



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

**MECHANICKÉ A TRANSPORTNÍ VLASTNOSTI
HYBRIDNÍCH HYDROGELOVÝCH SYSTÉMŮ**

MECHANICAL AND TRANSPORT PROPERTIES OF HYBRID HYDROGEL SYSTEMS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Eliška Klímová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1392/2019 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Eliška Klímová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Mechanické a transportní vlastnosti hybridních hydrogelových systémů

Zadání diplomové práce:

- 1) Prostudovat literaturu zabývající se problematikou přípravy biokompatibilních hybridních hydrogelových sítí.
- 2) Definovat na základě této rešerše reprezentativní zástupce hybridních hydrogelů pro následnou experimentální činnost.
- 3) Zvolit a optimalizovat metodiku studia transportních vlastností hybridních hydrogelů s ohledem na jejich mechanické charakteristiky.
- 4) Získané experimentální výstupy pro zvolené hybridních hydrogely korelovat s daty získanými pro hydrogely, jejichž síť je tvořena pouze jedním typem vazeb.
- 5) Závěrečné zhodnocení výsledků a vyvození závěrů s ohledem na další aplikace těchto materiálů.

Termín odevzdání diplomové práce: 28.5.2021:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Eliška Klímová
student(ka)

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá studiem mechanických a transportních vlastností hybridních hydrogelových systémů. Vzhledem k aplikacím hydrogelů, zejména v oblasti chemického průmyslu, farmacie či medicínských aplikací, byly pro studium vybrány hydrogely na bázi gellanu a alginátu sodného. Pro porovnání jednotlivých vlastností byly připraveny jak fyzikální, tak hybridní hydrogely. Gellanové hydrogely byly připraveny v prostředí deionizované vody, dihydrátu chloridu vápenatého a tweenu 80. Alginátové hydrogely byly připraveny v prostředí dihydrátu chloridu vápenatého a polyakrylamidu s N,N'–methylenbisakrylamidem. Pro studium mechanických vlastností byly vybrány sušící váhy a reologická měření. Transportní vlastnosti byly zkoumány difúzními experimenty v kombinaci s UV-VIS spektroskopickou detekcí. Závěrem této práce je sumarizace naměřených hodnot pro poskytnutí uceleného přehledu na tuto problematiku. Bylo zjištěno, že při vhodně zvolených koncentracích strukturních komponent hydrogelové sítě i jednotlivých aditiv, lze ovlivňovat mechanické i transportní vlastnosti studovaných hydrogelů.

ABSTRACT

This master's thesis deals with the study on mechanical and transport properties of hybrid hydrogel systems. Considering applications of hydrogels, especially in chemical industry, pharmacy, or eventually medical applications, for the study gellan and alginate-based hydrogels were selected. In order to compare individual characteristics physical and hybrid hydrogels were prepared. Gellan hydrogels were prepared in deionization aqua solution, calcium chloride dihydrate and tween 80 solution. Alginate hydrogels were prepared in calcium chloride dihydrate solution as well, and polyacrylamide with N,N'–methylenbisacrylamide. For the study of mechanical properties moisture analyser and rheology measurements were selected. Transport properties were studied using the diffusion experiments combined with UV-VIS spectroscopic detection. Concluding of this thesis is summarization of measured values, which provides comprehensive review of the problematics. It was discovered that the conveniently selected concentrations of structural components of hydrogel matrix and the additives can influence both the mechanical as well as the transport properties of studied hydrogels.

KLÍČOVÉ SLOVA

Hybridní hydrogely, alginát, gellan, reologie, difúzní experimenty, UV-VIS spektrometrie.

KEY WORDS

Hybrid hydrogels, alginate, gellan, rheology, diffusion experiments, UV-VIS spectrometry.

KLÍMOVÁ, Eliška. *Mechanické a transportní vlastnosti hybridních hydrogelových systémů*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124031>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato diplomová práce byla vypracována samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsou správně a úplně citovány. Tato práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
Bc. Eliška Klímová

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Michalu Kalinovi, Ph.D., za veškerou pomoc, odborný dohled, vstřícný přístup a cenné rady při sepisování této práce. Velký dík patří beze sporu mé rodině, která mě všechny ty roky podporovala ve studiu a poskytovala mi zázemí a prostor pro vzdělávání.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Hydrogely	8
2.1.1	Vznik a vlastnosti hydrogelů	8
2.1.2	Dělení hydrogelů podle typu síťování	9
2.1.3	Fyzikálně síťované hydrogely	9
2.1.4	Chemicky síťované hydrogely	11
2.1.5	Hybridní hydrogely	12
2.1.6	Struktura a vlastnosti hybridních hydrogelů	12
2.1.7	Aplikace hydrogelů nejen v medicínských aplikacích	14
2.2	Metody studia vlastností hydrogelů	14
2.2.1	Reologie	14
2.2.2	UV-VIS spektrometrie	20
2.2.3	Difúze	22
2.3	Materiály využitě pro přípravu hydrogelů	24
2.3.1	Gellan	24
2.3.2	Tween 80	25
2.3.3	Alginát	26
2.3.4	Polyakrylamid	27
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	28
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
4.1	Použité chemikálie	32
4.2	Použité přístroje	32
4.3	Příprava zásobních roztoků a koncentračních řad	32
4.3.1	Gellanové hydrogely	33
4.3.2	Alginátové hydrogely	33
4.4	Nastavení přístrojů a popis použitých metod	34
4.4.1	Sušicí váhy	34
4.4.2	Reometr	35
4.4.3	Difúzní experimenty	35
4.4.4	UV-VIS spektrometr	35

5	VÝSLEDKY A DISKUZE	36
5.1	Optimalizace příprav hydrogelových systémů	36
5.1.1	Gellanové hydrogely	36
5.1.2	Alginátové hydrogely	39
5.2	Charakterizace a studium tvorby hydrogelových systémů.....	42
5.2.1	Sušicí váhy	42
5.2.2	Reologická měření.....	47
5.2.3	Transportní experimenty	59
5.3	Korelace výsledků z jednotlivých metod	68
6	ZÁVĚR	69
7	POUŽITÁ LITERATURA	71
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	75
8.1	Seznam použitých zkratk.....	75
8.2	Seznam použitých symbolů.....	75
9	PŘÍLOHY	77

1 ÚVOD

Předmětem studia této diplomové práce je bližší charakteristika hybridních hydrogelových systémů, a to především s ohledem na jejich mechanické a transportní vlastnosti. Jedná se o materiály, které mohou být díky modifikaci jejich fyzikálních a chemických sítí aplikovány téměř na míru potřebným aplikacím. Nejen z tohoto důvodu představují hybridní hydrogely perspektivní materiál současné doby. V této práci jsou studovány hybridní hydrogely na bázi gellanu a alginátu sodného. Tyto látky byly zvoleny s ohledem na jejich výhodné vlastnosti (biokompatibilita, biodegradabilita, netoxické, hydrofilní vlastnosti, dobrá rozpustnost zdrojových surovin pro přípravu hydrogelů) a zejména pro jejich využití v širším sektoru služeb a průmyslu.

Teoretická část představuje vypracování literární rešerše o charakteristice hydrogelů, jejich struktuře, vlastnostech a jednotlivých aplikacích. Jsou zde popsány chemické komponenty, a především metody, které byly navrženy pro studium jejich vlastností. Pro studium mechanických vlastností byly vybrány sušící váhy a reologická měření. Transportní vlastnosti byly zkoumány difúzními experimenty v kombinaci s UV-VIS spektroskopickou detekcí. V experimentální části této práce jsou sepsány veškeré postupy příprav a optimalizací, včetně postupů měření z jednotlivých metod. Závěrečná část je věnována diskuzi a korelaci jednotlivých výsledků napříč využitými metodami, pro co možná nejlepší sumarizaci a přehled.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hydrogely

2.1.1 Vznik a vlastnosti hydrogelů

Hydrogely se definují, jako trojrozměrné polymerní sítě, které jsou schopné přijmout a udržet velké množství vody. Jedná se o dvou nebo vícesložkové disperzní systémy. Disperzním médiem je zde voda, která v této síťové struktuře vyplňuje převážnou část prostoru. Pro hydrogely je tudíž typické, že jejich struktura je schopna pojmout až 50–90 % vody. Hmotnostní podíl vody, je tedy mnohonásobně vyšší než hmotnostní podíl daného polymeru. Jejich schopnost absorbovat vodu vychází z hydrofilních funkčních skupin připojených k polymernímu řetězci. Naopak jejich odolnost vůči rozpuštění vychází z jejich způsobu zesílení [1,2].

Schopnost zadržovat a určitým způsobem propouštět vodu, patří mezi nejdůležitější charakteristiky hydrogelů. Zpočátku hydratace, resp. kontaktu s vodou, tuto interakci iniciují polární hydrofilní skupiny. Nastává formování tzv. primárně vázané vody, což vede k nabobtnání sítě a odkrytí hydrofobních skupin, které jsou také schopny interagovat s vodou. Tímto způsobem dochází k formování tzv. sekundárně vázané vody. Kombinace takto vzniklé primárně a sekundárně vázané vody se sjednocuje do pojmu tzv. celková vázaná voda. Je známo, že síť hydrogelu může absorbovat další vodu díky osmotické hnací síle síťových řetězců směrem k nekonečnému ředění. Proti tomuto nekonečnému zředění působí kovalentní nebo fyzikální vazby. Další absorbovaná voda se pak nazývá volná, nebo též objemová a předpokládá se, že právě ta vyplní prostor mezi řetězci tvořící trojrozměrnou síť, či dutinami v hydrogelu. V závislosti na povaze a samotném složení hydrogelu je dalším krokem tzv. dezintegrace či rozpuštění, pokud je síťový řetězec nebo zesílení degradovatelné [1].

