0	11.0 ± 0.7
1	110.8 ± 1.2	260.8 ± 5.4	1052 ± 1	104 ± 0	1.6 ± 0.3	13.8 ± 1.9
2	65.3 ± 17.9	278.2 ± 9.0	468 ± 15	41 ± 0	2.1 ± 0.4	17.3 ± 1.5

The rehydrated samples followed a similar trend with respect to the moduli values, where these values decreased with increasing lecithin concentration. Average moduli values in LVR reported in the table below (Table 5) were higher than those presented in Table 4 because the rehydrated samples were not able to reabsorb the same amount of water as the freshly prepared hydrogels. Such behavior could be due to a compact arrangement favored by non-covalent interactions (mainly ionic interactions induced by Ca²⁺ ions onto both alginate and lecithin components) during the drying process.

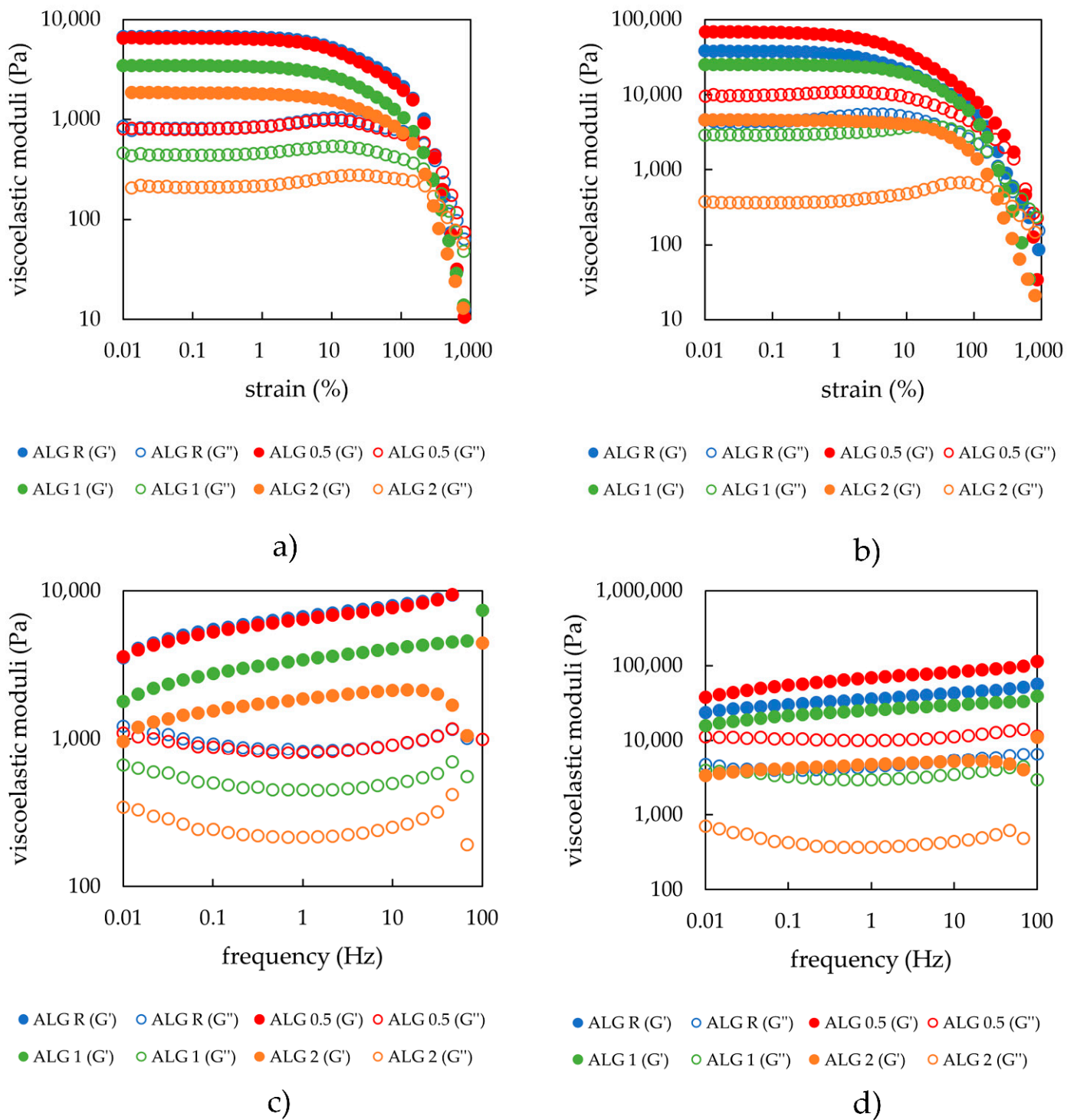


Figure 4. (a) Strain sweep of alginate hydrogels with the addition of different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (b) strain sweep of alginate hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels (frequency applied 1 Hz); (c) frequency sweep of alginate hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (d) frequency sweep of alginate hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels.

Table 5. Values for ionically crosslinked alginate hydrogels after drying and rehydration obtained from the strain and frequency sweep tests.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	479.2 ± 129.7	210.8 ± 119.7	26,342 ± 13,355	3191 ± 1346	1.6 ± 0.4	4.6 ± 1.4
0.5	894.9 ± 612.4	522.6 ± 51.8	68,513 ± 17,434	9861 ± 1533	0.6 ± 0.6	12.3 ± 2.1
1	1179.5 ± 106.7	209.1 ± 37.3	25,386 ± 741	2912 ± 45	1.2 ± 0.2	8.3 ± 1.8
2	553.5 ± 24.3	189.5 ± 17.4	4599 ± 500	1842 ± 1447	2.4 ± 0.0	7.6 ± 0.5

The rheograms obtained during the frequency sweep tests (expressed as viscoelastic moduli on applied frequency) (Figure 4c) obeyed the same order as those that resulted from the amplitude sweep tests (storage and loss moduli as a function of oscillatory applied strain of 1 Hz) (Figure 4a) for all the studied alginate and alginate-lecithin hydrogels. The calculated mesh size from the rheological (frequency sweep) measurement for freshly prepared ionically crosslinked alginate hydrogels indicated the effect of lecithin on the structural properties of these hydrogels. The higher addition of lecithin causes a higher mesh size (more than 50% if the hydrogels without/with 2 wt.% of lecithin is compared). The effect of lecithin concentration was also not observed for dried and rehydrated hydrogels. Although ionically crosslinked hydrogels have the ability to reabsorb the dispersion medium and again create a network internal structure by water intake, the internal structure of these hydrogels is probably damaged by the air-drying process. Moreover, swelled hydrogels differ in mesh size values in comparison with freshly prepared (e.g., hydrogels with 2 wt.% of lecithin had a mesh size of 17.3 nm while the mesh size of the hydrogels with the same concentration of lecithin after swelling was 7.6 nm). Therefore, the effect of lecithin on the mesh size of hydrogels repeatedly prepared by drying and swelling in water medium was negligible.

2.2.2. Drying and Rehydration Measurements

The drying curves for the alginate-lecithin systems were very similar almost irrespective of the lecithin content, in contrast to the drying dependence obtained for the freshly prepared hydrogels of alginate solely (Figure 5a). The different kinetics regarding the rate of water loss during the drying step could be due to the way lecithin fills the hydrogel pores and holds water within, and also due to the favorable electrostatic Ca²⁺-lecithin interactions, which influence the hydrogel structure and thus enable it to better hold water. As for the swelling after drying, it can be observed that the samples with higher lecithin concentrations were able to absorb water more rapidly and to a higher capacity, which is again due to the modified hydrogel network due to the presence of lecithin.

2.2.3. Morphological Characterization of Xerogels

SEM images taken for xerogels prepared by ionic crosslinking show the effect of lecithin on the surface morphology of the samples (see Figure 6). Surface morphology of lecithin-free samples and of those with 0.5 wt.% lecithin exhibited a roughness due to the many micrometer-sized crystals of CaCl₂ resulted after air-drying. Instead, the surface of xerogels with 1 and 2 wt.% lecithin is practically devoid of crystalline aggregates, with some degree of roughness, which led to a more compact structure of these mixed systems in their dry state. The morphological characteristics microscopically revealed are in accordance with the decreasing tendency of the specific surface values (from gas sorption measurements, Table 6) as the lecithin content rose. On the other hand, the lack of CaCl₂ crystalline aggregates for the systems with a higher lecithin content (1 and 2 wt.%) could be related to Ca²⁺ consumption in favorable electrostatic interactions with lecithin anions, which means that the crystalline structures observed in the case of alginate xerogels

without lecithin and for those with 0.5 wt.% lecithin could be due to the excess of CaCl_2 contained in these explored samples.

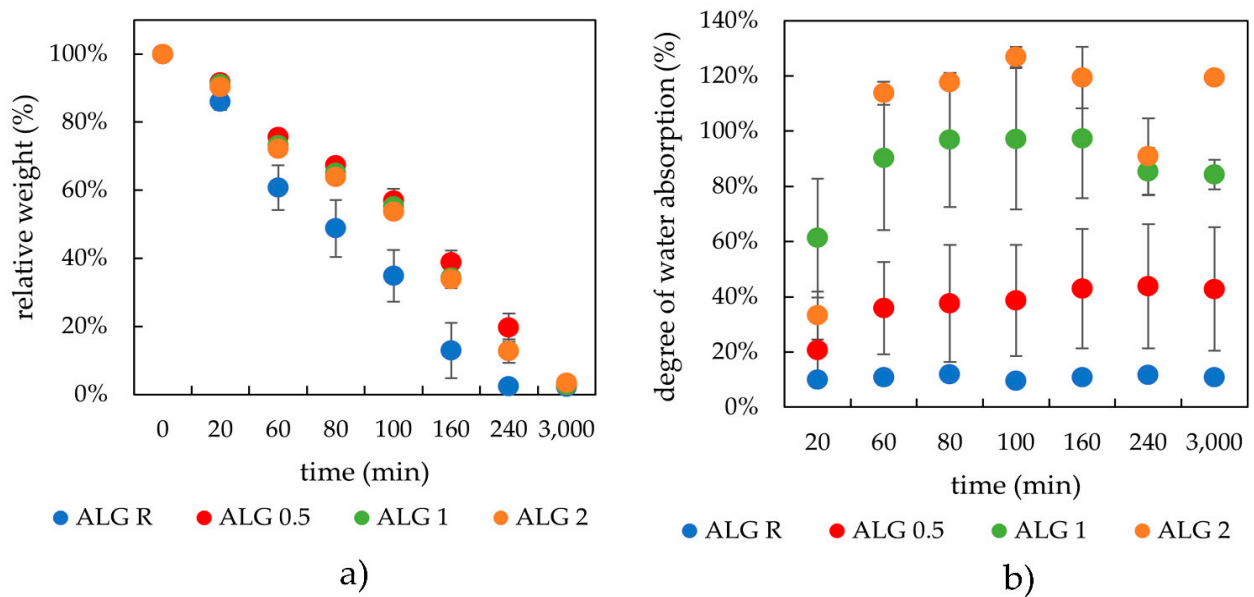


Figure 5. Drying (a) and rehydration (b) of ionically crosslinked alginate hydrogels with different lecithin content.

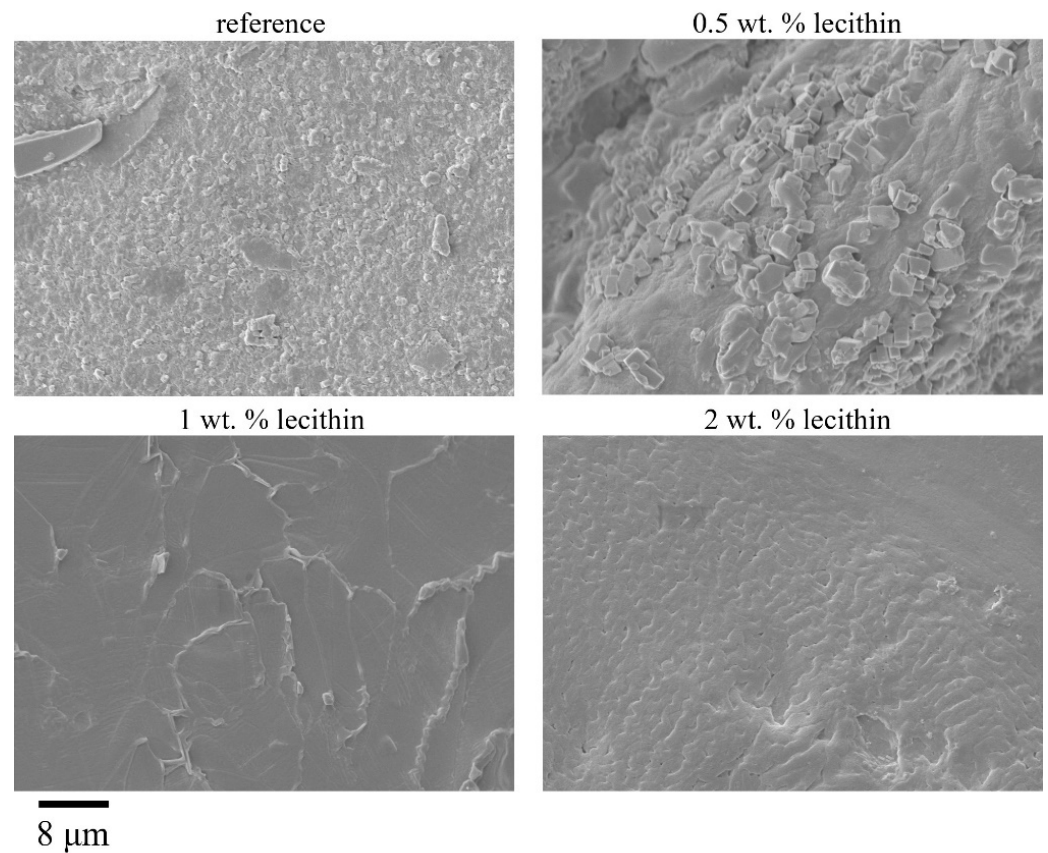


Figure 6. Surface morphologies of ionically crosslinked alginate xerogels with the addition of lecithin revealed by SEM. Magnification 5000 \times .

Table 6. Specific surface area for ionically crosslinked alginate xerogels with the addition of lecithin determined by gas sorption.

Concentration of Lecithin (wt.%)	Specific Surface Area (m ² /g)
0 (R)	9.1
0.5	6.3
1	5.9
2	4.7

2.3. Chemical Crosslinking

Poly(vinyl alcohol) and chitosan crosslinked by the epichlorohydrin was a representative of the chemically crosslinked hydrogel matrix. Epichlorohydrin reacts with either the hydroxyl group of PVA or amino group of chitosan to form a highly reactive intermediate. This intermediate product reacts with another hydroxyl (PVA) or amino group (chitosan) to form the crosslinked structure. Study of these hydrogels, both in their freshly prepared state, after air-drying at 40 °C and their subsequent rehydration and as xerogels, showed some physico-mechanical properties altered by the lecithin content (schematic figure of the preparation procedure can be seen in the Supplementary Materials Figure S4).