Hydrogely vykazují značnou reaktivitu při změnách okolního prostředí. Často pak citlivě reagují např. na změnu pH, změnu rozpouštědla či na změnu teploty. Hydrogely mohou být připraveny buď ze syntetických polymerů, nebo z polymerů přírodních. Přírodní hydrogely jsou biokompatibilní a zcela netoxické. Přírodní polymery, tvořící hydrogely zahrnují proteiny (kolagen, želatinu) nebo polysacharidy (škrob, alginát či agarózu). Syntetické polymery jsou zase chemicky odolnější než ty přírodní. Jejich mechanická pevnost má za následek pomalý nástup degradace, a proto zajišťují hydrogelu větší mechanickou pevnost [2].

Hydrogely mohou být vytvořeny jedním, nebo více typy monomerů. Široká škála dostupných monomerů umožňuje přípravu hydrogelů téměř na míru tak, aby splňovaly požadavky budoucí aplikace. Obvykle se k polymeru tvořícímu základ trojrozměrné sítě hydrogelu přidává menší množství síťovacího činidla. Polymerační reakce se pak běžně iniciuje např. ultrafialovým zářením, či chemickými katalyzátory. Volba vhodného iniciátoru závisí jak na typu použitých monomerů, tak i na užitých rozpouštědlech. Typická rozpouštědla použitá pro polymeraci v roztoku hydrogelu zahrnují např. vodu, ethanol, směs vody a ethanolu a benzylalkoholu v určitých, přesně definovaných poměrech [2,3].

Mezi klíčové vlastnosti hydrogelů patří bezesporu jejich biokompatibilita. Biokompatibilita představuje kompatibilitu mezi imunitním systémem a hydrogelem. Degradací produkty hydrogelu by neměly být toxické. V ideálním případě by měly být metabolizovány na neškodné produkty nebo by měly být ze systému zcela vyloučeny. Jejich hydrofilní povrch má při kontaktu s tělesnými tekutinami nízkou schopnost se vázat, což vede k nízkému přilnutí proteinů a buněk k jeho povrchu, čímž také přispívá k minimalizaci podráždění okolní tkáně [2,3].

Biodegradabilní hydrogely, které obsahují labilní vazby, jsou proto vhodné v aplikacích, jako je např. tkáňové inženýrství, hojení ran či dodávání léčiv. Tyto vazby mohou být přítomny buď v polymerním skeletu nebo v zesíťovaných vazbách, které byly použity k přípravě hydrogelu. Labilní vazby mohou být za fyziologických podmínek rozrušeny enzymaticky nebo chemicky, ve většině případů hydrolyzou [1].

Dle obsažených polymerů ve strukturách hydrogelů, se hydrogely dělí na *homopolymerní* (sítě jsou tvořeny pouze jedním typem polymeru), *multipolymerní* (sítě jsou tvořeny polymerní sítí, která se skládá ze dvou či více navzájem zesíťovaných polymerů) a na *interpenetrující polymerní síť* (ta obsahuje dvě nebo i více sítí, které jsou částečně propojené, nikoli však kovalentními vazbami). Existují i další skupiny, do kterých dle jednotlivých kritérií můžeme hydrogely dále dělit. Například při pohledu na jejich strukturu, resp. dle jejich fyzikálních a chemických vlastností, je můžeme dělit na *amorfní* (nekrystalické), *semikrystalické* (směs složená z amorfní a krystalické fáze) a na zcela *krystalické*. Taktéž je můžeme klasifikovat z pohledu přítomnosti, či nepřítomnosti elektrického náboje. Dle chování ve vysušeném stavu, pak hydrogely dělíme mezi tzv. *reverzibilní* a *ireverzibilní* [2].

2.1.2 Dělení hydrogelů podle typu síťování

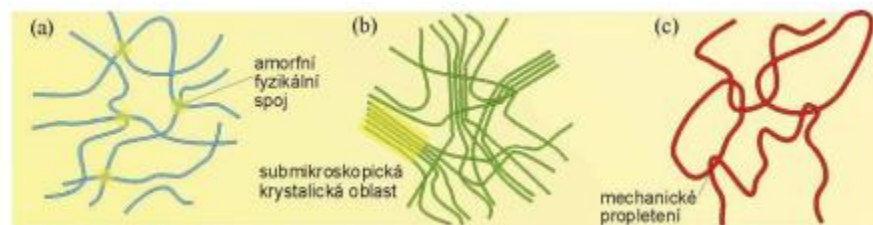
Prostorová struktura gelu je tvořena sítí makromolekulárních řetězců, které jsou spojeny působením sil fyzikální nebo chemické povahy, a to v místech, které se nazývají uzly, uzlové body nebo uzlové oblasti. Z toho důvodu dělíme gely na *fyzikálně* a *chemicky síťované*. Existují také gely s kombinovaným síťováním, tzv. *hybridní hydrogely* [4].

2.1.3 Fyzikálně síťované hydrogely

Fyzikálně síťované gely (též zvané jako gely slabého typu) vznikají spojováním úseků polymerních řetězců působením fyzikálních sil (van der Waalových, polárních sil, vodíkových vazeb) do uzlů, nebo spíše do uzlových oblastí. Ty se ale netvoří na koncích řetězců, ale mezi libovolnými úseky jednotlivých makromolekul. Jedna makromolekula může být např. zapojena do několika uzlových oblastí. Takto zapojené úseky se střídají s úseky volnými, které si zachovávají ohebnost i tepelný pohyb. K asociaci mezi jednotlivými řetězci dochází při snížení afinity vysokomolekulární látky k rozpouštědлу např. snížením teploty, zvýšením dané koncentrace nebo např. volbou jiného rozpouštědla. Typickou vlastností těchto gelů je, že se chovají elasticky jen při nižších hodnotách smykového napětí. Naopak při vyšších hodnotách, dochází k celkové degradaci sítě a rozpadu jednotlivých uzlů [2].

Jestliže je shlukování makromolekul nepravidelné, vznikají fyzikálním síťováním tzv. *amorfní gely* (viz Obrázek 1). Dochází-li při vzniku hydrogelu k uspořádání částí molekul tak, že se ukládají poměrně krátké úseky několika desítek lineárních makromolekul rovnoběžně, vytváří se v takových oblastech tzv. *krystalická mřížka*. Vznikají i gely, ve kterých se střídají oblasti se strukturou krystalickou s oblastmi amorfními. Jedna makromolekula pak může být zapojena střídavě jak v krystalické, tak i v amorfní oblasti, a to se spjitým přechodem (existence byla potvrzena metodami využívající difrakce a rozptylů paprsků X). Vznik gelu závisí jak na povaze vysokomolekulární látky, tak na podmínkách procesu samotné gelace [2,4].

Další možností tvorby fyzikálně síťovaných gelů je separace, a to na koncentrovanou a zředěnou fázi při ochlazení roztoku amorfního polymeru pod kritickou teplotu rozpouštědla. Vzniká tak gel, který obsahuje submikroskopické oblasti koncentrované fáze, vzájemně propojené řetězci makromolekul obsažených ve fázi zředěné [4].



Obrázek 1: Síťovitá struktura vysokomolekulárních gelů: (a) amorfní gel, (b) gel se submikroskopickými krystalickými oblastmi, (c) geometricky síťovaný gel [4].

Kromě spojování makromolekulárních řetězců působením fyzikálních sil může docházet ke tvorbě hydrogelů také tzv. geometrickým síťováním. Síťováním mechanickým propletením řetězců důsledkem tepelného pohybu. Takto vzniklý systém bývá často jen krátkodobý. Není-li systém síťován i fyzikálními silami nebo kovalentně, jednotlivé řetězce se pak po určité době mohou rozplést a vzdálit se od sebe [4].

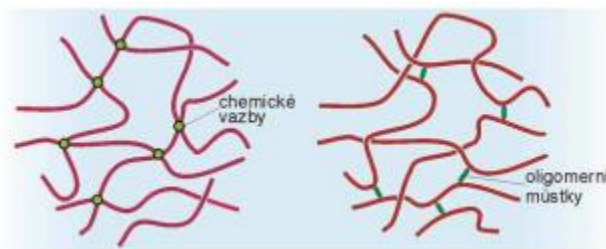
Je známo, že gely s pevnými spoji se chovají podobně jako gely s kovalentními vazbami. Je to dáno tím, že na vlastnosti vzniklých hydrogelů má vliv jak samotná struktura, tak velikost, a hlavně pevnost uzlové oblasti fyzikálně síťovaného gelu. Síťe gelů se slabšími uzly se pak rozpadají, a to jak vlivem vnějšího napětí, tak např. i zvýšením teploty. Existují totiž i tzv. *termoreverzibilní gely*, které lze ohřátím převést na roztok a ochlazením roztoku zpět na gel. Mezi tyto gely se řadí například gellan či agaróza. Teplota, při které koloidní roztok tuhne v gel, se nazývá *teplota tuhnutí* a teplota, při níž gel přechází na sol, se označuje jako *teplota ztekucení* [2,4].

Gelace je postupný proces, kdy sol přechází na gel přes viskózní, až polotuhá stádia, a proto nejsou tyto teploty stejné. Obě teploty závisí na rychlosti chlazení (resp. ohřevu). Tento teplotní rozdíl lze vysvětlit tím, že při ochlazování solu vznikají nejprve málo pevné vazby a jejich pevnost pak postupně roste. Styčné body se tedy tvoří při nižší teplotě, než při které se naopak rozpadají. Na průběh gelace však mají vliv i veličiny jako je teplota, koncentrace, pH nebo mechanické podmínky procesu tvorby gelu [4].