2.3.1. Rheology

For chemically crosslinked hydrogels, the amplitude sweep results showed that the addition of lecithin modified the rheological properties of hydrogels (see Figure 7a). However, the highest lecithin concentration did not lead to further changes in the mechanical properties. The same can be said after comparing the data points (see Table 7). At the same time, a higher content of lecithin decreased the values marking the end of the LVR as well as the strength of the hydrogels and the cross-over point values. The results are acceptable after taking into account the preparation and final state of the hydrogel. An important step of the preparation procedure is drying of the liquid mixture, which leads to crosslinking of the nodes and its subsequent rehydration. If lecithin is present, the rehydration is improved.

Table 7. Values for chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels obtained from strain and frequency sweep tests before drying.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	1665.3 ± 43.2	53.8 ± 8.2	8629 ± 304	398 ± 4	1.6 ± 0.3	13.6 ± 0.7
0.5	1005.5 ± 32.4	49.4 ± 18.4	6644 ± 1503	307 ± 44	1.2 ± 0.9	13.8 ± 0.6
1	666.6 ± 5.4	40.2 ± 3.2	4545 ± 129	377 ± 68	0.6 ± 0.1	12.7 ± 0.1
2	631.6 ± 24.7	39.1 ± 4.7	4398 ± 195	421 ± 5	0.7 ± 0.1	12.9 ± 0.1

The same experiments were performed for hydrogel samples dried and rehydrated. The dried and rehydrated hydrogels with lecithin assembled into the pores ended up with modified properties (see Figure 7b), specifically, an increase in moduli values and a decrease in the values marking the cross-over point, in contrast to the reference sample. As can be seen in Figure 7b and Table 8, the presence of lecithin makes the hydrogels obtained after the drying–rehydration step much more deformation resistant, characterized by much higher values of strain at the cross-over point. At the same time, for these mixed rehydrated hydrogels, lecithin, irrespective of its content, exerted a larger influence in the enhancement of the hydrogels' strength (average moduli values in LVR) when compared to the rehydrated systems physically and ionically crosslinked.

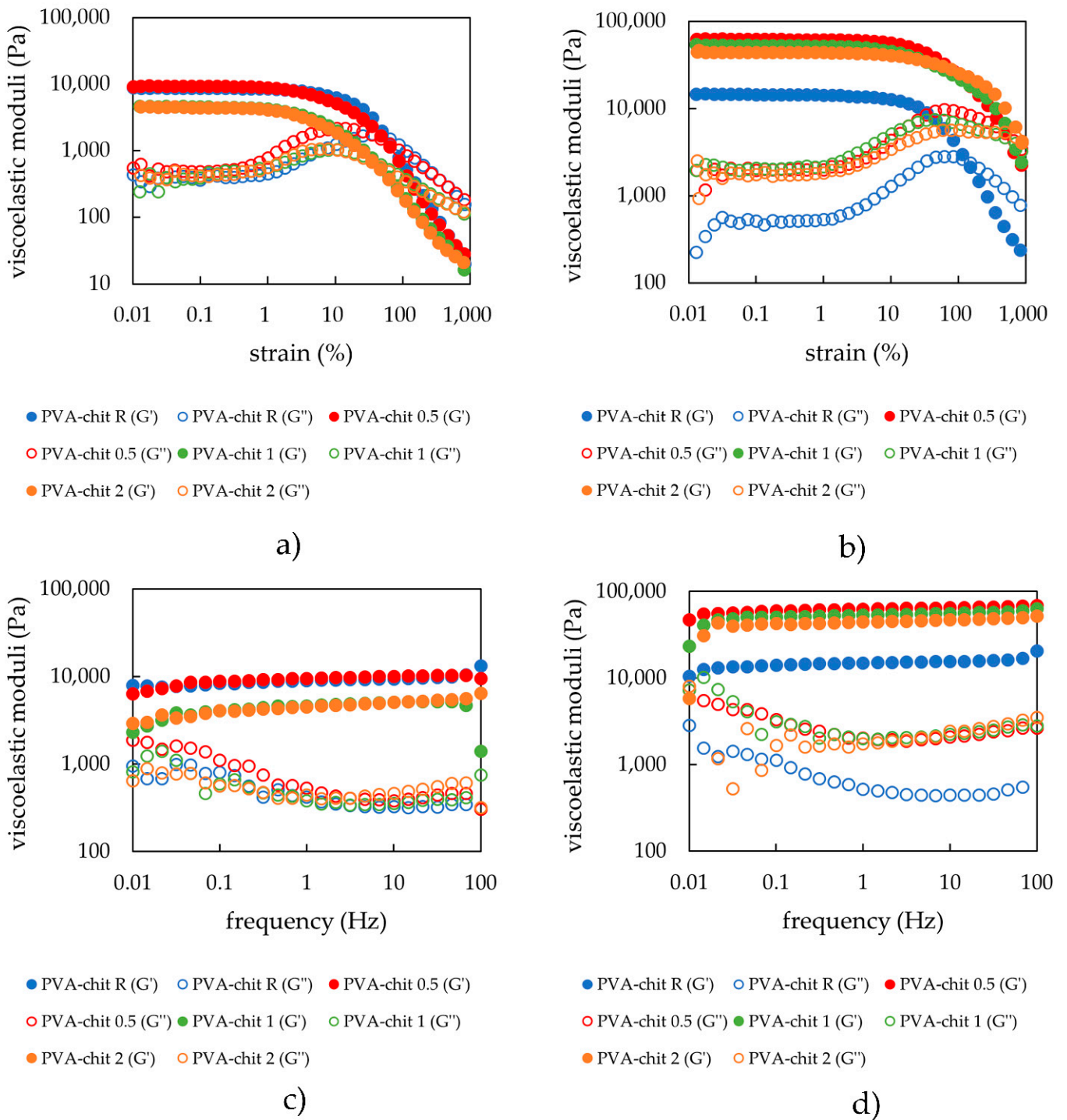


Figure 7. (a) Strain sweep of PVA-chitosan hydrogels with the different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (b) strain sweep of PVA-chitosan hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels (frequency applied -1 Hz); (c) frequency sweep of PVA-chitosan hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after preparation; (d) frequency sweep of PVA-chitosan hydrogels with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%) after drying and rehydration of the xerogels.

Table 8. Values for chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels after drying and rehydration obtained from strain and frequency sweep tests.

Lecithin Concentration (wt.%)	Cross-Over Point		Average Moduli Values in LVR		End of LVR	Mesh Size
	G' (Pa)	Strain (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Strain (%)	Mesh (nm)
0 (R)	2470.0 ± 494.7	138.5 ± 13.5	14,514 ± 1413	532 ± 33	3.2 ± 0.0	11.6 ± 0.3
0.5	7122.4 ± 633.3	379.1 ± 233.0	62,099 ± 6505	1928 ± 65	5.0 ± 1.0	7.1 ± 0.1
1	4964.6 ± 275.8	502.2 ± 277.5	52,833 ± 10,153	2089 ± 246	3.0 ± 1.7	6.2 ± 1.3
2	4074.2 ± 182.3	900.1 ± 97.5	43,685 ± 3177	1761 ± 211	5.9 ± 2.3	8.1 ± 0.0

The frequency and amplitude sweep results indicated the same tendency discussed above (see comparatively Figure 7). Thus, a critical lecithin concentration is necessary to modify the properties of this type of chemically crosslinked hydrogels (according to the results lying between 0.5 and 1 wt.%); also, there is a maximum concentration above which further modifications do not occur (differences between 1 and 2 wt.% are negligible). The significant difference in the chemically crosslinked hydrogels (comparing to the physically and ionically crosslinked) is the relaxation phenomenon characterized by much longer relaxation times in contrast to covalently crosslinked systems. Covalently crosslinked hydrogels exhibit almost constant values of storage moduli over the whole range of the applied frequencies. The same trend was also observed for the dried and rehydrated samples. Again, for all samples, the storage modulus prevailed in comparison to the loss modulus. The mesh sizes of these samples (Tables 7 and 8) were not affected by the content of lecithin, a result that can be explained by the character of covalent crosslinking, which is stronger than physical and ionic crosslinking. On the other hand, the same trend of decreasing mesh sizes after rehydration could be observed.

2.3.2. Drying and Rehydration Measurements

As can be seen from Figure 8, the drying and swelling kinetics were not significantly altered by the addition of lecithin. Only a marginal influence was observed for samples with the highest lecithin concentrations, which were able to absorb the most water. This generally smaller influence of lecithin can be explained by the structure of chemically crosslinked hydrogels, which are characterized by a high enough crosslinking density and, consequently, by a smaller pore size morphology. The structure is more organized due to the stronger covalent bonds. The water absorption for this kind of hydrogel possessing stronger covalent cross linkages was very fast and occurred almost immediately during the first minutes of the swelling experiments.

2.3.3. Morphological Characterization of Xerogels

Results on the structural characterization of chemically crosslinked xerogels were similar to those for physically crosslinked hydrogels. The surface morphology of these xerogels looked smooth with no visible pores. In sectional view, SEM images revealed clear layered structures, with an interlayer roughness increasing with lecithin content (Figure 9), which in turn led to a gradual ascension of the value of specific surface (Table 9). Despite this fact, an apparently less corrugated surface observed for lecithin-free hydrogels had a higher specific surface area (Table 9), which might be explained by a greater compactness associated with the layered structure of the mixed xerogels.

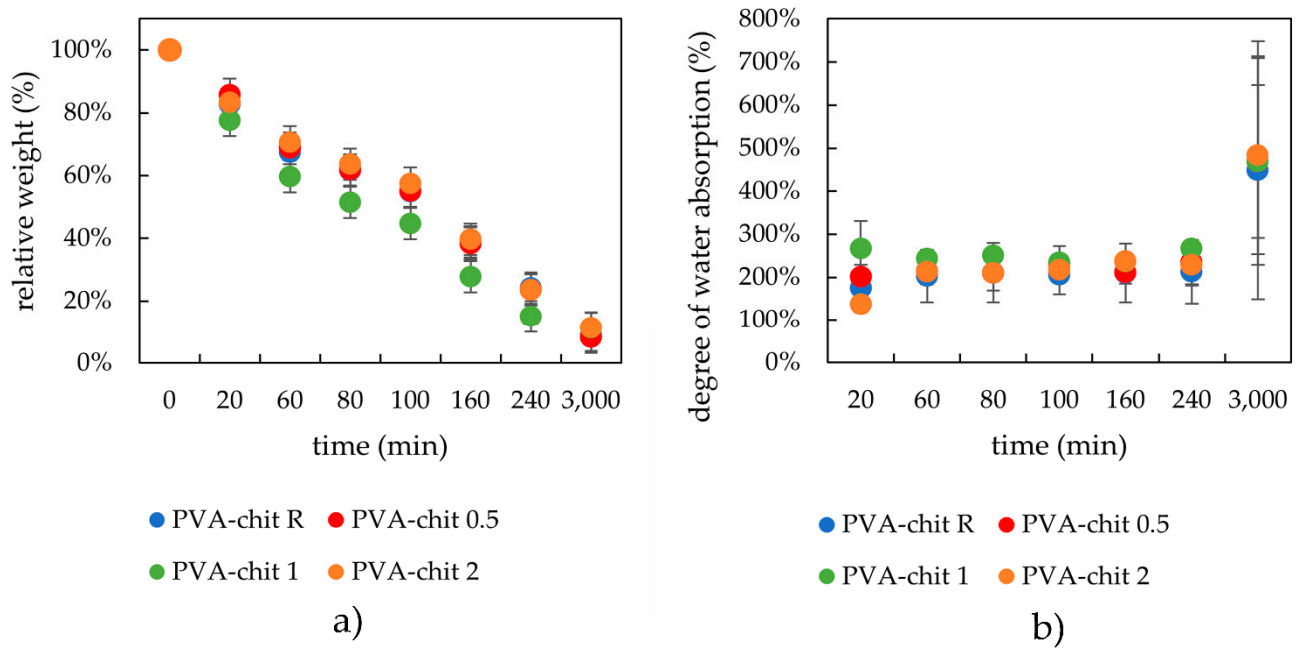


Figure 8. Drying (a) and rehydration (b) of chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels with different lecithin content.

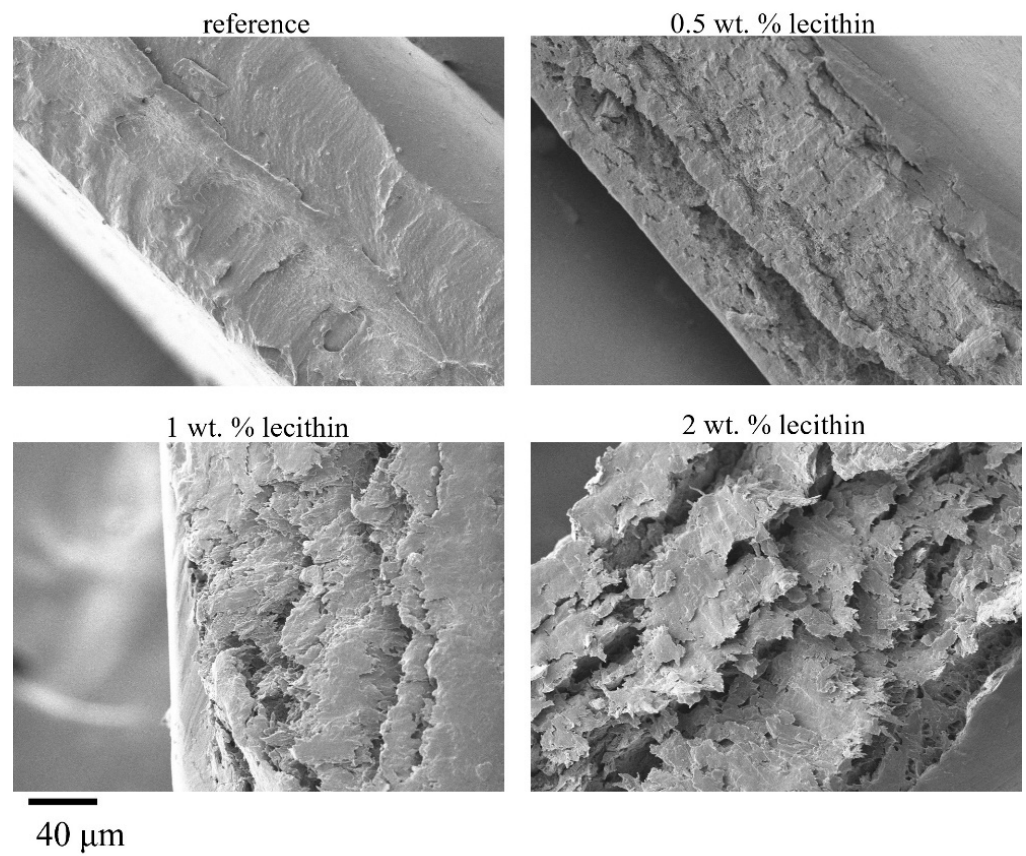


Figure 9. SEM images of chemically crosslinked PVA-chitosan xerogels with the addition of lecithin taken from the sectional view. Magnification 1000 \times .