Zvýšením teploty zpravidla dochází k zabránění vzniku gelu, neboť roste intenzita tepelného pohybu částic a v důsledku toho klesá počet i doba trvání vazeb mezi makromolekulami. Naopak snížením teploty se tvorba gelu zpravidla podporuje. Gelaci roztoků vysokomolekulárních látek podporuje i např. vzrůst koncentrace. Tímto nárůstem totiž roste četnost srážek v systému a zvětšuje se tím tudíž počet vazeb, které přispívají ke tvorbě samotného gelu. V případě vodných roztoků amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů (kam patří typicky bílkoviny) dochází ke tvorbě gelů zpravidla při hodnotách pH odpovídajícím hodnotám izoelektrických bodů [4].

2.1.4 Chemicky síťované hydrogely

Kovalentně (chemicky) síťované gely (též zvané jako gely silného typu) jsou tvořeny trojrozměrnou síťovou strukturou na bázi chemických vazeb. Kovalentní uzly se pokládají za trvalé, stálé a jejich spoje jsou velmi pevné (viz Obrázek 2). Právě pevnost chemicky síťovaných gelů, je důležitý a často zkoumaný parametr u reologických studií. Pro oba typy gelů platí, že překročení tzv. *statické meze toku* (neboli kritické hodnoty napětí) dochází k jejich trvalé deformaci. Na chemicky síťované gely má však vliv i mnoho dalších faktorů, např. teplota, koncentrace či hodnota pH [2,4].



Obrázek 2: Kovalentně síťované gely [4].

Je známo, že kovalentně síťované gely vznikají jako *xerogely* nebo *lyogely* podle toho, zda při jejich přípravě bylo přítomno kapalně disperzní prostředí. Kovalentní makromolekulární gel představuje nekonečnou trojrozměrnou síťovou strukturu tvořenou chemickými vazbami, která vzniká buď nelineární kondenzací nebo adiční polymerací monomerů, nebo síťováním lineárních polymerů vhodným síťovacím činidlem. Struktura gelů s chemickými vazbami je oproti fyzikálně zesíťným gelům velmi pevná. Xerogely vznikající jejich vysušením v rozpouštědlech bobtnají, avšak zpět na roztok by je bylo možné převést odbouráním všech vazeb (nejen chemických), které vznikly při gelaci [4].

Xerogely patří mezi tzv. *reverzibilní gely* (fyzikální), které jsou schopné přecházet zpět do původního stavu přijímáním disperzního prostředí, tj. bobtnáním. Tohle chování vykazují především makromolekulární gely. Existuje ještě skupina tzv. *ireverzibilních gelů*, které mají ve vysušeném stavu přibližně stejný objem jako původní lyogely, avšak bývají porézní. Při styku s disperzním prostředím jsou sice schopné určité množství kapaliny sorbovat, ale lyogel tím nevzniká. Přeměna ireverzibilního gelu na xerogel je tedy nevratná. Lyogel je jinými slovy systém (gel), který obsahuje kapalné disperzní prostředí [4].

2.1.5 Hybridní hydrogely

Hybridní hydrogely patří do specifické třídy hydrogelů. Tyto hydrogely se vyjímají vynikajícími mechanickými vlastnostmi, a to díky jejich specifické struktuře. Struktura hybridních hydrogelů se skládá ze specifické kombinace dvou sítí s navzájem kontrastními strukturami. První síť je zpravidla tou více křehkou. Slouží k tomu, aby po namáhání gelu byla schopna napětí rozvolnit na malé shluky, které se účinně rozptýlí např. kolem špičky trhliny do okolní zóny poškození. Naproti tomu druhá síť se skládá z tvárného polymerního řetězce, který zde zpravidla funguje jako „lešení“, které je schopno odolávat větším deformacím. Je známo, že molární koncentrace této druhé (tažné) sítě je mnohem větší než sítě první. Takto sestavená podvojná síť má tudíž významnou, a pro hybridní hydrogely typickou, kontrastní typologickou strukturu [5].

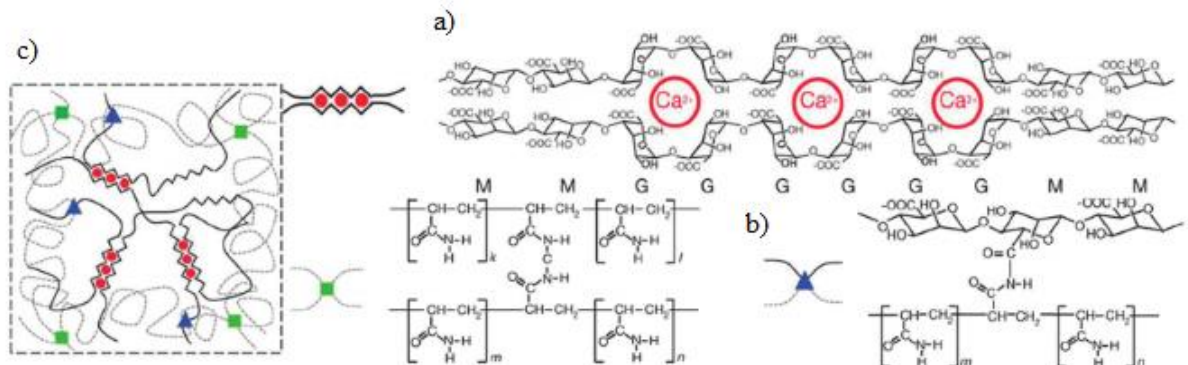
Jinými slovy, kombinovaná síť hybridního hydrogelu je tvořena dvěma sítěmi, z nichž jedna je *fyzikálně* a druhá *chemicky zesíťovaná*. Síly, které tyto sítě drží pohromadě jsou převážně nekovalentní vazby. Patří mezi ně hydrofobní interakce, van der Waalovy síly, vodíkové vazby či např. elektrostatické repulze v závislosti na daných fyzikálně-chemických vlastnostech obou polymerů, ze kterých se hybridní hydrogel skládá [6].

2.1.6 Struktura a vlastnosti hybridních hydrogelů

V rámci experimentální části této práce byly studovány hybridní hydrogely, přičemž jejich charakteristiky (viskoelastické, transportní) byly srovnávány s chemicky či fyzikálně síťovanými gely tvořenými, na rozdíl od hybridních hydrogelů, pouze jedním typem vazeb. Tvorba hybridní hydrogelové sítě je blíže popsána na příkladu hybridního hydrogelu na bázi alginátu sodného, zesíťovaného vápenatými ionty a kovalentně zesíťovaný polyakrylamid (dále jen PAAm), tvořící druhou síť (tzv. hybridní hydrogel alginát–Ca²⁺–PAAm).

Tento hybridní hydrogel, alginát–Ca²⁺–PAAm, je z mnohých článků znám pro svou dobrou roztažnost a také tím, že jeho lomová energie se blíží lomové energii přírodního kaučuku (lomová energie je energie, při které se vytváří trhlina a systém se následně rozpadá). Jednalo se tedy o systém z chemicky síťovaného PAAm a fyzikálně síťovaného alginátu sodného Ca²⁺ ionty [7].

Pro demonstraci struktury hybridního hydrogelu je níže popsána struktura hydrogelu, který byl pro tuto práci připraven. Jak je známo, alginátový řetězec obsahuje kyselinu manuronovou (dále jen M blok) a kyselinu guluronovou (dále jen G blok). Struktura alginátu se skládá z G a M bloků, které mohou být uspořádány odděleně nebo střídavě. U alginátu je známo, že ve vodném roztoku tvoří G bloky iontové zesílení s především divalentními kationty (nejčastěji s Ca^{2+} ionty), což vede k vytvoření alginátového hydrogelu (viz Obrázek 3). Naproti tomu v polyakrylamidovém hydrogelu tvoří síť polyakrylamidové řetězce díky vazbám kovalentním [7].



Obrázek 3: a) Struktura alginátu, b) Struktura polyakrylamidu, c) Struktura hybridního hydrogelu [7].

V alginátovém gelu (viz Obrázek 3) tedy tvoří G bloky iontové zesílení přes Ca^{2+} ionty (červené kruhy) a v polyakrylamidovém gelu tvoří polymerní řetězce kovalentní zesílení přes N,N'-metylenbisakrylamid (zelené čtverečky). V připraveném alginát-polyakrylamidovém hybridním hydrogelu jsou tyto dva typy polymerních sítí propleteny a spojeny kovalentními uzly (modré trojúhelníky), které se vytvářejí mezi aminovými skupinami na polyakrylamidových řetězcích a karboxylovými skupinami na alginátových řetězcích [6].

Gely s tzv. dvojitou sítí, mají strukturu prostupující polymerní sítě, kde jednotlivé vlastnosti těchto dvou sítí existují v ostrém kontrastu. Jedná se o především hustotu sítí, tuhost, molekulovou hmotnost či např. hustotu zesílení. Tyto struktury se obvykle syntetizují pomocí dvou kroků. Prvním krokem je postupná polymerace volných radikálů, při které je síť tzv. neutrálního polymeru s vysokou relativní molekulovou hmotností začleněna do nabobtnalé heterogenní polyelektrolytové sítě. Je dokázáno, že mechanické vlastnosti hybridních hydrogelů připravených z mnoha různých polymerních párů se ukázaly být mnohem lepší než vlastnosti jednotlivých složek [7].

U tohoto typu gelů je zachována rovnováha mezi vhodnou křehkostí první sítě a tažností druhé sítě, aby se získala anomální struktura hybridního hydrogelu. V praxi se zjistilo, že silné kontrastní vlastnosti obou sítí v těchto gelech je dělají zcela odlišné od gelů konvenčních, tvořených pouze jedním typem síťování [5].