Table 9. Specific surface area for chemically crosslinked PVA-chitosan xerogels with different lecithin content determined by gas sorption.

Concentration of Lecithin (wt.%)	Specific Surface Area (m ² /g)
0 (R)	2.9
0.5	0.8
1	1.2
2	1.6

3. Conclusions

This work studied the influence of lecithin (L- α -phosphatidylcholine) on three differently crosslinked hydrogels (physically crosslinked agarose, alginate ionically crosslinked by calcium ions, and a mixture of PVA and chitosan chemically crosslinked by epichlorohydrin). The bulk of this work was to study differences between the gels investigated immediately after preparation and the corresponding rehydrated xerogels (prepared by swelling). By choosing the lecithin content, we were able to modify some of the mechanical properties of the hydrogels with a modified internal structure, especially in the case of the rehydrated ones. In this regard, the addition of lecithin had the strongest influence in enhancing the strength of chemically crosslinked PVA-chitosan gels, which is partially consistent with the mesh size and by the amount of water absorbed into their structure after being previous air-dried. Apart from the rheological data and those obtained from the kinetics of water loss during hydrogel dehydration, these conclusions were supported by the scanning electron microscopy and gas sorption experiments performed on the xerogels. For this type of material, even though gas sorption appears to be inappropriate, however, it serves to confirm the non-porous structure of the xerogels.

In this work, we determined that the addition of phospholipid lecithin into the hydrogel matrix can alter their mechanical properties, which might be highly beneficial knowledge for the use of such hydrogels in particular applications. However, the transport properties also need to be investigated. Therefore, further transport experiments are required, which are absolutely crucial for a better understanding of such hydrogel materials and how they can be used in final applications.

4. Materials and Methods

Hydrogels with distinct gelation mechanisms (physical, ionic, chemical crosslinking) [20] were studied. As an example of a physically crosslinked matrix, the linear thermoreversible polysaccharide agarose (Agarose E, Condalab, Madrid, Spain) at 1 wt.%, was used [21]. As an example of an ionically crosslinked matrix, sodium alginate (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) at 2 wt.% crosslinked by calcium chloride (Lach-Ner, Neratovice, Czech Republic) at a two to one weight ratio was chosen [22]. For chemically crosslinked hydrogels, poly(vinyl alcohol) (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) mixed with chitosan (low molecular weight, Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) and crosslinked by epichlorohydrin (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) was employed [23]. L- α -Phosphatidylcholine (lecithin) was incorporated into all hydrogel samples before gelation at three different weight percentage concentrations (Sigma-Aldrich, Czech Republic, Prague).

The materials and their concentrations and ratios were selected on the basis of data previously reported [20–24] and can be seen in the table below (Table 10).

Table 10. Concentrations of each individual component in the final hydrogel form (agarose, sodium alginate, calcium chloride, PVA, chitosan, and lecithin).

Physically Crosslinked Hydrogels			
Sample	Agarose (wt.%)		Lecithin (wt.%)
AGR	1		0
AG 0.5	1		0.5
AG 1	1		1
AG 2	1		2
Ionically Crosslinked Hydrogels			
Sample	Sodium Alginate (wt.%)	Calcium Chloride (mol·dm ³)	Lecithin (wt.%)
ALG R	2	0.1	0
ALG 0.5	2	0.1	0.5
ALG 1	2	0.1	1
ALG 2	2	0.1	2
Chemically Crosslinked Hydrogels			
Sample	PVA (wt.%)	Chitosan (wt.%)	Lecithin (wt.%)
PVA R	7.8	2.5	0
PVA 0.5	7.8	2.5	0.5
PVA 1	7.8	2.5	1
PVA 2	7.8	2.5	2

4.1. Water Loss during Drying and Rehydration Measurements

The ability to hold, release, and absorb water was tested by different approaches. Water loss was monitored by means of simple drying tests. All samples were dried either in the laboratory dryer at 40 °C and regularly weighed, or in a semi-automatic moisture analyzer (IR-35, Denver Instrument, Denver, CO, USA), where the weight was recorded automatically. The relative weight of the hydrogel (x) during drying was calculated using the following formula:

$$x = \frac{m_t}{m_0} \cdot 100 \quad (1)$$

where m_t is the weight of the gel at time t , and m_0 is the weight of the hydrogel in the swollen state.

Often very small weight losses of water from the hydrogel samples made using drying scales more difficult. For this reason, drying kinetics were mostly studied using the combination of laboratory driers and analytical scales, upon which samples were weighed every twenty minutes. After the samples were dried to the xerogel form, they were inserted into a water bath, where they were kept until they reached their maximum water absorption capacity. The degree of water absorption (m_a) was calculated by:

$$m_a = \frac{m_t}{m_x} \cdot 100 \quad (2)$$

where m_t is the weight of the hydrogel at time t , and m_x is the weight of the xerogel. The hydrogel samples were regularly weighed on analytical scales to study their swelling kinetics.

4.2. Rheology

Hydrogels are semi-solid materials that exhibit distinctive mechanical characteristics lying between those of solids and liquids. Therefore, rheology is indeed an appropriate technique for studying their behavior [25–29]. The mechanical properties of the prepared hydrogels were determined by rheological characterization using a rotational rheometer (Discovery HR-2, TA Instruments) employing cross-hatched 20 mm plate–plate geometry

to avoid potential sensor wall-slippage during measurement. The complex rheological procedure consisted of strain sweep and frequency sweep tests. The strain sweep test is a useful tool for obtaining information about samples if fluid-like or gel-like behavior under different values of applied strain prevails. In addition, it is possible to determine the region where the deformation is non-destructive (the linear viscoelastic region-LVR) as well as the behavior of the sample when the LVR strain limit is exceeded. The other mentioned test, the frequency sweep test, serves the purpose of describing hydrogel behavior in the non-deformation range (LVR) and provides information about different crosslinking sites (if applicable) in the internal structure of the hydrogel. Both tests were carried out on freshly prepared samples and rehydrated ones. The rehydrated samples were first dried to constant mass in the laboratory dryer for two days at a constant temperature of 40 °C and further rehydrated for three days in distilled water. Freshly prepared agarose and alginate samples were measured within a gap of 1000 µm. The gap for rehydrated samples varied according to the thickness of the gel, which depended on its swelling capacity, 500 µm for agarose gels and 1000 µm for alginate gels. PVA-chitosan hydrogels (both fresh and rehydrated) were measured within a gap of 200 µm due to the limited thickness of the prepared hydrogel foils. Prior to each applied test, samples were allowed to temper and rest for 180 s after loading into the measuring gap.

To obtain a suitable value of constant amplitude strain for the linear viscoelastic region (LVR), which was an essential parameter for ongoing frequency sweep tests, strain sweep tests were conducted first within the amplitude strain range of 0.01–1000% under a constant frequency of oscillation of 1 Hz in at least two repetitions, using a freshly loaded sample for each test. From these measurements, a strain of 0.1% was chosen as a suitable value of deformation for ongoing frequency tests, because this strain value lays within the LVR for all fresh and rehydrated samples. The range of oscillating frequencies for the frequency sweep tests was set to 0.01–100 Hz. Like the former strain sweep tests, the frequency sweep tests were also conducted in at least two repetitions. A summary of settings for both rheology tests is presented in Table 11.

Table 11. Summary of settings for rheology measurements (conditioning step, amplitude sweep, and frequency sweep).

Conditioning Step			
Temperature		25 °C	
Time		180 s	
Amplitude Sweep		Frequency Sweep	
temperature	25 °C	temperature	25 °C
strain	0.01–1000%	strain	0.1%
points per decade	8	points per decade	6
frequency	1 Hz	frequency	0.01–100 Hz

Routine techniques that are usable for the characterization of the internal structures of many materials (e.g., scanning electron microscopy) have some limitations in the study of hydrogels. One of the most limiting factors is that the structures of hydrogels are mostly studied in a dried state. The internal structures of a hydrogel in the presence of water and in the absence of water must certainly differ. Moreover, the preparation of the hydrogel in its dried state is also critical because the dispersion medium (water) must be removed (mostly by evaporation or by sublimation if lyophilization is used). Unfortunately, both of these processes (evaporation as well as sublimation) have a significant impact on the final xerogel morphology. Simply, the fragile internal structure of the hydrogel may be critically damaged by the removal of the dispersion medium. Thus, such a resulting structure (specifically, the porous structure) revealed by scanning electron microscopy often has low informative value with respect to the internal structure of the hydrogel in its swollen state. Therefore, an alternative way to determine the pore size (and then obtain information

about the internal structure of the hydrogel) must be found. An interesting solution to this problem is offered by the rheological characterization of the hydrogel, which involves the calculation of the mesh size.

Mesh size, as one of the most critical parameters in hydrogel characterization, was calculated by means of relaxation spectra (relaxation moduli G and relaxation time λ) from the frequency sweep oscillation measurements in accordance with the Maxwell model [30]. The frequency sweep (viscoelastic moduli as a function of oscillation frequency) was interpolated by continuous relaxation spectra in TRIOS software (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

Typical relaxation spectra can be found in the Supplementary Materials (Figure S5). On the basis of previous rheological investigation [25], it was concluded that the optimal number of Maxwell elements was 4, in order to fit the frequency sweep measurements of the hydrogels. Four relaxation moduli were obtained from continuous relaxation spectra analyses. The sum of relaxation moduli was calculated in order to determine the crosslinking density [31] (see Equation (3), where ρ_x represents the crosslinking density ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$) and provides information on the density of the junction in the swollen hydrogel form. G (Pa) is the sum of 4 relaxation moduli, R ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) represents the universal gas constant, and T is the thermodynamic temperature in Kelvins.

$$\rho_x = \frac{G}{RT} \quad (3)$$

If all criteria are met (in particular, frequency sweep measurements are realized in the linear viscoelastic region and the mechanical properties of hydrogels with different crosslinking are consistent with rubber elasticity theory [32]), finally the mesh size can be calculated using Equation (4), where ζ is the mesh size (unit: m) and N_A represents Avogadro's number.

$$\zeta = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi\rho_x N_A}} \quad (4)$$

4.3. Morphological Characterization of Xerogels

Since the structure affects properties that are crucial for hydrogel applications, determining the hydrogel morphology is one of the most important characterizations. There are many direct (microscopy) and indirect (scattering-based) methods to characterize hydrogel morphology [33]. Several direct visualization techniques (light microscopy, laser scanning confocal microscopy, and micro-computed tomography) that can handle swollen hydrogels have considerable disadvantages (e.g., limited resolution) [34]. On the other hand, commonly used scanning electron microscopy includes a critical step (i.e., the inevitable solidification of the sample using drying or freezing, during which the collapse of the structure or the creation of artifacts can occur) [35,36]. Kaberova et al. [37] tested the usability of scanning electron microscopy and concluded that the results from this method should always be confirmed by microscopy techniques applicable for gels in their swollen state.

For the characterization of dry samples, the specific surface area (the Brunauer–Emmett–Teller (BET) approach) is typically determined. The specific surface area is not suitable for characterizing hydrogels because of the already mentioned artifacts that appear during the preparation of dried samples. However, it can be used, for example, for the characterization of materials used in a dried state and that can form hydrogels (adsorbent) [38], or for the confirmation of reversible porosity [39].

The structure of the xerogels was studied in this work. Specifically, scanning electron microscopy and gas sorption were chosen as suitable techniques for determining the internal architecture of xerogels. Since the mechanical properties were studied for hydrogels right after preparation and also for swollen hydrogels after dehydration, it seemed convenient to investigate the structural properties of the hydrogels in these forms. Since this form is a dry form, it was possible to avoid deformation of the structure caused by the preparation of hydrogels for scanning electron microscopy.

4.3.1. Scanning Electron Microscopy

To determine changes in hydrogel structure, xerogels of all prepared samples were subjected to direct visualization using scanning electron microscopy. The samples were dried in a laboratory dryer at 40 °C. A few small specimens were taken from each studied sample to maintain objective observation. These specimens were subsequently gold-coated in a sputtering device (POLARON) and investigated using a ZEISS EVO LS 10 scanning electron microscope.

Both the surface morphologies and sectional images of samples were recorded. Observations were realized in secondary electron (SE) mode and the accelerating voltage was set to 5 kV to avoid charging of the samples.

4.3.2. Gas Sorption

A NOVA 2200e high-speed gas sorption analyzer (Quantachrome Instruments) was used to determine the specific surface area. The samples were weighed into a measuring cell (0.05–0.1 g). The measuring cell was placed in a degassing station, where the degassing process was carried out at 75 °C for 20 h. After cooling, the degassed sample was weighed to four decimal places. The samples were placed in a measuring station. The adsorption and desorption isotherms were measured under liquid nitrogen (77 K) from 0.05–0.95 of the relative pressure P/P_0 . The obtained data were processed by NovaWin software and specific surface area was calculated by the multi-point BET method.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/gels8020115/s1>, Figure S1: Preparation procedure of physically crosslinked agarose hydrogels; Figure S2: Preparation procedure of ionically crosslinked alginate hydrogels; Figure S3: Dynamic viscosity measurements for combinations of solutions of lecithin, CaCl₂ and alginate; Figure S4: Preparation procedure of chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels; Figure S5: Typical relaxation spectra for mesh size calculations, TRIOS software (TA Instruments).