Také se zjistilo, že k dramatickému zvýšení mechanické pevnosti těchto gelů dochází nad oblastí, kde jsou vzájemně propojeny lineární řetězce vysokomolekulárních polymerů. Spletení mezi vysokomolekulárním polymerem a křehčí složkou hraje naopak důležitou roli ve ztužovacím mechanismu gelů [5].

Vyšší pevnost těchto gelů je způsobena spíše synergickým účinkem binární struktury nežli lineární kombinací dvou komponentních sítí. Z důvodu lepších mechanických vlastností našly hybridní hydrogely uplatnění v medicínských aplikacích, např. jako umělé chrupavky. V zásadě mohou být tyto specifické hydrogely syntetizovány z jakéhokoliv druhu hydrofilních polymerů, ideálně pak z látek biokompatibilních, aby se následně daly využít v aplikacích jako tzv. *scaffoldy* pro tkáňové inženýrství či např. jako nosiče léků. V praxi byly syntetizovány hybridní hydrogely z různých látek v nepřeborném množství kombinací (např. PAMS–PAAm, alginát–PAAm, alginát–polymethylmethakrylát, polyvinylacetát–PAAm, gellan–tween 80, aj.) [5,8].

2.1.7 Aplikace hydrogelů nejen v medicínských aplikacích

Hydrogely našly své uplatnění zejména v hygienických výrobcích, zemědělství, distribuci léčiv, v potravinářství jakožto zahušťovadla, ve farmacii, biomedicínských aplikacích a v neposlední řadě ve tkáňovém inženýrství. Vzhledem k jejich vlastnosti absorbovat vysoké množství vody a biokompatibilitě se používají jako základ v obvazových materiálech, hygienických polštářcích, transdermálních systémech, dentálních materiálech, implantátech, injekčních polymerních systémech, očních aplikacích a v mnoha dalších odvětvích. Samotný proces gelace je totiž důležitý pro celou řadu dalších výrob. Využívá se např. při výrobě vláken, zpracování kůží, nebo při aplikaci lepidel. Ve farmacii se proces gelace využívá hlavně k přípravě gelových kapslí [1,2].

Neustále se zkoumají nové a nové monomery, které by se do hydrogelů mohly inkorporovat, což souvisí s jejich narůstající použitelností. Hydrogely pro hygienické aplikace, jsou založeny zejména na kyselině akrylové a jejích solích. Naopak základní složkou v hydrogelových přípravcích, využívajících se zejména v oblasti zemědělství, je např. akrylamid [2].

2.2 Metody studia vlastností hydrogelů

2.2.1 Reologie

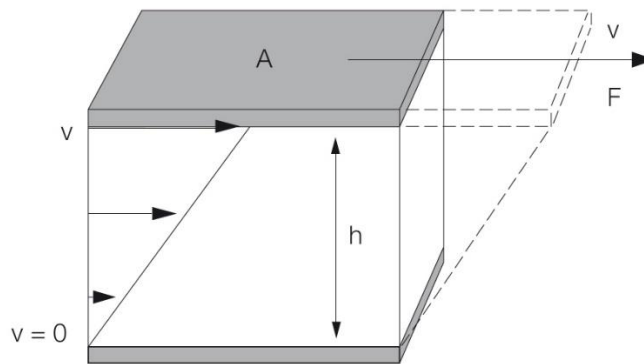
Reologie je vědní obor, který se zabývá tokem a deformací hmoty vlivem působení vnějších sil. Jedná se o studium toku a deformace hmoty, popisující vztahy mezi působící silou, deformací a časem. Obecně rozlišujeme dva typy chování – *viskózní* a *elastické*. V jednom případě může účinkem síly nastat deformace, která může následně po jejím odstranění vymizet. V tomto případě mluvíme o elastickém chování. Elastické chování je typické převážně pro tuhé látky. Energie vynaložená na deformaci se totiž ukládá do struktury deformované látky a po tzv. *relaxaci* se uvolní ve formě práce, využitě k převedení tělesa zpět do původní struktury [6].

V druhém případě může působením síly hmota téct a po odstranění působení této síly se její tok zastaví. V tomto případě mluvíme o chování viskózním. Viskózní chování je charakteristické pro tekutiny. Elastické chování vychází z Hookova zákona, zatímco viskózní chování definuje Newtonův zákon [9].

Reologie se však nezabývá pouze deformací pevných či toku tekutých materiálů. Zabývá se chováním komplexnějších viskoelastických systémů. Tyto systémy totiž v reakci na působící sílu, deformaci nebo změnu času vykazují vlastnosti jak pevných látek, tak kapalin. K těmto materiálům patří i koloidně disperzní systémy, mezi které patří právě gely. Přístroj, který měří tyto reologické vlastnosti se nazývá *reometr*. Reologická měření nachází své uplatnění zejména v oblasti kontroly kvality surovin nebo v charakterizaci polymerních látek [6,9].

Reometr měřený vzorek mechanicky deformuje otáčením rotujícího senzoru o různé geometrii (viz Obrázek 7) s různou rychlostí nebo vynaložením různě velké síly. Mechanický podnět může být vyvolán rovněž oscilačním pohybem senzoru s různou intenzitou (u provádění tzv. *viskoelastických testů*). Výsledkem rotace senzoru jsou poté informace zejména o viskozitě a tokových vlastnostech měřeného vzorku. Z oscilačních pohybů senzoru se například dozvíme, nakolik se vzorek chová elasticky a nakolik je dominantní viskózní složka studovaného materiálu. Existuje celá řada přístrojů určených k hodnocení a měření viskozity. Patří sem např. pádové (tělískové) viskozimetry nebo průtokové viskozimetry [9].

Model, který autoři pro reologická měření často ilustrují, je model tzv. *paralelních desek* (viz Obrázek 4). Ilustrativní model je složen ze dvou desek. Horní deska je pohyblivá, o ploše A . Po uvedení do pohybu silou F , se pohybuje rychlostí v . Spodní deska je naopak statická. Vzdálenost mezi oběma deskami popisuje veličina h [9,10].



Obrázek 4: Model paralelních desek [9].

Pro provedení reologických měření je nezbytné znát veličiny, se kterými se při těchto měřeních setkáme. Základní veličinou je smykové napětí. Pro vyvolání pohybu látky mezi dvěma deskami, při smykovém napětí působí síla F na povrch A . Rychlost tohoto pohybu je tedy při dané síle řízena vnitřními silami měřeného materiálu:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1)$$

, kde σ je smykové napětí ($\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$ neboli Pa), F je síla (N) a A je plocha (m^2). Působením smykového napětí na tok látky mezi deskami vzniká ideálně laminární tok. Nejvyšší vrstva je pohybuje rychlostí maximální, kdežto ostatní vrstvy jsou v klidu. Smyková rychlost je definována jako:

$$\gamma = \frac{v}{h} \quad (2)$$

, kde γ je smyková rychlost (s^{-1}), v je rychlost ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) a h je vzdálenost mezi deskami (m). Dynamická viskozita popisuje tvrdost materiálu a je definovaná následovně:

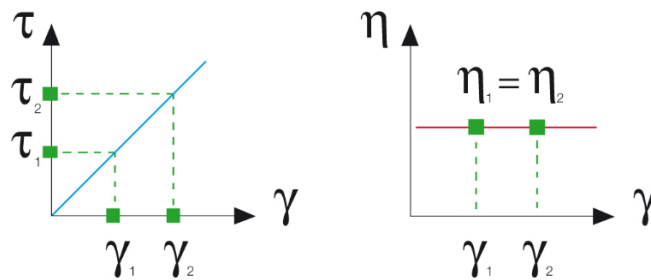
$$\eta = \frac{\sigma}{\gamma} \quad (3)$$

, kde η je dynamická viskozita ($\text{Pa}\cdot\text{s}$), σ je smykové napětí (Pa) a γ je smyková rychlost (s^{-1}). Prováděním rotačních testů bývá záznam, tzv. *toková křivka*, který představuje závislost mezi viskozitou a smykovou rychlostí měřícího senzoru. Kapaliny, u nichž se viskozita s rostoucí smykovou rychlostí (rychlostí deformace) nebo časem nemění, se označují jako tzv. *newtonské kapaliny* (viz Obrázek 5) [9,11].

Newtonské kapaliny vykazují chování, dle Newtonova zákona viskozity, který popisuje chování tekutin lineárním vztahem mezi smykovým napětím a smykovou rychlostí následujícím vztahem:

$$\sigma = \eta \cdot \gamma \quad (4)$$

, kde σ je smykové napětí (Pa), η je dynamická viskozita ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) a γ představuje smykovou rychlost (s^{-1}). Mezi newtonské kapaliny se zpravidla řadí nízkomolekulární látky [10,12].

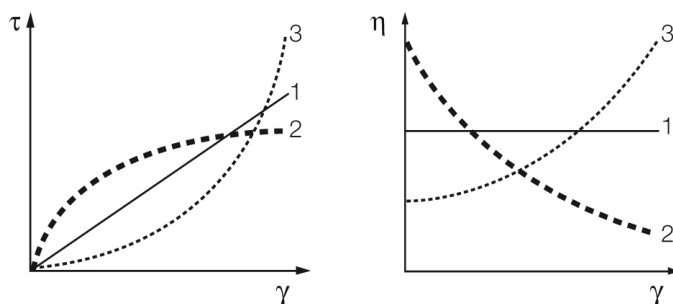


Obrázek 5: Tokové křivky newtonské kapaliny vyjadřující závislost tečného napětí na smykové rychlosti (vlevo) a dynamické viskozity na smykové rychlosti (vpravo) [9].