Author Contributions: Conceptualization, R.H. and J.S.; Methodology, R.H., M.K., M.T. and J.H.; Validation, R.H., M.K. and M.T.; Formal analysis, R.H. and J.S.; Investigation, R.H., M.K., M.T., J.H. and N.Z.; Data curation, R.H., M.T. and M.K.; Writing—original draft preparation, R.H., M.K., M.T. and N.Z.; Writing—review and editing, J.S. and M.P.; Visualization, R.H. and N.Z.; Project administration, R.H.; Funding acquisition, R.H.; Supervision, J.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research project was supported by the project Quality Internal Grants of BUT (KInG BUT), Reg. No. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016948, which is financed from the Operational Program: Research, Development, and Education.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data used in this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Aswathy, S.; Narendrakumar, U.; Manjubala, I. Commercial hydrogels for biomedical applications. *Heliyon* **2020**, *6*, e03719. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Kular, J.K.; Basu, S.; Sharma, R.I. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *J. Tissue Eng.* **2014**, *5*, 2041731414557112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Geckil, H.; Xu, F.; Zhang, X.; Moon, S.; Demirci, U. Engineering hydrogels as extracellular matrix mimics. *Nanomedicine* **2010**, *5*, 469–484. [[CrossRef](#)]
4. Gadjanski, I. Recent advances on gradient hydrogels in biomimetic cartilage tissue engineering. *F1000Research* **2017**, *6*, 2158. [[CrossRef](#)]
5. Pekař, M. Hydrogels with Micellar Hydrophobic (Nano)Domains. *Front. Mater.* **2015**, *1*, 35. [[CrossRef](#)]

6. Zhang, Y.; Chen, Q.; Dai, Z.; Dai, Y.; Xia, F.; Zhang, X. Nanocomposite adhesive hydrogels: From design to application. *J. Mater. Chem. B* **2021**, *9*, 585–593. [[CrossRef](#)]
7. Tuncaboylu, D.C.; Argun, A.; Algi, M.P.; Okay, O. Autonomic self-healing in covalently crosslinked hydrogels containing hydrophobic domains. *Polymer* **2013**, *54*, 6381–6388. [[CrossRef](#)]
8. Gu, S.; Duan, L.; Ren, X.; Gao, G.H. Robust, tough and anti-fatigue cationic latex composite hydrogels based on dual physically cross-linked networks. *J. Colloid Interface Sci.* **2017**, *492*, 119–126. [[CrossRef](#)]
9. Li, A.; Jia, Y.; Sun, S.; Xu, Y.; Minsky, B.B.; Stuart, M.A.C.; Cölfen, H.; von Klitzing, R.; Guo, X. Mineral-Enhanced Polyacrylic Acid Hydrogel as an Oyster-Inspired Organic–Inorganic Hybrid Adhesive. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 10471–10479. [[CrossRef](#)]
10. Cui, C.; Wu, T.; Gao, F.; Fan, C.; Xu, Z.; Wang, H.; Liu, B.; Liu, W. An Autolytic High Strength Instant Adhesive Hydrogel for Emergency Self-Rescue. *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1804925. [[CrossRef](#)]
11. Fan, X.; Wang, S.; Fang, Y.; Li, P.; Zhou, W.; Wang, Z.; Chen, M.; Liu, H. Tough polyacrylamide-tannic acid-kaolin adhesive hydrogels for quick hemostatic application. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *109*, 110649. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Rajabi, N.; Kharaziha, M.; Emadi, R.; Zarrabi, A.; Mokhtari, H.; Salehi, S. An adhesive and injectable nanocomposite hydrogel of thiolated gelatin/methacrylate/Laponite® as a potential surgical sealant. *J. Colloid Interface Sci.* **2020**, *564*, 155–169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Arno, M.C.; Inam, M.; Weems, A.C.; Li, Z.; Binch, A.L.A.; Platt, C.I.; Richardson, S.M.; Hoyland, J.A.; Dove, A.P.; O'Reilly, R.K. Exploiting the role of nanoparticle shape in enhancing hydrogel adhesive and mechanical properties. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1420. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Zhang, H.; Hao, R.; Ren, X.; Yu, L.; Yang, H.; Yu, H. PEG/lecithin–liquid-crystalline composite hydrogels for quasi-zero-order combined release of hydrophilic and lipophilic drugs. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 22927–22930. [[CrossRef](#)]
15. Shchipunov, Y.A. Lecithin. In *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, 3rd ed.; Somasundaran, P., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015; Volume 3, pp. 3674–3693.
16. Elnaggar, Y.S.; El-Refai, W.M.; El-Massik, M.A.; Abdallah, O.Y. Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: An update on state of art and recent applications. *J. Control. Release* **2014**, *180*, 10–24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Thompson, B.R.; Zarket, B.C.; Lauten, E.H.; Amin, S.; Muthukrishnan, S.; Raghavan, S.R. Liposomes Entrapped in Biopolymer Hydrogels Can Spontaneously Release into the External Solution. *Langmuir* **2020**, *36*, 7268–7276. [[CrossRef](#)]
18. Li, D.; An, X.; Mu, Y. A liposomal hydrogel with enzyme triggered release for infected wound. *Chem. Phys. Lipids* **2019**, *223*, 104783. [[CrossRef](#)]
19. Talaat, S.M.; Elnaggar, Y.S.R.; Abdalla, O.Y. Lecithin Microemulsion Lipogels Versus Conventional Gels for Skin Targeting of Terconazole: In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Investigation. *AAPS PharmSciTech* **2019**, *20*, 161. [[CrossRef](#)]
20. Maitra, J.; Shukla, V.K. Cross-linking in Hydrogels—A Review. *Am. J. Polym. Sci.* **2014**, *4*, 25–31. [[CrossRef](#)]
21. Trudicova, M.; Smilek, J.; Kalina, M.; Smilkova, M.; Adamkova, K.; Hrubanova, K.; Krzyzaneck, V.; Sedlacek, P. Multiscale Experimental Evaluation of Agarose-Based Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels as Materials with Tunable Rheological and Transport Performance. *Polymers* **2020**, *12*, 2561. [[CrossRef](#)]
22. Kuo, C.K.; Ma, P.X. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials* **2001**, *22*, 511–521. [[CrossRef](#)]
23. Garnica-Palafox, I.M.; Sánchez-Arévalo, F.M.; Velasquillo, C.; García-Carvajal, Z.; García-Lopez, J.; Ortega-Sánchez, C.; Ibarra, C.; Luna-Barcenas, G.; Solís-Arrieta, L. Mechanical and structural response of a hybrid hydrogel based on chitosan and poly(vinyl alcohol) cross-linked with epichlorohydrin for potential use in tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2014**, *25*, 32–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Mendes, A.C.L.; Shekarforoush, E.; Engwer, C.; Beeren, S.; Gorzelanny, C.; Goycoolea, F.M.; Chronakis, I.S. Co-assembly of chitosan and phospholipids into hybrid hydrogels. *Pure Appl. Chem.* **2016**, *88*, 905–916. [[CrossRef](#)]
25. Smilek, J.; Jarábková, S.; Velcer, T.; Pekař, M. Compositional and Temperature Effects on the Rheological Properties of Polyelectrolyte–Surfactant Hydrogels. *Polymers* **2019**, *11*, 927. [[CrossRef](#)]
26. Mourycová, J.; Datta, K.K.R.; Procházková, A.; Plotěná, M.; Enev, V.; Smilek, J.; Másilko, J.; Pekař, M. Facile synthesis and rheological characterization of nanocomposite hyaluronan-organoclay hydrogels. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *111*, 680–684. [[CrossRef](#)]
27. Derkach, S.R.; Ilyin, S.O.; Maklakova, A.A.; Kulichikhin, V.G.; Malkin, A.Y. The rheology of gelatin hydrogels modified by κ -carrageenan. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *63*, 612–619. [[CrossRef](#)]
28. López-Marcial, G.R.; Zeng, A.Y.; Osuna, C.; Dennis, J.; García, J.M.; O'Connell, G.D. Agarose-Based Hydrogels as Suitable Bioprinting Materials for Tissue Engineering. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, *4*, 3610–3616. [[CrossRef](#)]
29. Gila-Vilchez, C.; Bonhome-Espinosa, A.B.; Kuzhir, P.; Zubarev, A.; Duran, J.D.G.; Lopez-Lopez, M.T. Rheology of magnetic alginate hydrogels. *J. Rheol.* **2018**, *62*, 1083–1096. [[CrossRef](#)]
30. Gradzielski, M.; Hoffmann, I. Polyelectrolyte-surfactant complexes (PESCs) composed of oppositely charged components. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2018**, *35*, 124–141. [[CrossRef](#)]
31. Pescosolido, L.; Feruglio, L.; Farra, R.; Fiorentino, S.; Colombo, I.; Coviello, T.; Matricardi, P.; Hennink, W.E.; Vermonden, T.; Grassi, M. Mesh size distribution determination of interpenetrating polymer network hydrogels. *Soft Matter* **2012**, *8*, 7708–7715. [[CrossRef](#)]

32. Flory, P.J. *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell University Press: New York, NY, USA, 1953.
33. Raghuwanshi, V.S.; Garnier, G. Characterisation of hydrogels: Linking the nano to the microscale. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *274*, 102044. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Suchý, T.; Šupová, M.; Bartoš, M.; Sedláček, R.; Piola, M.; Soncini, M.; Fiore, G.B.; Sauerová, P.; Kalbáčová, M.H. Dry versus hydrated collagen scaffolds: Are dry states representative of hydrated states? *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2018**, *29*, 20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Muthulakshmi, L.; Pavithra, U.; Sivaranjani, V.; Balasubramanian, N.; Sakthivel, K.M.; Pruncu, C.I. A novel Ag/carrageenan-gelatin hybrid hydrogel nanocomposite and its biological applications: Preparation and characterization. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2021**, *115*, 104257. [[CrossRef](#)]
36. Marmorat, C.; Arinstein, A.; Koifman, N.; Talmon, Y.; Zussman, E.; Rafailovich, M. Cryo-Imaging of Hydrogels Supermolecular Structure. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 25495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Kaberova, Z.; Karpushkin, E.; Nevoralová, M.; Vetrík, M.; Šlouf, M.; Dušková-Smrčková, M. Microscopic Structure of Swollen Hydrogels by Scanning Electron and Light Microscopies: Artifacts and Reality. *Polymers* **2020**, *12*, 578. [[CrossRef](#)]
38. Bhagat, S.D.; Kim, Y.-H.; Yi, G.; Ahn, Y.-S.; Yeo, J.-G.; Choi, Y.-T. Mesoporous SiO₂ powders with high specific surface area by microwave drying of hydrogels: A facile synthesis. *Microporous Mesoporous Mater.* **2008**, *108*, 333–339. [[CrossRef](#)]
39. Weber, J.; Bergström, L. Mesoporous Hydrogels: Revealing Reversible Porosity by Cryoporometry, X-ray Scattering, and Gas Adsorption. *Langmuir* **2010**, *26*, 10158–10164. [[CrossRef](#)]

Příloha 2 – článek v impaktovaném časopise

HEGER, Richard, Natalia ZINKOVSKA, Monika TRUDICOVA, Martin KADLEC, Miloslav PEKAR a Jiri SMILEK, 2023. Lecithin as an Effective Modifier of the Transport Properties of Variously Crosslinked Hydrogels. *Gels*. **9**(5). ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels9050367

Lecithin as an Effective Modifier of the Transport Properties of Various Crosslinked Hydrogels

Richard Heger ^{*}, Natalia Zinkovska, Monika Trudicova , Martin Kadlec, Miloslav Pekar ^{*} and Jiri Smilek ^{*}

Institute of Physical and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, 61200 Brno, Czech Republic; xczinkovska@fch.vut.cz (N.Z.); xctrudicova@fch.vut.cz (M.T.); martin.kadlec@vut.cz (M.K.)

* Correspondence: xchegerr@fch.vut.cz (R.H.); pekar@fch.vut.cz (M.P.); smilek@fch.vut.cz (J.S.)

Abstract: Transport properties are one of the most crucial assets of hydrogel samples, influencing their main application potential, i.e., as drug carriers. Depending on the type of drug or the application itself, it is very important to be able to control these transport properties in an appropriate manner. This study seeks to modify these properties by adding amphiphiles, specifically lecithin. Through its self-assembly, lecithin modifies the inner structure of the hydrogel, which affects its properties, especially the transport ones. In the proposed paper, these properties are studied mainly using various probes (organic dyes) to effectively simulate drugs in simple release diffusion experiments controlled by UV-Vis spectrophotometry. Scanning electron microscopy was used to help characterize the diffusion systems. The effects of lecithin and its concentrations, as well as the effects of variously charged model drugs, were discussed. Lecithin decreases the values of the diffusion coefficient independently of the dye used and the type of crosslinking. The ability to influence transport properties is better observed in xerogel samples. The results, complementing previously published conclusions, showed that lecithin can alter a hydrogel's structure and therefore its transport properties.

Keywords: lecithin; hydrogel; diffusion; scanning electron microscopy; extracellular matrix; transport properties; model drugs



Citation: Heger, R.; Zinkovska, N.; Trudicova, M.; Kadlec, M.; Pekar, M.; Smilek, J. Lecithin as an Effective Modifier of the Transport Properties of Various Crosslinked Hydrogels. *Gels* **2023**, *9*, 367. <https://doi.org/10.3390/gels9050367>

Academic Editors: Yazhong Bu, Yanyu Yang, Feifei Sun and Georgios Bokias

Received: 1 March 2023

Revised: 8 April 2023

Accepted: 24 April 2023

Published: 27 April 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Hydrogels are hydrophilic polymeric materials with a three-dimensional structure (or 3D networks of hydrophilic polymers) capable of swelling in aqueous solutions or biological fluids and also possessing unique properties, such as biocompatibility, biodegradability, superabsorbency, viscoelasticity, softness, and responsiveness to external stimuli (pH and temperature) [1–3]. The presence of these properties makes hydrogels a promising material in biomedicine, tissue engineering, and especially the preparation of drug-delivery systems with controlled release [4,5].

In the case of designing systems for the controlled release and delivery of drugs, special attention should be given to the mechanism of transportation and its correlation with the microstructure of hydrogels. The physical and mechanical properties of such systems can easily be improved (1) by adding a structure modifier; (2) by means of binary systems composed of two or more mixed polymers, such as interpenetrating polymer networks; (3) by using self-reinforced composite materials composed of fibers embedded in a matrix of the same polymer; and (4) by means of the sol-gel reaction to produce silica reinforcement [6]. Another alternative way to enhance the mechanical properties of hydrogel materials is to incorporate nanomaterials, such as silica, graphene, graphene nanotubes, carbon nanotubes, and plant fiber-based nanofibers, etc. For example, Mallikarjun B. Jalageri and G. C. Mohan Kumar, in their article, described a new material for designing cartilage scaffolds based on polyvinyl alcohol/polyvinyl pyrrolidone hydrogel reinforced by hydroxyapatite [7]. The addition of hydroxyapatite nanorods (HNr) improves the mechanical properties and

morphological characteristics of PVA/PVP hydrogels. Soher N. Jayash et al. prepared novel hybrid hydrogels based on chitosan and silica using the sol-gel technique [8]. Such hydrogel systems exhibited improved degradation and mechanical properties, no significant cytotoxic effects, and high loading efficiencies. Eric A. Appel and coauthors developed self-assembled hydrogels prepared by means of non-covalent interactions between hydroxypropylmethylcellulose derivatives (HPMC-x) and core-shell nanoparticles (NPs) [9]. This approach enabled the creation of materials with a dual loading of hydrophobic and hydrophilic molecules and high biocompatibility, which are appropriate for controlled drug delivery applications.

The characterization of hydrogels with a modified internal structure is often based on the analysis of their mechanical properties as well as their biocompatibility and biodegradability. In our previous paper [10], we provided a detailed and comprehensive analysis of the impact of lecithin (a naturally occurring mixture of phosphatides) on the morphological and rheological properties of hydrogels with different crosslinking mechanisms. The kinetics of drying and further swelling of these systems were studied as well. In addition to this valuable information, it is also essential to study the transport behavior of these materials in light of their potential application as controlled release systems.

Transport properties generally include viscosity, thermal conductivity, and the diffusion coefficient (diffusivity), which indicates the rate at which specific (per unit volume) momentum, heat, or mass are transferred [11]. Studying diffusion in hydrogels is extremely important in order to predict diffusant transport with respect to their potential application as drug delivery systems and also in order to extract information on polymer network structures [12]. Therefore, it should be kept in mind that the choice of an appropriate diffusion measurement method is essential since there are a huge number of different methods and instrumental techniques, as well as their combinations, and none of them is universal. Furthermore, experimental methods can be divided into a few main categories. The first (traditional) comprises concentration gradient methods (steady-state), in which a diffusional steady-state flux is set up through a gel diaphragm separating two liquid-filled, stirred compartments, and the effective diffusion coefficient is calculated. The second comprises concentration gradient methods (non-steady-state). This category includes, for example, uptake/release from a hydrogel immersed in a stirred solution [13]. In this case, the decrease or increase in the amount of diffusant in the outer solution is measured, and subsequently, the diffusion coefficient is calculated. The next category covers advanced instrumental techniques, such as diffusion-sensitive NMR, which enables the evaluation of solute self-diffusion [14–16]; fluorescence recovery after photobleaching (FRAP), which involves tracking the intensity distribution around the photobleached spot over time, as well as the use of powerful mathematical tools to characterize the diffusion coefficients of diffusants [17]; and fluorescence correlation spectroscopy (FCS), which allows the direct measurement of the translational diffusion of solutes [18,19]. The last category includes computer simulation studies on solute diffusion in gels, such as coarse-grained (CG) simulations, which are widely used to simulate polymer networks and also to predict the impact of formulation and processing parameters on the kinetics of drug release [20,21].

In this article, we present a study of the transport properties of hydrogel and xerogel systems determined on the basis of the given release experiments. In general, we investigated the diffusion of organic dyes (rhodamine 6G as a model of positively charged molecules; eosin B and amido black 10 B as models of negatively charged molecules) and calculated the diffusion coefficients for hydrogel systems with different weight concentrations of lecithin as a structure modifier.

2. Results and Discussion

According to previously published data and to extend the results obtained in the previous article [10], the same types of crosslinking and materials were chosen. For the formation of hydrogel matrices, the following materials were used: the linear polysaccharide agarose, as an example of physical crosslinking; sodium alginate crosslinked by calcium chloride, as

an example of an ionic type of crosslinking; and poly(vinyl alcohol)-chitosan crosslinked by epichlorohydrin, as an example of a hydrogel with chemical crosslinking. Crosslinking is one of the main factors that influences the transport properties of the hydrogel (Figure S1), and thus it is important to take this factor into account when trying to characterize the influence of lecithin on the different hydrogel and xerogel samples.

For each type of crosslinking, samples differing in lecithin concentration were investigated. Lecithin concentrations were selected according to a previous study, and the samples were labeled according to these concentrations ("0.5", "1", and "2"); the reference sample without lecithin addition was marked as "R".

The probes that were chosen to study the transport properties of the hydrogel samples differed in some of their physicochemical properties (electric charge and molecular weight) as well as in some of their visual properties, such as their absorption maximum. Specifically, the probes chosen were the positively charged rhodamine 6G ($479.02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) and the negatively-charged dyes eosin B ($580.09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) and amido black 10B ($616.50 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Crucial transport parameters were obtained for hydrogel and xerogel samples placed in the container filled with distilled water, and the amount of released dye was controlled and measured by a UV-Vis spectrophotometer set up for hydrogels. In the case of xerogels, the same optical probes were used, but due to the very fast release of dye from the xerogel samples, more frequent measurements were recorded (also using UV-Vis). The supporting method was scanning electron microscopy (SEM), from which images of the studied hydrogels were obtained and further compared with previously published xerogel images.

2.1. Physical Crosslinking

To characterize the transport properties of the physically crosslinked hydrogel matrix, agarose hydrogels modified by different additions of lecithin were studied. Agarose was chosen because, in the context of amphiphilic modifications, we try to approach the functionality and properties of extracellular matrix (ECM), and agarose hydrogels are frequently used in vitro models across numerous disciplines [22]. Hydrogel samples, as well as dried xerogel samples, were prepared with a chosen dye already incorporated into the structure (the original hydrogel samples were prepared using a solution of the dye). A schematic figure of the preparation procedure can be seen in the Supplementary materials, Figure S2.

2.1.1. Dye-Release Experiments

The effective diffusion coefficient (D_{eff}) was the crucial transport parameter that provided us with information about the transport properties of the studied hydrogels. Specifically, it is a value that describes how each individual dye is released from the hydrogel. The procedure for obtaining D_{eff} and the method to calculate it are described in Section 4.2.

Rhodamine 6G was chosen as the only positively charged probe due to its suitable molecular weight (comparable with that of cationic drugs, e.g., loperamide or ebastine) and previous experience with this organic dye [23]. The results obtained for agarose hydrogel samples modified by lecithin suggest that lecithin addition influences the transport properties of agarose hydrogels by decreasing the value of the diffusion coefficient (as seen in Table 1 and Figure 1a), which means that, in our study, the release of the model organic probe was significantly slowed down. The large deviations between individual measurements could have been caused by the use of different probes or their calibration. However, in each set of measurements, a trend of decreasing diffusion coefficient with increasing lecithin concentration was evident. The reference sample immediately released more dye than all the other samples, while the samples with lecithin released the positively charged dye significantly more slowly. This could be the result of the modified internal structure of these hydrogels due to the self-assembly of lecithin inside the hydrogel. The presence of lecithin, as well as interactions between the positively charged rhodamine 6G and the negatively charged functional groups of the lecithin molecule, enable the dye inside

the hydrogel structure to become partially blocked and thus slow down or delay its release. This would also be confirmed by a number of publications dealing with obstructions inside agarose hydrogels [24,25].

Table 1. Effective diffusion coefficients calculated from dye-release experiments for physically crosslinked agarose hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the positively charged dye rhodamine 6G.

Rhodamine 6G	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	2.7 ± 0.2	6.4 ± 0.9
0.5 wt.%	1.2 ± 0.1	—
1 wt.%	1.0 ± 0.1	—
2 wt.%	1.2 ± 0.1	—

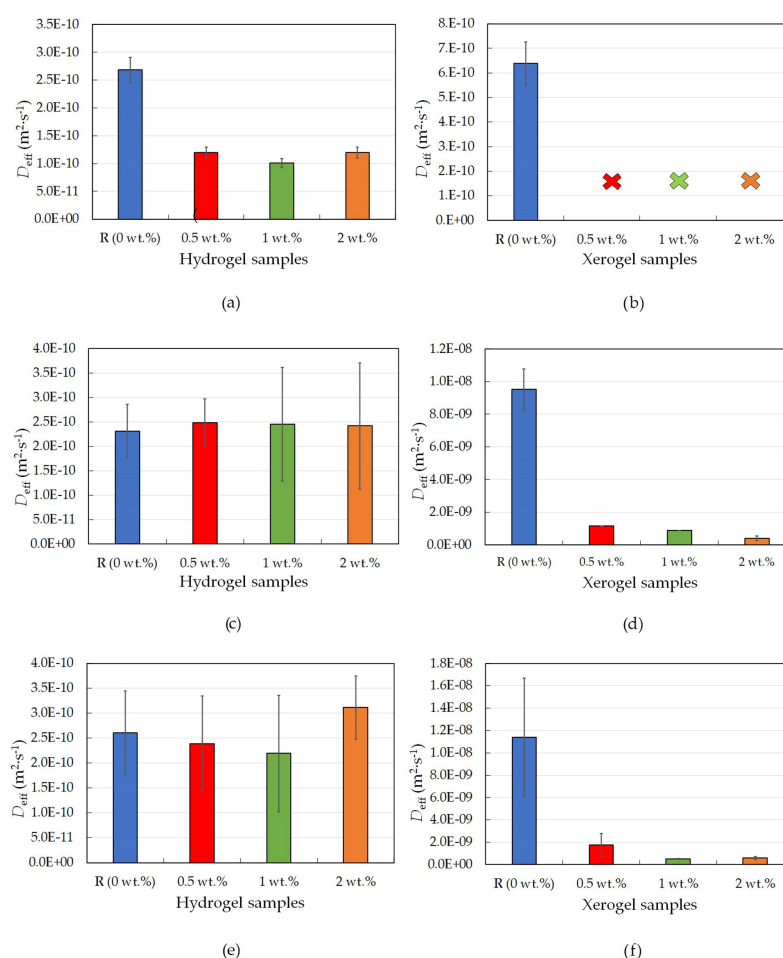


Figure 1. Effective diffusion coefficients for physically crosslinked agarose hydrogel and xerogel samples with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%); rhodamine 6G hydrogels (a); rhodamine 6G xerogels (b); eosin B hydrogels (c); eosin B xerogels (d); amido black 10B hydrogels (e); and amido black 10B xerogels (f).

What happens to the hydrogel after evaporation of the dispersion medium, and how does this affect the other substances in the gel? To answer this key question, the same hydrogel samples as used in the previous experiment were dried prior to characterization. In this case, however, the dye release from agarose was very quick, and it was not possible to measure the release over longer intervals as was performed for the dye release from non-dried hydrogel samples. For this reason, a fiber UV-Vis spectrometer was used, allowing

the measurement of UV-Vis spectra every twenty seconds. In this setup, the absorbance was measured for approximately the first hour, which, for agarose xerogel samples, was enough time for around twenty percent of the dye to be released from the sample (for the reference sample, see Figure 1b). From the measured absorbance, the concentration was calculated.

The results from the dye-release experiments obtained for agarose xerogels loaded with rhodamine 6G confirmed the previously mentioned conclusions in Section 2.1.1. Therefore, the rhodamine 6G interacted with the lecithin modifier. This was particularly evident from the fact that it was not possible to obtain adequate values for the effective diffusion coefficient after the addition of lecithin. This hypothesis is also supported by the graphical representation of the release of the dye from the xerogel system (Figure 2a). These findings from Figure 1b show that the diffusion coefficient for the reference sample without lecithin was the only value obtainable for xerogels from the diffusion coefficient calculations (Table 1). For the lecithin additions, the amount of released dye, and thus the diffusion coefficient, was not measurable, and with increasing time, deformation of the samples occurred, which would again support the assumption of interactions between lecithin, rhodamine 6G, and agarose.

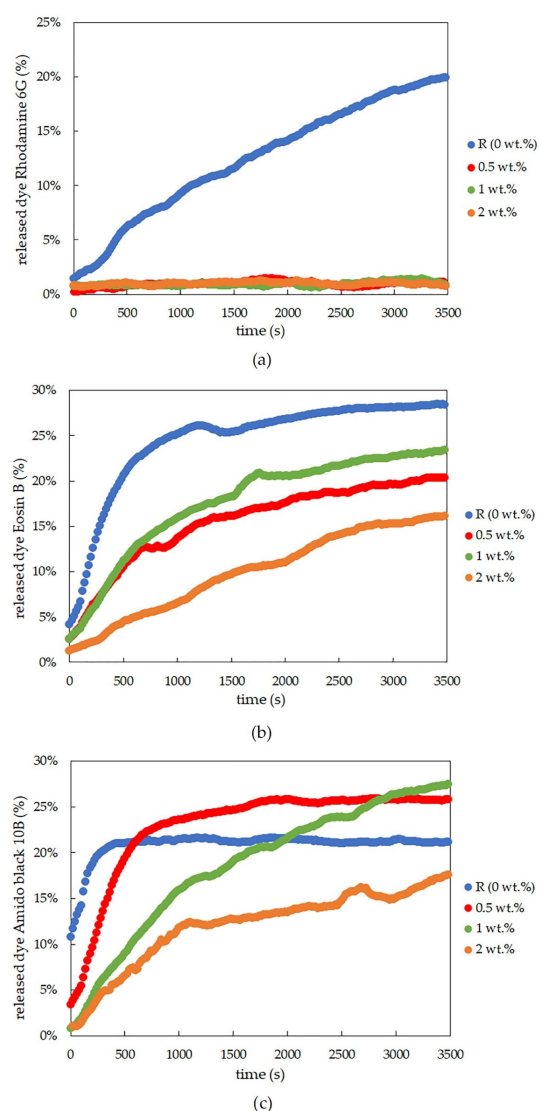


Figure 2. Time development of dye-release experiments for rhodamine 6G (a), eosin B (b), and amido black 10B (c), controlled by the optical probes for physically crosslinked agarose xerogels with different concentrations of lecithin.

Other drug models used were negatively charged eosin B and amido black 10B. These were chosen to study oppositely charged models and to avoid interactions with the modifier. The second studied model dye was the negatively charged eosin B. The characterization of the dye-release process in physically crosslinked hydrogels and xerogels tuned by the addition of lecithin was analogous to rhodamine 6G measurements and has already been described in Section 2.1.1. At the start of the experiment, the dye-release process was similar for all hydrogel samples. With the passage of time, the release of dye accelerated (leading to a higher concentration of dye outside of the sample) in the reference sample and in samples with smaller lecithin concentrations (Table 2). The associated diffusion coefficients were ultimately almost identical for all samples, which is explained by the fact that eosin B and hydrogel matrix interactions with each other should not occur (on the basis that eosin B can react with positively charged components [26]), and thus the diffusion of the negatively charged eosin B is not slowed down inside the hydrogel. The results of FTIR analysis using PCA showed that the main differences between the agarose gels without lecithin and gels with lecithin spectrally correspond to the characteristic bands of lecithin (Figures S3 and S4).

Table 2. Effective diffusion coefficients calculated from dye-release experiments for physically crosslinked agarose hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the negatively charged dye eosin B.

Eosin B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	2.3 ± 0.6	95 ± 13
0.5 wt.%	2.5 ± 0.5	$12 \pm 2 \cdot 10^{-2}$
1 wt.%	2.5 ± 1.2	$9 \pm 3 \cdot 10^{-7}$
2 wt.%	2.4 ± 1.3	4 ± 2

The results for physically crosslinked agarose xerogels and eosin B are presented in Table 2 and Figure 1d. The diffusion coefficient is greater for the reference sample than for samples with lecithin additions (0.5 and 1 wt.%), with the coefficient being the lowest for the sample with the highest lecithin concentration (2 wt.%). This suggests that lecithin heavily influences the coefficient and that even small additions decrease the coefficient significantly. The greater the concentration of lecithin, the lower the D_{eff} value, while the differences between the D_{eff} values themselves were not so substantial. However, if we ignore the reference sample, the magnitude of the diffusion coefficient decreases linearly with increasing lecithin concentration. It can be predicted that the value would decrease even lower to the point where the addition of the modifier was too great, and the dye release was almost negligible or even ceased altogether. This hypothesis is also supported by the time development of the release of eosin B (Figure 2b), which shows the fastest initial release in the reference sample. For samples with different concentrations of lecithin, it is clear that the lecithin inside the system caused a gradual slowing of the release. Samples with smaller lecithin additions (0.5 and 1 wt.%) were almost indistinguishable from each other, and the time of release was very similar. The highest lecithin addition (2 wt.%) led to the biggest retardation.

The third and last studied model dye was negatively charged amido black 10B, and the corresponding results for hydrogels are summarized in Table 3 and Figure 1e. These exhibit the same trend as the results obtained for the other negatively charged dye, eosin B (Table 2 and Figure 1c); thus, the kinetics of the released dye are very similar to each other, which is also confirmed by the calculation of very similar diffusion coefficients. Thus, it can be said that for a negatively charged model drug, the lecithin within the hydrogel does not heavily influence its release time, and the drug is easily released.