Existují ale také případy, kdy řada látek vykazuje chování tzv. *neneutonských kapalin* (viz Obrázek 6). Mezi tyto látky obecně patří roztoky a taveniny polymerů, suspenze, pasty apod. Viskozita těchto látek není jejich látkovou konstantou, ale závisí na rychlosti deformace příp. na tečném napětí [9].

Mezi základní typy neneutonských kapalin patří např. látky *pseudoplastické*, jejichž zdánlivá viskozita se s rostoucím gradientem rychlosti zmenšuje. Mezi pseudoplastické látky patří např. roztoky a taveniny polymerů, roztoky mýdel a detergentů, některé suspenze apod. V praxi je pseudoplasticita často vítanou vlastností, neboť snižuje energetickou náročnost při míchání nebo toku kapalin potrubím aj. [9].

Dalším typem neneutonských kapalin jsou látky *dilatantní*, jejichž zdánlivá viskozita s rostoucím gradientem rychlosti roste. V praxi je dilatance spíše nežádoucí, neboť často komplikuje technologické procesy a pokud je to možné, potlačuje se změnou chemického složení daného materiálu. Patří sem některé vysoce koncentrované suspenze [12].



Obrázek 6: Tokové křivky (1) newtonské kapaliny, (2) pseudoplastické kapaliny, (3) dilatantní kapaliny [9].

Další skupinou nenewtonských kapalin jsou látky *binghamské*. Jedná se o kapaliny s plastickou složkou deformace, u nichž dochází k toku až po překročení určitého prahového smykového napětí, tzv. *meze toku* (kluzu). Mezi binghamské kapaliny patří např. koncentrované průmyslové a odpadní kaly, kašovitě suspenze vápna nebo kečup. I u pseudoplastických a dilatantních kapalin ale může existovat varianta s mezním smykovým napětím. Typické plastické chování vykazují například zubní pasty, čokoláda, rtěnky, aj. [12].

Existují také kapaliny s časově závislou složkou deformace, které mění zdánlivou viskozitu v závislosti na době působení daného napětí. Tokové křivky těchto látek jsou hysterézní a průběh při zvyšování napětí se liší od průběhu při jeho snižování. Mezi tyto typy patří látky *tixotropní* a *reopektické*. U látek tixotropních jejich zdánlivá viskozita s prodlužující se dobou působení napětí klesá (tohle chování je typické např. pro nátěrové hmoty). U látek reopektických jejich zdánlivá viskozita během smykového namáhání s časem naopak roste (s tímto chováním se v praxi setkáváme jen zřídka, např. u suspenzí bentonitu) [12].

Viskoelastické testy

Viskoelastické testy se měří pomocí oscilačního pohybu senzoru reometru s různou intenzitou oscilace. Jak už bylo výše popsáno, z reologického hlediska jsou gely typickým příkladem komplexnějších viskoelastických materiálů. Pomocí reologických testů můžeme blíže specifikovat, jestli se daný gel chová spíše jako kapalina, nebo jako tuhá látka. Projevem elasticity je tzv. *elastický modul* G' (též nazývaný jako paměťový), který v případě elastického materiálu převyšuje tzv. *viskózní modul* G'' (též ztrátový) a opačně. Elastický modul tudíž popisuje schopnost tělesa si uchovat elastickou energii, která se v něm ukládá během napěťového cyklu. Viskózní modul naopak souvisí s nevratnou změnou deformační energie. Viskózní modul tedy popisuje viskózní charakter měřené látky. V praxi je téměř každý materiál do určité míry viskoelastický, a právě poměr těchto dvou modulů nám umožňuje určit jejich chování a vlastnosti [9].

Veličinou, která úzce souvisí s elastickým a viskózním modulem je tzv. *ztrátový úhel*. Ztrátový úhel δ vyjadřuje poměr mezi elastickým a viskózním modulem dle následujícího vztahu:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$

Velikost ztrátového modulu lze použít k charakterizaci chování měřené látky. V případě gelových systémů je možné přes hodnotu ztrátového úhlu určit, zdali převažuje složka elastická, či viskózní. Existují tři hlavní případy. Pokud je hodnota ztrátového úhlu 45° , vykazuje látka viskoelastické chování, a tudíž jsou si obě složky rovny. Pokud je hodnota ztrátového úhlu nižší než 45° , látka se chová elasticky a převažuje zde tudíž složka elastická. Jestliže je ztrátový úhel naopak vyšší než 45° , látka vykazuje chování viskózní a převládá u ní složka viskózní [12].

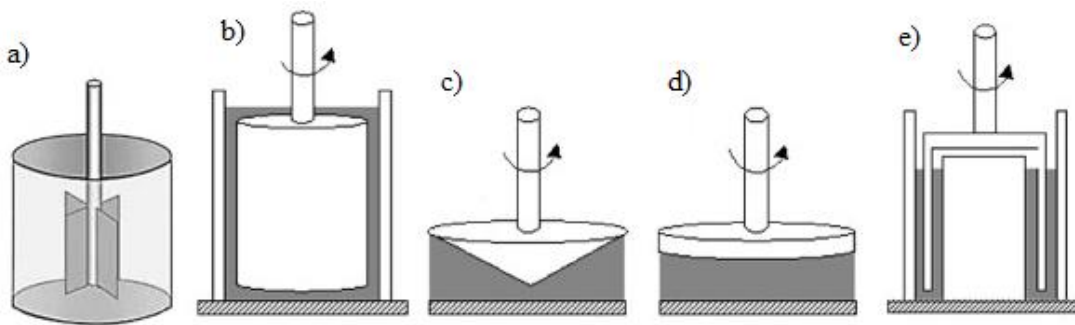
Při popisu reologického chování látek hraje stěžejní roli bod překřížení obou modulů. Měření elastického a viskózního modulu v závislosti na frekvenci oscilací lze stanovit bod překřížení. V literatuře se dá často nalézt pod označením *cross-over point*. Jedná se o bod, kdy dochází k protnutí křivky elastického modulu a křivky modulu viskózního. V tomto bodě jsou oba moduly v rovnováze ($G'' = G'$) [13].

Obecně platí, že při nižších frekvencích oscilací jsou hodnoty modulů nízké a projevuje se spíše elastický charakter ($G' > G''$), ale záleží také na typu materiálu. Při reologické charakterizaci hydrogelů pomocí oscilačních měření, obecně platí, že při nižších frekvencích oscilací jsou hodnoty elastického modulu nad modulem viskózním [1,13].

Geometrie měřících systémů

Pro měření různých typů vzorků, využívají rotační reometry řadu specifických geometrií (viz Obrázek 7). Směrodatnou veličinou, podle které se daná geometrie vybírá, je viskozita vzorku. Rotační reometry se skládají ze dvou základních částí. První část je statická a druhá je otáčivá. Pro správné měření je však nezbytné čištění těchto aparatur [10].

Typickým uspořádáním je uspořádání *válec–válec* (b) (též nazýváno jako *souosé válce*), které se skládá z vnitřního rotujícího válce a vnějšího stacionárního válce. Jedná se o geometrii, která se využívá spíše pro kapalné vzorky s nižší viskozitou, a taky v případech, kdy se měří větší množství vzorků. Geometrie složená z *kužele–desky* (c) se skládá ze stacionární desky a zkoseného kužele. Využívá se pro měření spíše polotuhých vzorků. Další geometrií je *deska–deska* (d), která se skládá opět ze stacionární desky a k ní přiléhající desky pohyblivé. Toto uspořádání se využívá spíše pro tužší vzorky s vyšší viskozitou a také na materiály s menším objemem vzorku. Právě tato geometrie byla využita k měření vzorků pro tuto práci. Jedná se totiž o geometrii, která se často využívá pro měření gelů [14].



Obrázek 7: Měřící systémy rotačního reometru a) lopatky, b) válec–válec, c) kužel–deska, d) deska–deska, e) *double-gap* [14].

2.2.2 UV-VIS spektrometrie

UV-VIS spektrometrie je jednou z dnes hojně využívaných instrumentálních technik analytické praxe. Jedná se o optickou metodu, která je založena na sledování interakcí mezi elektromagnetickým zářením a analyzovaným vzorkem. Ve spektrometrických metodách dochází k výměně energie mezi látkou a zářením, což souvisí s tím, že atomy a molekuly mohou přijetím (resp. vyzářením) energie změnit svůj energetický stav. Rozmezí vlnových délek v oblasti UV-VIS se pohybuje od 200 do 900 nm. Analyt však musí obsahovat seskupení atomů nebo funkční skupiny, díky kterým k absorpci dochází, jedná se o tzv. chromofory. Chromofory představují funkční skupiny, či určité typy vazeb (např. nenasycené). Chromofory tohoto typu jsou obsaženy zejména v organických sloučeninách. Principem je, že látka absorbuje UV záření, kdy následně dochází k excitaci valenčních elektronů a vyzářením jí charakteristického záření o dané vlnové délce [15,16].

UV-VIS spektrometrie je metodou jak kvalitativní, tak kvantitativní analýzy. Podle změřené vlnové délky absorbovaného záření lze danou látku identifikovat (popř. určit její strukturu), a podle naměřené intenzity absorpce pak látku kvantifikovat. Absorbance se definuje jako záporný dekadický logaritmus transmitance (též propustnosti), přičemž transmitance se definuje jako poměr prošlého zářivého toku ku dopadajícímu zářivému toku, viz následující rovnice (6):

$$A = -\log T = \frac{I}{I_0} \quad (6)$$

, kde A je absorbance, T je transmitance, I_0 je dopadající zářivý tok, a I je prošlý zářivý tok. Výstupem měření je tzv. absorpční spektrum vzorku, což je závislost absorbance (případně transmitance) na vlnové délce [17].