Table 3. Effective diffusion coefficients calculated from release dye experiments for physically crosslinked agarose hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the negatively charged amido black 10B.

Amido Black 10B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	2.6 ± 0.8	110 ± 53
0.5 wt.%	2.4 ± 1.0	18 ± 11
1 wt.%	2.2 ± 1.2	5.0 ± 0.4
2 wt.%	3.1 ± 0.1	6 ± 1

The conclusions for amido black 10B within physically-crosslinked agarose xerogels are similar to those for eosin B (Table 3 and Figure 1f). The diffusion coefficient decreases with increasing lecithin concentration in hydrogel samples in comparison with the reference sample, in which no additional factors influence the transport of amido black 10B dye. As seen from Table 3, the higher the concentration of lecithin, the lower the value of the diffusion coefficient obtained. In the case of the highest lecithin concentration (2 wt.%), dye release was substantially slowed down, probably due to the specific lecithin structures formed inside the hydrogel structure. This is also supported by the timing of the release (Figure 2c). These results are very similar to those obtained for eosin B, with the only difference being the smallest addition of lecithin (0.5 wt.%), which is more similar to the reference sample.

2.1.2. Morphological Characterization

The morphological characterizations of physically crosslinked agarose hydrogels complement the already-published SEM images of xerogel samples used in this study (SEM images already published in [10]). As stated in Section 4, hydrogel samples were shock-frozen in liquid nitrogen and immediately underwent lyophilization. Subsequently, the hydrogel structures were analyzed by SEM. The shock-freezing of samples was used to minimize the alteration of hydrogel structure caused by ice crystal growth, which can create some undesirable artifacts. Thus, the structures of freeze-dried hydrogels were similar to their structures in their native state [27].

The images obtained from SEM show differences in hydrogel structures between samples with different lecithin concentrations (Figure 3) and how these structures are potentially affected by the lecithin addition. With increasing concentrations of lecithin, the structures of hydrogels seem more altered and collapsed. Lecithin, either lecithin alone or some structure formed from it, was probably trapped in the pores of the hydrogel network, causing them to enlarge or making them more sensitive to changes caused by the growth of ice crystals. This corresponds with results from the dye-release experiments, where lecithin slowed down diffusion in hydrogels due to specific interactions between them or simply by its presence in a particular place (i.e., “obstruction effect”). At a magnification of $5000\times$ (Figure 4), it is possible to observe pores in the structure of hydrogels (except in the sample with the highest concentration of lecithin, where the structure collapsed). These pores correspond in size to the pores in the structure of agarose hydrogels found in previous work [27].

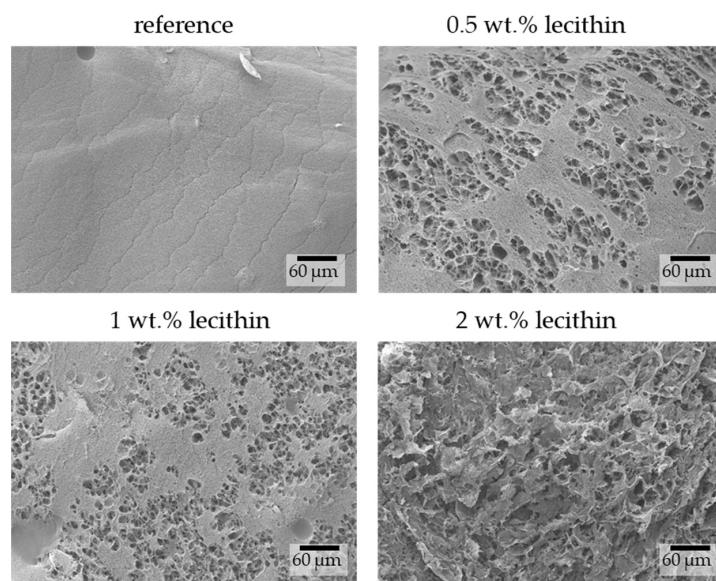


Figure 3. Surface morphologies of physically crosslinked agarose hydrogels with the addition of lecithin revealed by SEM. Original magnification: 500×.

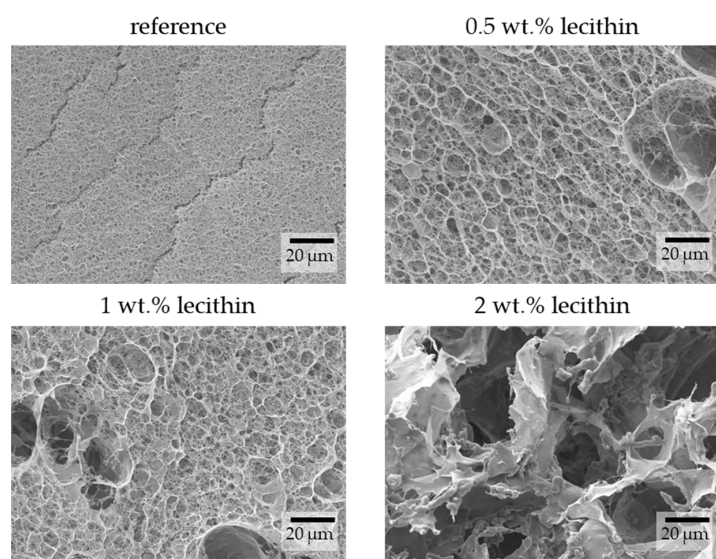


Figure 4. Surface morphologies of physically crosslinked agarose hydrogels with the addition of lecithin revealed by SEM. Original magnification: 5000×.

2.2. Ionic Crosslinking

As an example of an ionically crosslinked hydrogel matrix, sodium alginate crosslinked by calcium ions (2:1 wt. ratio) was studied. Bond formation resulted from the interaction of negatively charged poly(guluronic) acid units of alginate with divalent Ca^{2+} ions. Alginate has been extensively used as a hydrogel-synthetic ECM and thus is an ideal representative of an ionically crosslinked hydrogel for this study [28]. Structural modifications were evoked by lecithin additions, and the resulting transport properties were observed and compared by means of diffusion dye probes. A schematic figure of the preparation procedure can be seen in Supplementary Materials, Figure S5.

2.2.1. Dye-Release Experiments

The first studied model dye was positively charged rhodamine 6G, which was released from an ionically crosslinked alginate hydrogel. Lecithin, which acts as an internal structure modifier, was added to the hydrogel systems in different concentrations. The amount was

the key factor that influenced both the hydrogel and xerogel structures and their related transport properties, which can be seen in Table 4 and Figure 5a.

Table 4. Effective diffusion coefficients calculated from dye-release experiments for ionically crosslinked alginate hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the positively charged dye rhodamine 6G.

Rhodamine 6G	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	2.9 ± 0.2	22 ± 2
0.5 wt.%	1.5 ± 0.1	—
1 wt.%	1.2 ± 0.1	—
2 wt.%	1.2 ± 0.1	—

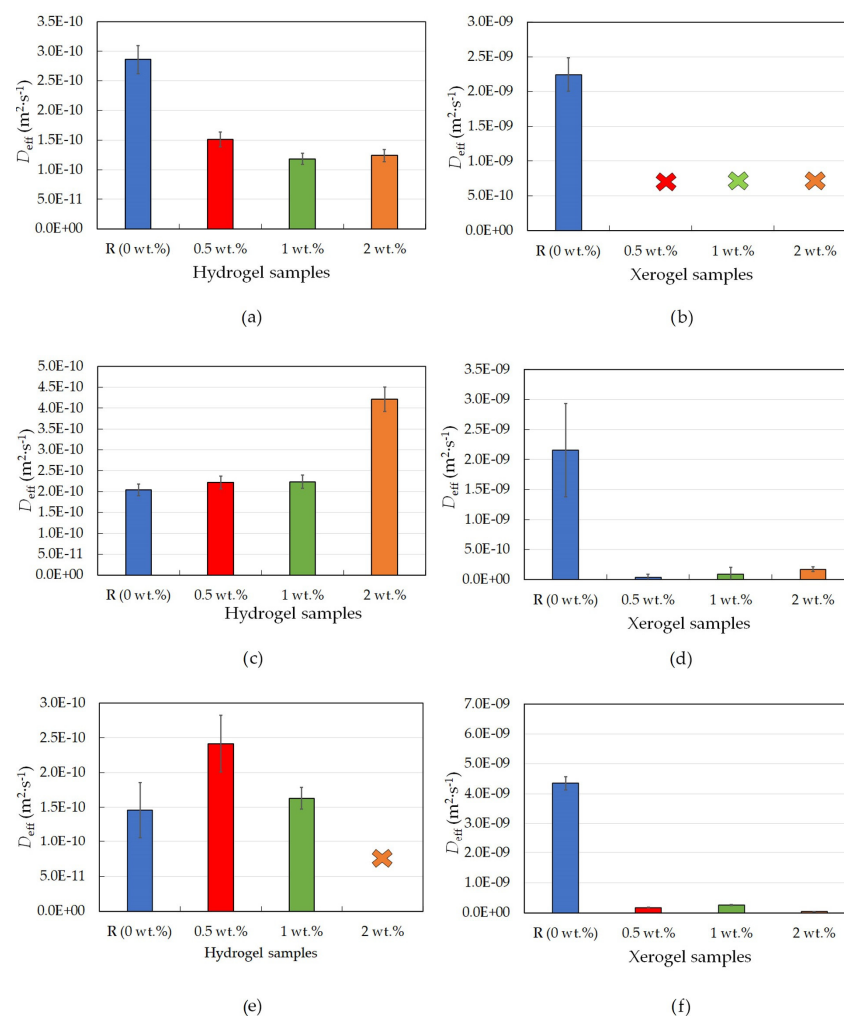


Figure 5. Effective diffusion coefficients for ionically-crosslinked alginate hydrogel and xerogel samples with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%); rhodamine 6G hydrogels (a), rhodamine 6G xerogels (b); eosin B hydrogels (c); eosin B xerogels (d); amido black 10B hydrogels (e); and amido black 10B xerogels (f).

The amount of released dye was the highest for the reference sample, as this hydrogel did not contain any structures or artifacts that would serve as obstacles or as storage moieties for the dye, and since the alginate hydrogel complex should act as a neutral system [29], the dye could be released out of the hydrogel without any problems. The kinetics of dye release slowed down with increasing lecithin concentration, i.e., with

an increasing number of lecithin structures acting as obstacles. The associated effective diffusion coefficient (D_{eff}) was the highest for the reference sample and decreased with increasing lecithin concentration. The differences in D_{eff} values for the samples with distinct additions of lecithin were negligible and thus confirmed the insignificant influence of lecithin concentration on the final value of the diffusion coefficient (in comparison with the reference sample).

Xerogel samples for ionically crosslinked alginate yielded very similar results to those for physically crosslinked agarose samples. In the case of lecithin additions, the concentration of dye was undetectable, probably because of the blockage of positively charged dye release caused by lecithin throughout the whole duration of the experiment. The time of development of the dye release (Figure 6a) was almost identical to that for physically crosslinked hydrogels. The positively charged dye was almost immeasurable outside of the hydrogel, thus confirming interactions with the dye as well as the blockage caused by the lecithin additions [30].

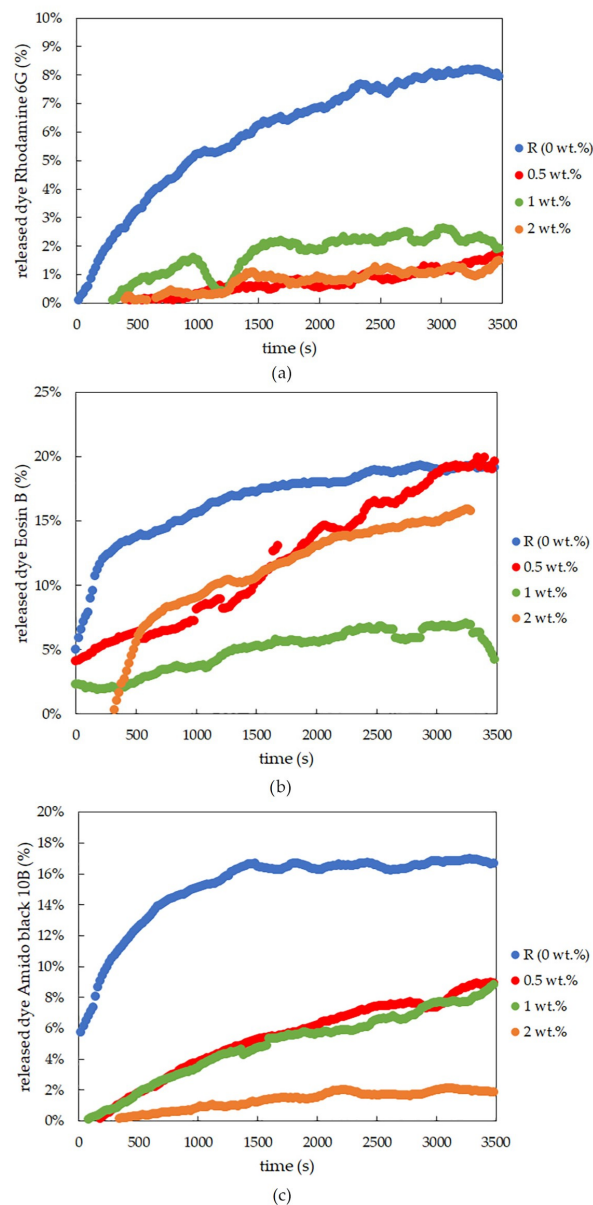


Figure 6. Time development of dye release for rhodamine 6G (a), eosin B (b), and amido black 10B (c), determined by optical probes for ionically crosslinked alginate xerogels with different concentrations of lecithin.

Negatively charged dyes were also studied. As is obvious from Table 5, the increasing lecithin concentration slowed down the release of the negatively charged dye eosin B from ionically crosslinked alginate hydrogels. The diffusion coefficient was then very similar for each sample, regardless of the amount of lecithin within each hydrogel. The sample with the highest lecithin concentration (2 wt.%) presented high deviation values, which were caused by the high content of lecithin released from the sample with the dye.

Table 5. Effective diffusion coefficients calculated from dye-release experiments for ionically crosslinked alginate hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the negatively charged eosin B.

Eosin B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	2.0 ± 0.1	22 ± 8
0.5 wt.%	2.2 ± 0.2	0.4 ± 0.6
1 wt.%	2.2 ± 0.2	0.9 ± 1.2
2 wt.%	4.2 ± 0.3	1.7 ± 0.4

The results for ionically crosslinked xerogels with negatively charged eosin B followed those for physically crosslinked xerogels with the same dye, showing that the reference sample had a much bigger diffusion coefficient than the other samples, their lower coefficients resulting from lecithin addition. According to this, it could be concluded that crosslinking does not have a considerable influence on the diffusion coefficients of xerogels for this type of model drug (dye). The timing of the release of this dye indicates that lecithin slowed down the release since alginate does not interact with eosin B [31]. As mentioned in the previous paragraph, the sample with the highest lecithin concentration (2 wt.%) initially had the slowest release, but, with time, it was possible to observe (Figure 6b) its acceleration, which was caused by the release of lecithin.