Základním vztahem využívaným ve kvantitativní spektrometrii je tzv. *Bouguer-Lambert-Beerův zákon* (7):

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (7)$$

, kde ε je hodnota molárního absorpčního koeficientu ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), c je látková koncentrace ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) a l (cm) je tloušťka absorpční vrstvy (resp. tloušťka kvety). Molární absorpční koeficient je veličina charakteristická pro danou látku v daném prostředí a podobně jako absorbance závisí na vlnové délce, při které je měření prováděno [16,17].

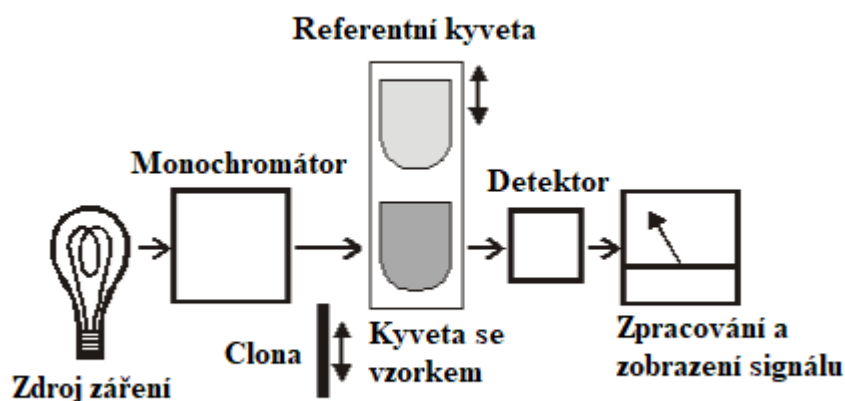
Instrumentace

Přístroje pro měření emisních či absorpčních spekter se nazývají *spektrometry*. Zpravidla obsahují zdroj záření, optickou soustavu pro vedení paprsku, prvek pro výběr vhodné vlnové délky (monochromátor či polychromátor), prostor pro umístění vzorku a detektor. Zdrojem záření bývá wolframová či halogenová žárovka (pro viditelnou oblast) nebo deuteriová lampa (pro ultrafialovou oblast).

Monochromátor představuje zařízení, které rozkládá vstupující polychromatické záření a z něj vybírá dle nastavení požadovanou vlnovou délku. Klasický monochromátor se skládá ze vstupní a výstupní štěrbinu a disperzního prvku (tím může být hranol, filtr či mřížka). Šířka štěrbinu je taktéž nastavitelná a změnou její velikosti lze měnit intenzitu dopadajícího záření na detektor [15].

Detektory představují nejčastěji fotonásobiče či diodová pole. V případě fotonásobiče dochází vlivem vnějšího fotoelektrického jevu ke vzniku elektronů a jejich následnému putování od katody k anodě, kde proud je následně zesilován soustavou dynod. Tímto způsobem dojde ke zvýšení vzniklého proudu, což zajišťuje lepší detekci. Podstatou diodového pole je naopak vnitřní fotoelektrický jev, kdy po dopadu světla na fotodiodu (která je pod napětím) dojde k uvolnění elektronů uvnitř polovodiče. Dopadem dochází k průchodu proudu, který se následně detekuje.

Vzorek se aplikuje do kyvety, přičemž pro viditelnou oblast světla se používají kyvety skleněné, a pro oblast ultrafialovou kyvety křemenné. Přístroje mohou být jednopaprskové či dvouprskové. V případě dvouprskových spektrometrů se porovnávají dva svazky paprsků po průchodu dvěma stejnými kyvetami v konstantní poloze. V jedné z kyvet se nachází srovnávací roztok (tzv. *blank*) a v druhé analyzovaný vzorek [16].



Obrázek 8: Jednopaprskové uspořádání UV-VIS spektrometru [18].

2.2.3 Difúze

Přestup látky, který se uskutečňuje jako relativní mikroskopický transport částic některé složky směsi určitým směrem v navenek nehybné fázi a je důsledkem přirozeného pohybového stavu částic se nazývá *molekulová difúze*, zkráceně *difúze*. Difúze je způsobena neuspořádaným pohybem molekul. Molekuly v nehybném roztoku mění svou pozici na základě Brownova pohybu. Přestože je základním rysem tohoto pohybu fakt, že molekula se nepohybuje po žádné preferované trajektorii, makroskopicky je pohyb pozorován vždy z oblasti vyšší koncentrace molekul do oblasti o nižší koncentraci. Makroskopicky se sleduje pohyb látky ve směru její klesající koncentrace. Přirozenou vlastností látek je, že pokud se její částice mohou pohybovat, rozptylují se do celého prostoru, kterého mohou dosáhnout, a postupně ve všech jeho částech tak svou koncentraci vyrovnávají [19].

Hnací silou přestupu látky v nehybné fázi (tj. ve fázi, která se jako celek nepohybuje) je rozdíl koncentrace transportované složky ve dvou místech, mezi kterými se transport uskutečňuje. V případě tzv. binární difúze dochází ke vzájemné difúzi rozpouštědla a rozpouštěné látky a proces je tak vzájemný. Protože tepelný pohyb probíhá i v čistých látkách a rovnovážných směsích, definuje se také tzv. *samodifúze*, kterou je charakterizován pohyb molekuly v prostředí o nulovém koncentračním gradientu. Samodifúze je vhodným prostředkem pro experimentální studium transportních jevů, protože měření probíhá ve směsích, v nichž už bylo dosaženo rovnováhy. V plynech se difúze děje s rychlostí řádově $10 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, v kapalinách okolo $0,05 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ a v pevných látkách s rychlostí pouze $10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. Rychlost difúze v roztocích polymerů leží mezi rychlostí difúze v kapalinách a rychlostí difúze v pevných látkách. Rychlost samodifúze závisí především na teplotě, tlaku, na velikosti pohybující se molekuly a na viskozitě prostředí. V nerovnovážných systémech je rychlost transportu látky do oblasti nižší koncentrace dána především velikostí koncentračního gradientu. Obecně se dá říct, že je tento děj méně závislý na teplotě ve srovnání s jinými procesy na molekulární úrovni a také, že klesá s rostoucím poloměrem částic [20,21].

Fickovy zákony

Rychlost difúze se vyjadřuje pomocí difúzního toku J_i , ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), který je charakterizován jako množství difundující složky I , které za jednotku času projde jednotkovou plochou kolmou na směr difúze:

$$J_i = -D \cdot \frac{dc_i}{dx} \quad (8)$$

Tento vztah nazýváme *první Fickův zákon*, kde D je difúzní koeficient, který závisí na vlastnostech látky a prostředí. Označuje se také jako difuzivita a má rozměr $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Podíl dc/dx je koncentrační gradient, resp. změna koncentrace se vzdáleností [22].

Druhý Fickův zákon vyjadřuje časovou změnu koncentrace difundující látky při nestacionární difúzi, kdy se koncentrační gradient s časem mění a difúzní tok se mění s polohou. V tomto případě tedy druhý Fickův zákon popisuje rychlost změny koncentrace v určitém místě systému [22]:

$$\frac{dc_i}{d\tau} = D \cdot \frac{d^2c_i}{dx^2} \quad (9)$$

Difúzní koeficient

Jak už bylo popsáno výše, difúzní koeficient je závislý na vlastnostech látky a prostředí, avšak difunduje-li látka porézním systémem, jehož pevná fáze je nepropustná a póry jsou naplněny tekutým prostředím, difúze probíhá pouze v pórech, a to po klikaté trajektorii. Celková dráha, kterou molekuly vykonají, je tedy v porézním médiu vyšší než v homogenním prostupném materiálu. Protože je pevná fáze nepřístupná difúzi, klesá dále celková plocha, skrz niž difúze probíhá. Tyto efekty jsou nejčastěji spojeny v definici nového D_{eff} , neboli tzv. *efektivního difúzního koeficientu*:

$$D_{eff} = \phi \frac{D}{\tau} \quad (10)$$

, kde D je difúzní koeficient v homogenním prostředí, ϕ je volný objem prostředí a τ určuje křivolakost prostředí. Ta vyjadřuje vliv prodloužení dráhy molekuly, hodnota se většinou pohybuje mezi 2 a 6, průměrně okolo 3. To je možné vysvětlit tak, že látka difunduje ve třech směrech, namísto v jednom směru jako v homogenním prostředí, a proto musí většinou překonat přibližně třikrát delší dráhu [20].

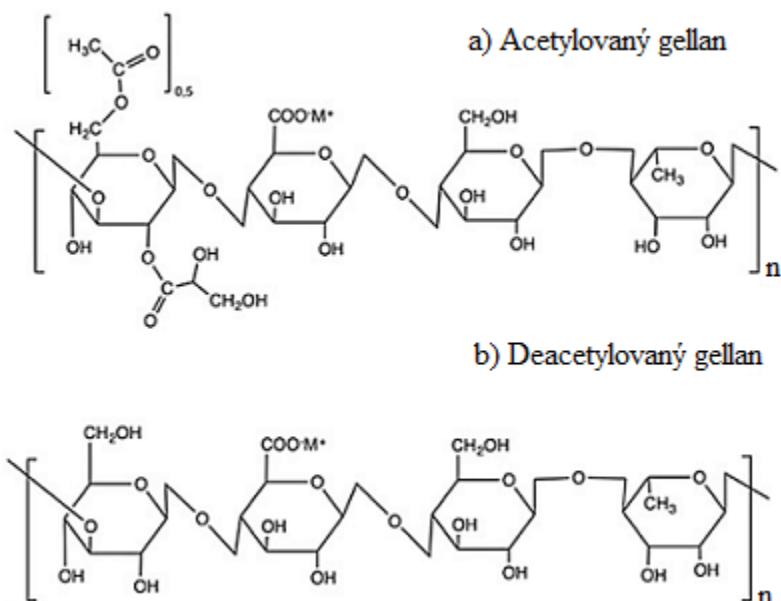
Výše uvedený vztah (10) je velmi cenný především pro studium difúze v gelu, protože difúzní experiment může poskytnout cenné informace o jeho struktuře, a naopak znalost strukturních charakteristik gelu a jeho difúzních vlastností umožňuje předpovídat rychlost difúze v homogenním médiu. Obecně lze říct, že gelová fáze je vhodná pro studium transportních procesů, protože díky síťové struktuře není difúze nízkomolekulárních iontů v gelech téměř ovlivňována prouděním ani tepelnými konvencemi.

Velký vliv na veličiny, popisující difúzi, má zejména složení gelu. Změna podílu komponenty gelu, která zodpovídá za retenci iontů (podstupuje reakci s iontem) výrazně ovlivní difúzní koeficient iontu v gelu. Obecně platí, že se zvyšujícím se pevným podílem gelu roste jeho relativní retenční kapacita a klesá difúzní koeficient iontu [20,22].

2.3 Materiály využitě pro přípravu hydrogelů

2.3.1 Gellan

Jedná se o heteropolysacharid (viz Obrázek 9), který je rozpustný ve vodě. Producentem gellanu je bakterie *Pseudomonas elodea* (též *Sphingomonas elodea*). Deacetylovaný gellan tvoří pevné a křehké gely, které jsou komerčně známé pod názvem *Phytigel*[®] nebo také *Gelrite*[®] [23].



Obrázek 9: Strukturní vzorec a) acetylovaného gellanu, b) deacetylovaného gellanu [24].

Gellan je v současnosti hojně využívaným materiálem, protože se jedná o nízkonákladový biomateriál s vysokou reprodukovatelnou kvalitou. Používá se jako stabilizátor, zahušťovadlo a gelující činidlo. Objev gellanu se datuje do roku 1978. Následně byl používán a dále zpracováván jako potravinářská přídatná látka. Po schválení FDA (*Food and Drug Administration, USA*) v roce 1992 získal větší význam také pro biomedicínské účely, a to zejména díky své biokompatibilitě a nízké cytotoxicitě [24].

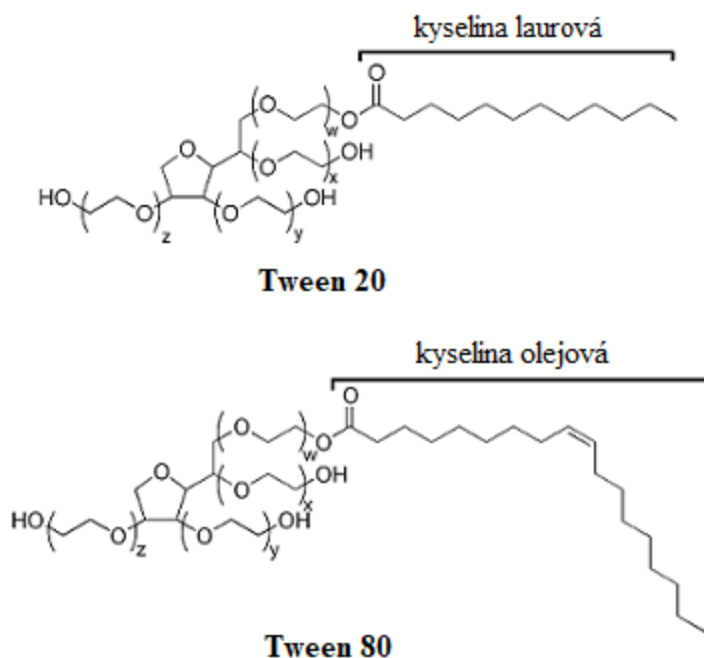
V současnosti se stále častěji využívá jako náhrada agaru např. v mikrobiologii. Je schopen odolávat až 120 °C, díky čemuž se také využívá ke kultivaci termofilů. Ke gelaci dochází již při nižších teplotách. Co se týče pevnosti gelu, je zapotřebí cca poloviční množství gellanu k dosažení srovnatelné pevnosti gelu jako je tomu u agaru, přičemž přesná textura a kvalita závisí na koncentraci přítomných divalentních kationtů [23,24].

2.3.2 Tween 80

Tween 80 neboli polysorbát 80 je neiontový tenzid. Jedná se o vazkou, žlutou kapalinu, která je ve vodě dobře rozpustná. Tween 80 je též rozpustný v dalších polárních rozpouštědlech jako je methanol, ethanol či ethylacetát. Co se týče nepolárních rozpouštědel, je rozpustný v rostlinných olejích či toluenu [25].

Jedná se o emulgátor, který se využívá v potravinářství pod označením E 433. Například ve zmrzlínách zvyšuje krémovitost a odolnost vůči tání. Tween 80 se také používá v kosmetice, především v mýdlech a v dalších kosmetických přípravcích. Co se týká medicínských aplikací, využívá se ke stabilizaci vodných roztoků léků, při biochemických měřeních nebo při výrobě vakcín [25].

Existuje více druhů polysorbátů (viz Obrázek 10). V praxi se nejčastěji používá tween 20 (chemický vzorec $C_{58}H_{114}O_{26}$) a tween 80 (chemický vzorec $C_{64}H_{124}O_{26}$). Rozdíl mezi nimi je ve složení jejich postranních řetězců. Ve tweenu 80 je obsažena kyselina olejová, zatímco ve tweenu 20 je obsažena kyselina laurová [25].

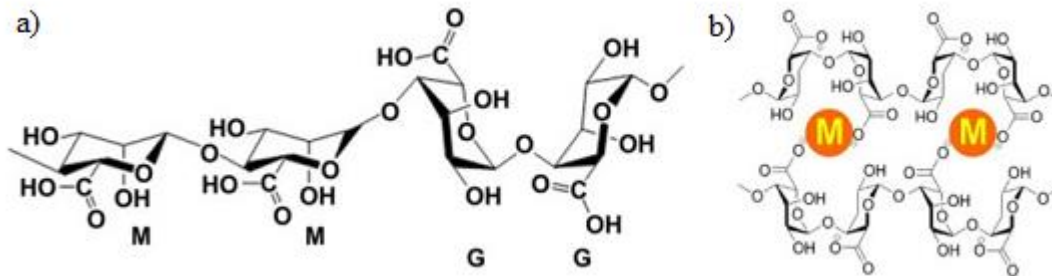


Obrázek 10: Strukturní vzorec tweenu 20 a tweenu 80 [25].

2.3.3 Alginát

Alginát je lineární nerozvětvený polysacharid složený z kyseliny β -D-mannuronové (dále jen M bloků) a kyseliny α -L-guluronové (dále jen G bloků). Protože se skládá z M bloků, G bloků a MG bloků, je jeho struktura považována za nepravidelnou (viz Obrázek 11) [23].

Jedná se o přírodní aniontový polymer, který je znám svou biologickou kompatibilitou a rozložitelností, hydrofilními vlastnostmi a netoxicitou. Jedná se o extrakt z mořských řas a jeho mikrobiálním producentem je *Azotobacter vinelandii*. Protože je alginát aniontový polymer, může být zesíten za použití dvojmocného kationtu (nejčastěji Ca^{2+} ionty) za vzniku gelu. Vápenaté ionty tvoří vazby mezi G bloky, za utváření tzv. *egg-box struktury*. Alginátové gely jsou ireverzibilní, teplotně stálé a nestabilní při nízkém pH. Vysoká viskozita a hydratace umožňuje jeho využití v potravinářství (salátové dresinky, mražené potraviny, tvorba filmů), kde se jako zahušťovadlo označuje E 405. Využívá se také v textilním průmyslu, papírenství či k imobilizaci enzymů [26].



Obrázek 11: a) Chemická struktura alginátu, b) Mechanismus iontových interakcí mezi alginátem a divalentními kationty [26].

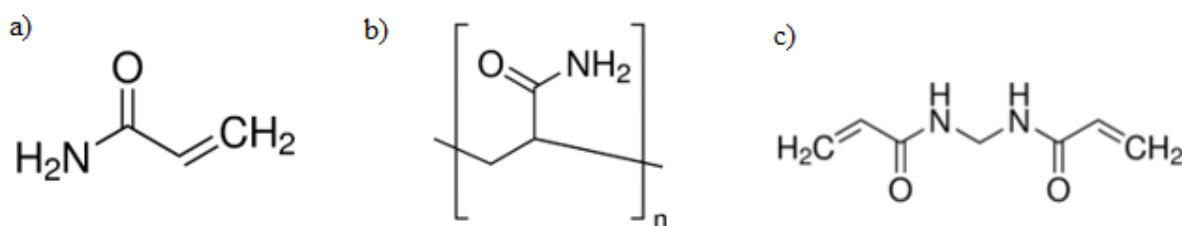
Mechanické vlastnosti připravených gelů se budou lišit v závislosti na zdroji použitého alginátu, na stupni zesítnění a na kationtu, který se k přípravě gelu použil. Algináty lze snadno modifikovat chemickými a fyzikálními reakcemi pro dosažení cílených struktur a vlastností na míru dané aplikace. Vyladění vlastností, jako jsou biologická rozložitelnost, mechanická pevnost, gelace či buněčná afinita, lze dosáhnout kombinacemi s jinými biomateriály, imobilizací specifických ligandů (např. peptidů, polysacharidů) či fyzikálním nebo chemickým zesítněním [23,26].