The release of the second negatively charged dye, amido black 10B, from ionically crosslinked alginate was significantly slowed down by lecithin additions. The associated diffusion coefficient increased with increasing concentration up to the 1 wt.% sample. During the experiment, the dye release from the samples with the two highest lecithin concentrations was either immeasurable or exhibited big deviations. This was caused by disintegration, which led to the release of both the dye and the lecithin. A similar order of magnitude for the diffusion coefficients (Figure 5c and Table 5) can be observed for the other negatively charged dye, eosin B; however, the differences between each sample for amido black 10b are obvious, which cannot be said for the eosin B samples. In comparison with physically crosslinked agarose hydrogels, again for amido black 10B (Figure 5e and Table 6), the coefficient has values in the same order of magnitude.

Table 6. Effective diffusion coefficients calculated from dye-release experiments for ionically crosslinked alginate hydrogels and xerogels with different concentrations of lecithin and the negatively charged amido black 10B.

Amido Black 10B	Hydrogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	Xerogel $D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
R (0 wt.%)	1.5 ± 0.4	44 ± 2
0.5 wt.%	2.4 ± 0.4	1.8 ± 0.1
1 wt.%	1.7 ± 0.2	2.6 ± 0.1
2 wt.%	—	0.45 ± 0.02

On the other hand, ionically crosslinked xerogels with negatively charged amido black 10B show the exact same trend as physically crosslinked agarose hydrogels. The value of the diffusion coefficient decreases with increasing lecithin concentration. The results of FTIR analysis using PCA showed that the main differences between the alginate

gels without and with lecithin spectrally correspond to the characteristic bands of lecithin (Figures S3 and S6).

2.2.2. Morphological Characterization

Prior to SEM observation, ionically crosslinked alginate hydrogels were shock-frozen in liquid nitrogen and subsequently lyophilized, as were the agarose hydrogels. As stated before, this procedure was used to minimize the alteration of hydrogel structure; however, for these types of hydrogels, it was not effective. As can be seen from Figure 7, the structure of all prepared hydrogels appears similar, leading to the conclusion that they are altered. This was most likely a result of the preparation of the samples. Since these hydrogels were prepared in a smaller volume than the agarose hydrogels, they may have been partially unfrozen prior to lyophilization, which would have caused ice crystal growth and thus the presence of structural artifacts [32]. These results therefore represent artifact-biased images of hydrogels in their native form.

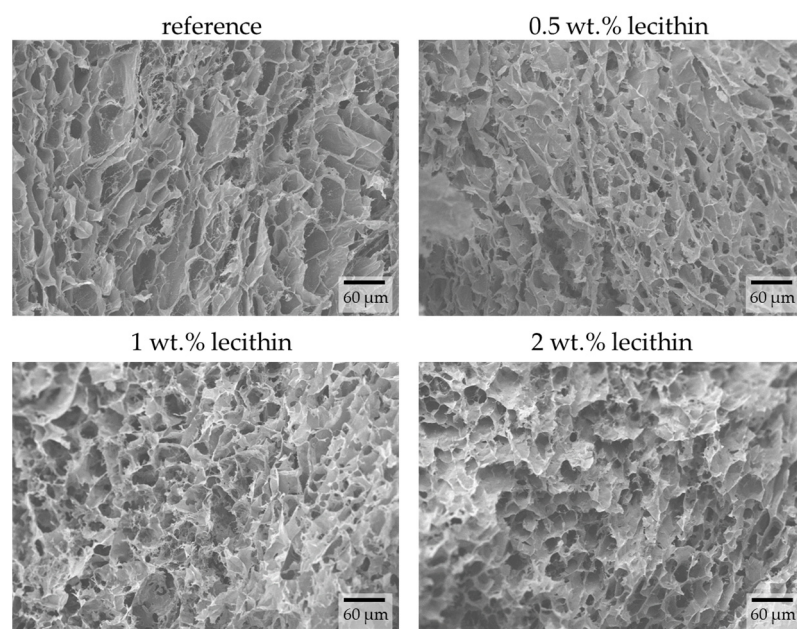


Figure 7. Surface morphologies of ionically crosslinked alginate hydrogels with the addition of lecithin revealed by SEM. Original magnification: 500 \times .

2.3. Chemical Crosslinking

A mixture of PVA (poly(vinyl alcohol)) with chitosan crosslinked by epichlorohydrin was studied as an example of a chemically crosslinked hydrogel. As well as other types of crosslinking, the internal structure and subsequent transport properties of samples were modified by the addition of different amounts of amphiphilic lecithin. Chemically crosslinked samples were studied only in their xerogel form since the preparation method finishes with mixtures in their dried state; thus, rehydrated samples would yield the same results (Section 4.1). The only difference was in the morphological characterization, in which samples were rehydrated to observe their structures in hydrogel form. The samples were chosen for their close similarity to ECM and their ideal biomedical properties [33]. A schematic figure of the preparation procedure can be seen in the Supplementary Materials, Figure S7.

2.3.1. Dye-Release Experiments

The main evaluated parameters were the diffusion coefficients and the amount of released dye. Three different dyes were used to study the transport properties of chemically crosslinked PVA-chitosan samples: positively charged rhodamine 6G, negatively charged

eosin B, and amido black 10B. The negatively charged dyes were held inside the gel very strongly, which was because of the small pores in the highly organized structure of the chemically crosslinked gel as well as the interaction of the positively charged chitosan with the negatively charged dye. The only dye that was measurable outside the gel was released immediately after the experiment started; neither long nor short experiments, the latter focused on the first hour of the experiment, were able to provide results that could be analyzed. Only a residual amount of both of these dyes was released from the xerogels; therefore, no diffusion coefficient values could be calculated.

Only experiments with the positively charged dye, rhodamine 6G, yielded results sufficient for analyses and for obtaining information about diffusion coefficients. As can be seen in Figure 8a, the release of the dye was very fast, and the longer experiment setting was not appropriate for this type of gel. This burst release was studied on similar materials with the purpose of slowing the release [34]. Only experiments focused on the first hour of diffusion were able to yield results. Lecithin influenced the amount of dye released (Figure 8b), with the amount of released dye decreasing with increasing lecithin concentration. The same can be said about the diffusion coefficient (Figure 9 and Table 7), where the results obtained for the highest lecithin concentration (2 wt.%) are unequivocal since this lecithin concentration led to damage to the PVA-chitosan xerogel. The results of FTIR analysis using PCA showed that the main differences between the PVA-chitosan gels with and without spectroscopy correspond to the characteristic bands of lecithin (Figures S3 and S8).

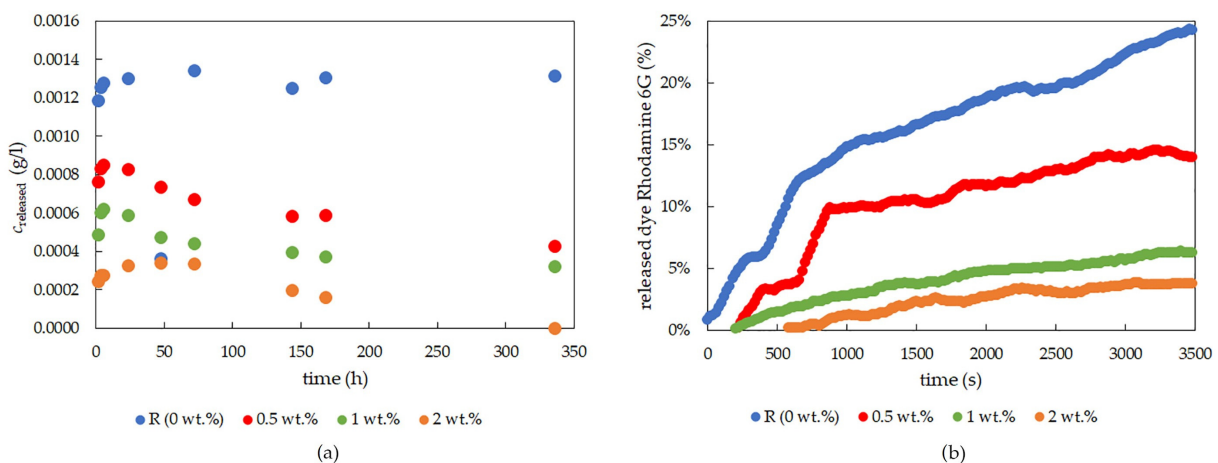


Figure 8. The concentration of rhodamine 6G released from xerogel samples over a longer period of time (a) and the time progress of dye-release experiments using rhodamine 6G for the first 60 min, determined by the optical probe for chemically cross-linked PVA-chitosan (b).

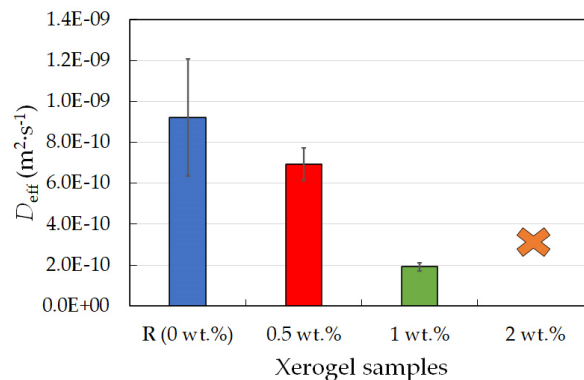


Figure 9. Effective diffusion coefficients for rhodamine 6G for chemically crosslinked PVA-chitosan xerogel samples with different lecithin concentrations (0, 0.5, 1, and 2 wt.%).

Table 7. Effective diffusion coefficient (D_{eff}) calculated from dye-release experiments for chemically crosslinked PVA-chitosan xerogels with different concentrations of lecithin and the positively charged dye rhodamine 6G.

Xerogel Sample (c of Lecithin)	R (0 wt.%)	0.5 wt.%	1 wt.%	2 wt.%
$D_{\text{eff}} \times 10^{-10} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	9 ± 3	7 ± 1	1.9 ± 0.2	—

2.3.2. Morphological Characterization

The chemically crosslinked hydrogels were used in their native (hydrated) form for the preparation of samples for morphological study. The prepared xerogels were left to swell in water and were subsequently shock-frozen in liquid nitrogen and freeze-dried. The images obtained using SEM show the layered structure of the hydrogels. The only observable difference between each sample is the smoothness of the cross-sectional view. With increasing lecithin content, the interlayer roughness increases (Figure 10).

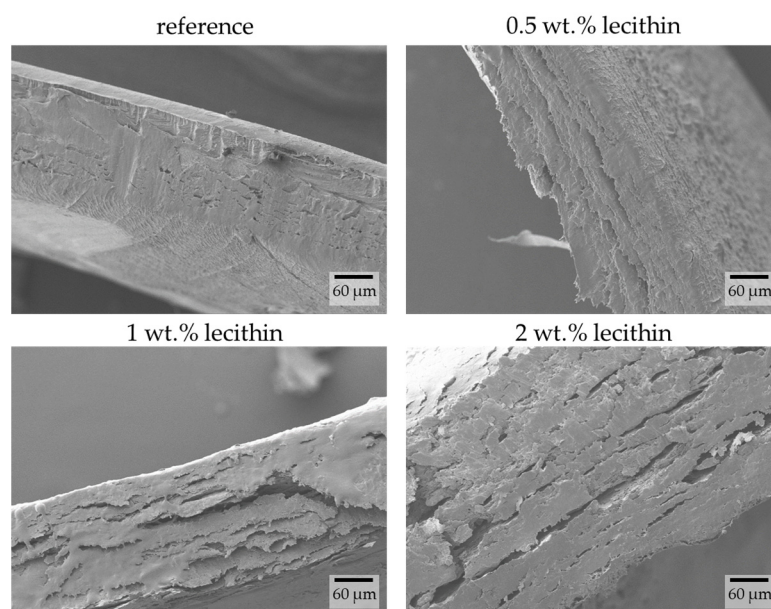


Figure 10. Cross-sectional view of chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels with the addition of lecithin revealed by SEM. Original magnification: 500 \times .

These results correspond with already-published data for xerogels of these chemically crosslinked hydrogels [10]. Since the structures of xerogels and hydrogels for this type of material are very similar, it does not matter which preparation procedure is used to observe the structure using SEM. Furthermore, since the hydrogel structure is smooth and no pores are visible, these observations correspond with results for dye release, in which only a small amount of dye is released.

3. Conclusions

This work focused on the description of the transport properties of differently crosslinked hydrogels and xerogels (physically crosslinked agarose, ionically crosslinked alginate, and chemically crosslinked PVA-chitosan), which were altered with different concentrations of amphiphilic lecithin as a structure modifier to influence the transport properties of the gels. For characterization of the transport properties of the above-mentioned hydrogel systems, various model probes with different charges were used (positively charged rhodamine 6G, negatively charged eosin B, and amido black 10B).

The positively charged dye interacted with the lecithin modifier, which meant that for the physically and ionically crosslinked hydrogels, the dye was held within the hydrogel and released very little dye or none at all, regardless of the quantity of the modifier. When

the charge of the dyes did not interact with the modifier (in the case of negatively charged dyes), the quantity of lecithin had a significant impact on the speed and amount of dye release. Which meant that the diffusion coefficient was lower for the xerogel samples with lecithin compared to the reference samples. In summary, therefore, we can state that the addition of lecithin to physically or ionically crosslinked hydrogels slows down the release of the model drug and affects the amount of drug released. Chemically crosslinked hydrogels appear to be a system that is also affected by lecithin, but not as significantly as in other types of crosslinking.

This work closely follows already-published results dealing mainly with the mechanical properties of the same types of hydrogels and modifications used in this work. Together with our former work, it is possible to compare different morphological characterizations of gels in their hydrogel and xerogel forms.

4. Materials and Methods

Differently crosslinked hydrogel matrices and the effect of lecithin on their properties were studied. Three different crosslinking mechanisms were studied: physical, ionic, and chemical. Agarose E was purchased from Condalab (Madrid, Spain), calcium chloride from Lach-Ner (Neratovice, Czech Republic), and sodium alginate, poly(vinyl alcohol), chitosan, epichlorohydrin, and L- α -Phosphatidylcholine (lecithin) were all purchased from Sigma-Aldrich (Prague, Czech Republic). Dyes used for diffusion experiments differed in charge: positively charged rhodamine 6G (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic), negatively charged amido black 10B (Merck, Darmstadt, Germany), and eosin B (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) were used.

4.1. Sample Preparations

Physically crosslinked hydrogels were prepared using agarose. For every sample, a mixture of agarose (1 wt.%) and lecithin (0, 0.5, 1, or 2 wt.%) was weighed in a container. A liquid dispersion medium was then added to the mixture. The dispersion medium was either pure deionized water (ELGA, PURELAB Classic) or, if needed, a solution of appropriate dye (rhodamine 6G— $0.01 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, eosin B— $0.015 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, or amido black 10B— $0.01 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$). The sample thus prepared was mixed and dissolved at an elevated temperature. It was then left to stand for 24 h to gel prior to further study [10,23].

Ionically-crosslinked hydrogels were prepared by sodium alginate (2 wt.%) crosslinked by calcium ions of calcium chloride ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^3$) at a two-to-one weight ratio. Lecithin was added to the alginate solution and stirred for 24 h. A solution of calcium chloride (if needed, the calcium chloride was dissolved in a solution of an appropriate dye) was sprayed on the layer of sodium alginate with lecithin in order to create a homogeneous hydrogel [10,28]. The sample was then left to stand for 24 h in order for bond creation to finish and for the sample to relax. The hydrogels were then ready for further investigation.

For the preparation of chemically crosslinked hydrogels, lecithin was added to the PVA solution and stirred for 24 h [10], after which the procedure closely followed that described by Garnica-Palafox et al. [33].

4.2. Diffusion Release Experiments

The most important information concerning prospective drug carriers, which were mimicked by hydrogel samples in this study, is their ability to release the drug at an optimal speed. The diffusion/dye-release experiments were the core technique for this study. Samples with different crosslinking mechanisms were studied, as well as lecithin's ability to influence this characteristic. Release characteristics were obtained for samples in their hydrogel form as well as for samples that were dried into their xerogel form. As model drugs released from the matrices, positively-charged rhodamine 6G, negatively charged eosin B, and amido black 10B were used.

The dye was added at the beginning of sample preparation. Thus, samples were prepared with the dye already in them. If the sample was supposed to be in xerogel form,

hydrogels were dried to a constant weight in the laboratory oven at 45 °C. Hydrogel and xerogel samples were cut into the same-sized pieces and put into flasks with a defined volume of deionized water (hydrogels with 20 mL and xerogels with 40 mL) which was constantly stirred. The water was then routinely measured in a UV/Vis spectrophotometer every ten minutes to obtain the absorbance value for the released dye. The experiment ended when all the dye was released, the amount led to a constant weight, or the sample was damaged or destroyed.

The most fundamental parameter that can express (and consequently be used to compare) the transport properties of hydrogels with inner structural changes resulting from the addition of a modifier, such as lecithin, is the effective diffusion coefficient, expressed as the amount of dye released from the gel per $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

It must be noted that calculated diffusion coefficients are not absolute values but only relative (or effective) ones. This means that porosity and tortuosity are hidden in the values of diffusion coefficients. The determination of absolute values of diffusion coefficients requires deeper research focused specifically on the diffusion phenomena of each specific hydrogel. This was not the principal aim of this publication. Therefore, we used effective values for the diffusion coefficients as proxies for comparing the transport properties of the studied hydrogels as a function of the additive concentration and/or type of crosslinking.

The time of development of the mass of released dye can be expressed as follows:

$$\frac{n_t}{n_{\text{rov}}} = \frac{4}{\delta} \cdot \sqrt{\left(\frac{D_{\text{gel}}}{\pi}\right)} \cdot \sqrt{t} \quad (1)$$

$$k = \frac{4}{\delta} \cdot \sqrt{\left(\frac{D_{\text{gel}}}{\pi}\right)} \quad (2)$$

$$D_{\text{gel}} = \left(k \cdot \frac{\delta}{4}\right)^2 \cdot \pi \quad (3)$$

The total amount of released dye at a specific time is expressed as the ratio of the amount of substance at a given time (n_t) divided by the amount of substance at equilibrium (n_{rov}). The effective diffusion coefficients were calculated from the slope of the linear regression of this ratio of the amount of substance as a function of the square root of time. The dimensions of the releasing medium (i.e., hydrogels) were considered as circles of diameter (δ). From this simple calculation, it is obvious that the release experiments must be performed until the equilibrium state is achieved (when the concentration of released dye does not change over time) [35].

During the measurements as well as after evaluation of the results from UV-Vis spectrophotometry, it was found that the release of the dyes from the xerogel samples was too fast for the experimental setup. For this reason, the xerogels were measured again using optical probes and OceanView 2.0 software (OceanInsight, Orlando, FL, USA), which allowed us to obtain UV-Vis absorbance every 20 s for the first hour of the experiment.

4.3. Scanning Electron Microscopy

Morphological characterization of the structures of all prepared hydrogel samples was performed using a ZEISS EVO LS 10 (Carl Zeiss AG, Germany) scanning electron microscope. The samples in their native (i.e., water-filled) form were shock-frozen in liquid nitrogen and then immediately freeze-dried. A few small specimens were taken from each studied hydrogel to maintain objective observation. Before observation, the specimens were gold-coated in a sputtering device (POLARON, Quorum Technologies, Lewes, UK).

The surface morphologies of every sample were recorded. Observations were realized in secondary electron mode, and the accelerating voltage was set to 5 kV to avoid charging the sample.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/gels9050367/s1>, Reference [36] is cited in the Supplementary Material. Figure S1: Influence of crosslinking on the release of rhodamine 6G; Figure S2: Preparation procedure of physically crosslinked agarose hydrogels; Figure S3: Average ATR-FTIR spectra of: (a) dried gel samples and (b) powder lecithin; Figure S4: Results of principal component analysis of the ATR-FTIR spectra of dried reference agarose hydrogel and agarose hydrogel with lecithin; Figure S5: Preparation procedure of ionically crosslinked alginate hydrogels; Figure S6: Results of principal component analysis of the ATR-FTIR spectra of dried reference alginate hydrogel and alginate hydrogel with lecithin, respectively; S7: Preparation procedure of chemically crosslinked PVA-chitosan hydrogels; Figure S8: Results of principal component analysis of the ATR-FTIR spectra of dried reference poly(vinyl alcohol)-chitosan hydrogel and poly(vinyl alcohol)-chitosan hydrogel with lecithin, respectively.

Author Contributions: Conceptualization, R.H. and J.S.; methodology, R.H., N.Z. and M.T.; validation, R.H., N.Z. and M.T.; formal analysis, R.H. and J.S.; investigation, R.H., N.Z., M.K. and M.T.; data curation, R.H., N.Z. and M.T.; writing—original draft preparation, R.H., N.Z., M.T. and M.K.; writing—review and editing, J.S. and M.P.; visualization, R.H., M.T. and N.Z.; supervision, J.S.; project administration, R.H.; funding acquisition, R.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data used in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: The authors wish to warmly thank Petr Sedlacek (BUT CZ) for the FTIR measurements and analyses.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bashir, S.; Hina, M.; Iqbal, J.; Rajpar, A.H.; Mujtaba, M.A.; Alghamdi, N.A.; Wageh, S.; Ramesh, K.; Ramesh, S. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers* **2020**, *12*, 2702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Miyata, T.; Uragami, T.; Nakamae, K. Biomolecule-sensitive hydrogels. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2002**, *54*, 79–98. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Ahmed, E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J. Adv. Res.* **2015**, *6*, 105–121. [[CrossRef](#)]
4. Li, J.; Mooney, D.J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nat. Rev. Mater.* **2016**, *1*, 16071. [[CrossRef](#)]
5. Nezhad-Mokhtari, P.; Ghorbani, M.; Roshangar, L.; Soleimani Rad, J. A review on the construction of hydrogel scaffolds by various chemically techniques for tissue engineering. *Eur. Polym. J.* **2019**, *117*, 64–76. [[CrossRef](#)]
6. Serrano-Aroca, Á. Enhancement of Hydrogels' Properties for Biomedical Applications: Latest Achievements. In *Hydrogels*; IntechOpen: London, UK, 2018; pp. 91–120.
7. Jalageri, M.B.; Mohan Kumar, G.C. Hydroxyapatite Reinforced Polyvinyl Alcohol/Polyvinyl Pyrrolidone Based Hydrogel for Cartilage Replacement. *Gels* **2022**, *8*, 555. [[CrossRef](#)]
8. Jayash, S.N.; Cooper, P.R.; Shelton, R.M.; Kuehne, S.A.; Poologasundarampillai, G. Novel Chitosan-Silica Hybrid Hydrogels for Cell Encapsulation and Drug Delivery. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 12267. [[CrossRef](#)]
9. Appel, E.A.; Tibbitt, M.W.; Webber, M.J.; Mattix, B.A.; Veisoh, O.; Langer, R. Self-assembled hydrogels utilizing polymer-nanoparticle interactions. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6295. [[CrossRef](#)]
10. Heger, R.; Kadlec, M.; Trudicova, M.; Zinkovska, N.; Hajzler, J.; Pekar, M.; Smilek, J. Novel Hydrogel Material with Tailored Internal Architecture Modified by “Bio” Amphiphilic Components—Design and Analysis by a Physico-Chemical Approach. *Gels* **2022**, *8*, 115. [[CrossRef](#)]
11. Riazi, M.R. Chapter 8—Applications: Estimation of Transport Properties. In *Characterization and Properties of Petroleum Fractions*; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA, 2007; pp. 329–336.
12. Kuo, C.K.; Ma, P.X. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials* **2001**, *22*, 511–521. [[CrossRef](#)]
13. Rahman, F.; Rafiquee, M.Z.A.; Aazam, E.S.; Alshabi, A.M.; Iqbal, S.M.S.; Khan, A.A.; Mohammed, T.; Dawoud, A.; Shaikh, I.A.; Maqbul, M.S.; et al. Determination of Rate of Release of Dye from the Hydrogels using Spectrophotometer Studies. *Asian. J. Pharm.* **2020**, *14*, 507–512. [[CrossRef](#)]

14. Feng, Y.; Taraban, M.; Yu, Y.B. The effect of ionic strength on the mechanical, structural and transport properties of peptide hydrogels. *Soft Matter* **2012**, *8*, 11723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Price, W.S. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 1. Basic theory. *Concepts Magn. Reson.* **1997**, *9*, 299–336. [[CrossRef](#)]
16. Evans, S.M.; Litzenger, A.L.; Ellenberger, A.E.; Maneval, J.E.; Jablonski, E.L.; Vogel, B.M. A microfluidic method to measure small molecule diffusion in hydrogels. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2014**, *35*, 322–334. [[CrossRef](#)]
17. Richbourg, N.R.; Peppas, N.A. High-Throughput FRAP Analysis of Solute Diffusion in Hydrogels. *Macromolecules* **2021**, *54*, 10477–10486. [[CrossRef](#)]
18. Piechocki, K.; Koynov, K.; Piechocka, J.; Chamerski, K.; Filipecki, J.; Maczugowska, P.; Kozanecki, M. Small molecule diffusion in poly-(olygo ethylene glycol methacrylate) based hydrogels studied by fluorescence correlation spectroscopy. *Polymer* **2022**, *244*, 124628. [[CrossRef](#)]
19. Jain, E.; Flanagan, M.; Sheth, S.; Patel, S.; Gan, Q.; Patel, B.; Montañó, A.M.; Zustiak, S.P. Biodegradable polyethylene glycol hydrogels for sustained release and enhanced stability of rhGALNS enzyme. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2020**, *10*, 1341–1352. [[CrossRef](#)]
20. Quesada-Pérez, M.; Martín-Molina, A. Solute diffusion in gels: Thirty years of simulations. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2021**, *287*, 102320. [[CrossRef](#)]
21. Jang, S.S.; Goddard, W.A.; Kalani, M.Y.S. Mechanical and Transport Properties of the Poly(ethylene oxide)–Poly(acrylic acid) Double Network Hydrogel from Molecular Dynamic Simulations. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 1729–1737. [[CrossRef](#)]
22. Pomfret, R.; Sillay, K.; Miranpuri, G. An Exploration of the Electrical Properties of Agarose Gel: Characterization of Concentration Using Nyquist Plot Phase Angle and the Implications of a More Comprehensive In Vitro Model of the Brain. *Ann. Neurosci.* **2013**, *20*, 99–107. [[CrossRef](#)]
23. Smilek, J.; Sedláček, P.; Kalina, M.; Klučáková, M. On the role of humic acids' carboxyl groups in the binding of charged organic compounds. *Chemosphere* **2015**, *138*, 503–510. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Klučáková, M. Agarose Hydrogels Enriched by Humic Acids as the Complexation Agent. *Polymers* **2020**, *12*, 687. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Fatin-Rouge, N.; Starchev, K.; Buffle, J. Size Effects on Diffusion Processes within Agarose Gels. *Biophys. J.* **2004**, *86*, 2710–2719. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Lai, M.; Lü, B. Tissue Preparation for Microscopy and Histology. *Compr. Sampl. Sample Prep.* **2012**, *3*, 53–93. [[CrossRef](#)]
27. Trudicova, M.; Smilek, J.; Kalina, M.; Smilkova, M.; Adamkova, K.; Hrubanova, K.; Krzyzanek, V.; Sedlacek, P. Multiscale Experimental Evaluation of Agarose-Based Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels as Materials with Tunable Rheological and Transport Performance. *Polymers* **2020**, *12*, 2561. [[CrossRef](#)]
28. Rowley, J.A.; Madlambayan, G.; Mooney, D.J. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* **1999**, *20*, 45–53. [[CrossRef](#)]
29. Golmohamadi, M.; Wilkinson, K.J. Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *94*, 82–87. [[CrossRef](#)]
30. Cohen, S.; Bañó, M.C.; Chow, M.; Langer, R. Lipid-alginate interactions render changes in phospholipid bilayer permeability. *Biochim. Et Biophys. Acta (BBA)—Biomembr.* **1991**, *1063*, 95–102. [[CrossRef](#)]
31. Klak, M.-C.; Lefebvre, E.; Rémy, L.; Agniel, R.; Picard, J.; Giraudier, S.; Larreta-Garde, V. Gelatin-Alginate Gels and Their Enzymatic Modifications: Controlling the Delivery of Small Molecules. *Macromol. Biosci.* **2013**, *13*, 687–695. [[CrossRef](#)]
32. Kaberova, Z.; Karpushkin, E.; Nevoralová, M.; Vetrík, M.; Šlouf, M.; Dušková-Smrčková, M. Microscopic Structure of Swollen Hydrogels by Scanning Electron and Light Microscopies: Artifacts and Reality. *Polymers* **2020**, *12*, 578. [[CrossRef](#)]
33. Garnica-Palafox, I.M.; Sánchez-Arévalo, F.M.; Velasquillo, C.; García-Carvajal, Z.Y.; García-López, J.; Ortega-Sánchez, C.; Ibarra, C.; Luna-Bárceñas, G.; Solís-Arrieta, L. Mechanical and structural response of a hybrid hydrogel based on chitosan and poly(vinyl alcohol) cross-linked with epichlorohydrin for potential use in tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2014**, *25*, 32–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Hezaveh, H.; Muhamad, I.I. Controlled drug release via minimization of burst release in pH-response kappa-carrageenan/polyvinyl alcohol hydrogels. *Chem. Eng. Res. Des.* **2013**, *91*, 508–519. [[CrossRef](#)]
35. Crank, J. *The Mathematics of Diffusion*, 2nd ed.; Oxford University Press USA: New York, NY, USA, 1979.
36. Mlynáriková, K.; Samek, O.; Bernatová, S.; Růžička, F.; Ježek, J.; Hároniková, A.; Šiler, M.; Zemánek, P.; Holá, V. Influence of Culture Media on Microbial Fingerprints Using Raman Spectroscopy. *Sensors* **2015**, *15*, 29635–29647. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.