Mezi jeho přední vlastnosti patří biokompatibilita a biologická rozložitelnost, a proto se využívá v medicínských aplikacích především k hojení ran, k přípravě scaffoldů pro tkáňové inženýrství a k přípravě vláken či systémů pro dodávání léčiv [26].

2.3.4 Polyakrylamid

K syntéze polyakrylamidu se využívá reaktivní akrylamid (chemický vzorec $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$). Polyakrylamidy jsou ve vodě rozpustné polymery s vysokou molekulovou hmotností (10^6 – 10^7 Da). Jediným, komerčně významným polyakrylamidem je poly(2–propenamid), který se v literatuře často označuje jako PAAm. K polymeraci dochází v přítomnosti volných radikálů. Typickým iniciátorem polymeračních reakcí je peroxodisíran amonný či tetramethylethylendiamin. Nejčastěji používaným síťovacím činidlem je $\text{N,N}'$ –metylenbisakrylamid (viz Obrázek 12) [27].

PAAm našel své uplatnění v kosmetickém, papírenském a textilním průmyslu. Využívá se také v biochemických laboratořích pro separaci proteinů při elektroforézách. PAAm je na rozdíl od svého prekurzoru akrylamidu dle současných poznatků zcela neškodný. V epidemiologických studiích byl totiž akrylamid označen za neurotoxický a karcinogenní. PAAm je označován za biokompatibilní polymer, který zvyšuje viskozitu vodných roztoků a podporuje flokulaci částic přítomných ve vodě. Tento zesíťovaný polymer má schopnost absorbovat extrémně velká množství vody, protože jeho amidové skupiny tvoří silné vodíkové vazby s molekulami vody [28].



Obrázek 12: Chemická struktura a) akrylamidu, b) polyakrylamidu, c) $\text{N,N}'$ –metylenbisakrylamidu [29].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Od prvního vývoje hybridních hydrogelů v roce 2003 se tyto systémy staly velmi slibným materiálem pro mnoho základních průmyslových, ale i medicínských aplikací. Tyto hydrogely prokázaly svou mechanickou pevnost a odolnost, právě kvůli dvojímu typu zesílení. Díky hybridním hydrogelům dochází v praxi k rozšiřování znalostí a aplikaci hydrogelů v různých odvětvích průmyslu. Přestože je výzkum a vývoj těchto hydrogelů stále spíše v počátečním stádiu, bylo věnováno mnoho úsilí o vývoj nových metod, nových gelových systémů a zkoumání teorie kolem této problematiky. Mechanismus těchto systémů však stále zůstává nedostatečně prostudován. Uvádí se, že vlastnosti finálního hybridního hydrogelu závisí na mnoha faktorech; na vlastnostech obou polymerů z nichž se skládá, ale také na metodách syntézy a podmínkách samotné přípravy. Každý z těchto faktorů může ve finále ovlivnit celkovou strukturu a vlastnosti systému [7].

Mezi v současné době hojně využívané polymery pro syntézu hybridních hydrogelů patří polyakrylamid. Patří mezi ně pravděpodobně proto, že díky amidové skupině umožňuje silně vázat vodu. Hybridní hydrogely se nejvíce využívají v tkáňovém inženýrství, neboť sdílejí poměrně mnoho strukturních a mechanických vlastností s lidskými tkáněmi [7].

Díky svým vlastnostem se využívají v tkáňovém inženýrství při náhradách chrupavek. Přirozená tkáň chrupavek vysoce přispívá k běžné funkci kloubů, které vyžadují ultra nízké tření, správné rozložení zátěže a tlumení nárazu. Tkáň chrupavky bývá namáhána při atletických činnostech a stárnutím ztrácí schopnost sebeobnovy. Částečná nebo úplná ztráta chrupavkových tkání vede k problémům zejména kolenního kloubu, jako je osteoartróza. Je-li tkáň chrupavky poškozena, je extrémně obtížné regenerovat tyto tkáně pomocí současně dostupných terapeutických metod. Z tohoto důvodu je důležité vyvíjet hybridní hydrogely, jakožto potenciální terapeutickou možnost. Materiály pro umělé chrupavky by měly být viskoelastické, pevné, odolné vůči opakovanému namáhání, měly by dosahovat nízkých hodnot tření, být odolné proti opotřebení a biologicky nerozložitelné. Mezi hybridní hydrogely těchto vlastností se řadí například gel typu celulóza–PDMAAm, který se skládá z bakteriální celulózy a poly(N,N'-dimethylakrylamidu) [5].

Hybridní hydrogely našly uplatnění i jako materiály pro náhradu rohovky. V tomto případě se využívá gel složený například z PEG–PAA (tj. polyethylenglykolu a polyakrylové kyseliny). Bylo zjištěno, že tento systém má difúzní koeficient glukózy téměř totožný s difúzním koeficientem glukózy v lidské rohovce. V praxi bylo prokázáno, že i po 14 dnech zůstal hydrogel opticky čistý a epitel oka neporušený. Současné studie deklarují, že materiál usnadňuje transport glukózy z komorové tekutiny do přední části oka. Bylo tedy dokázáno, že hybridní hydrogely tohoto typu jsou slibnými kandidáty pro medicínské aplikace, především jako materiály pro implantáty do rohovky jako keratoplasty, intrakorneální čočky nebo jako materiály pro výrobu kontaktních čoček [5,7].

Kontaktní čočky se dělí na dva hlavní typy, tuhé a měkké. Tuhé kontaktní čočky jsou vyráběny z polymerního polymethylmethakrylátu. Má dobré vlastnosti, smáčivost povrchu, vysoký modul pružnosti a skvělou trvanlivost. Nemá však vhodnou kyslíkovou propustnost, čímž často způsobuje záněty očí. Historie hydrogelů v tomto případě sahá až do roku 1960, kdy Otto Wichterle poprvé popsal hydrogel pro použití do kontaktních čoček na bázi poly(2-hydroxyethylmethakrylátu). Jednalo se o historicky první hydrogel, který byl použit k vytvoření kontaktních čoček. Mezi další takto využívané materiály se řadí například polyvinylalkohol, či polyakrylonitril [30].

Pro svou schopnost absorbovat velké množství vody, nachází hybridní hydrogely uplatnění i v tzv. *drug delivery* systémech. Hydrogelové materiály v systémech dodávání léčiv lze použít pro oční, vaginální, transdermální, subkutánní, orální či rektální aplikace. Představují ideální prostředí pro inkorporaci malých organických molekul, přičemž si zároveň zachovávají své biologické vlastnosti. Proteiny zapouzdřené v těchto systémech jsou vůči denaturaci více rezistentní než volné proteiny nacházející se v roztoku. Podpora porézní síťovité struktury hydrogelu zde slouží jako velmi stabilní nosič pro terapeutická léčiva či biomolekuly s postupně řízeným uvolňováním. Řada studií ukázala, že řízeného uvolňování léčiv lze dosáhnout obměnou síťové struktury, změnou hustoty síťovacího činidla nebo změnou koncentrace použitých polymerů. Mezi zkoumané hybridní hydrogely patří v současné době např. systém na bázi grafenu spolu s modifikovaným cyklodextrinem, který dnes slouží ke studiu uvolňování modelového protinádorového léčiva *Kamptothecin* [7,30].

Hybridní hydrogely byly také použity jako vysoce citlivé a selektivní senzory pro detekci širokého spektra analytů v závislosti na změnách hodnoty pH, rozpouštědla, světla či například elektrického nebo elektromagnetického pole. Hybridní hydrogely byly ve studiích podrobovány různým stresovým podmínkám a jejich vlastnosti byly následně popisovány jako vlastnosti blízké „umělému svalu“. Stále se však pracuje na objevení nových komponent pro sestavení hybridních hydrogelů na míru daným aplikacím [7].

Velmi populární se v poslední době staly i systémy pro uvolňování pesticidů na bázi hydrogelu. Skládají se z pesticidu zakotveného v polymerní síti ve formě mikrokapsle nebo granule. Takové systémy vykazují mnoho výhod, včetně řízeného nebo pomalého uvolňování aktivní jádra složky, což vede k delším aplikačním intervalům, ke snížení dávkování, stabilizaci jádra vůči vnějším vlivům prostředí (světlo, vzduch, vlhkost, mikroorganismy), snížení toxicity vůči savcům a snížení podráždění lidské sliznice, snížení fytotoxicity apod. Správná konstrukce zapouzdřovacího systému je však i zde stěžejním bodem pro dosažení požadovaných charakteristik [31].

Na konci sedmdesátých let bylo uděleno několik patentů, které byly zaměřeny na zemědělské aplikace hydrogelů. Jednalo se například o hydrogely s polyakrylonitrilem nebo o materiály vzniklé kopolymerací vinylacetátu a methylakrylátu. Jednalo se především o pružné a transparentní materiály. Tyto hydrogely byly následně použity například v tzv. mikrozavlažování či při potahování semen. V současnosti se na trhu vyskytuje řada komerčně dostupných produktů patřících americkým společnostem, kterými jsou *The Dow Chemical Company*, *The Union Carbide Corporation* či *The Kurary Company* [31].

Syntetizují se i hydrogely z epoxidových pryskyřic či polyaminů rozpustných ve vodě. Enzymy degradovatelné hydrogely byly syntetizovány převážně z hydrogelů na bázi albuminu a chitosanu. Uvolňování agrochemikálií z hydrogelů akrylamidu vyvolané UV zářením bylo ve výše uvedených firmách taktéž studováno. V současné době je hlavní snahou vyvinout neinvazivní pesticidní produkty, které by byly účinnější a šetrnější vzhledem k životnímu prostředí. V tomto případě hrají významnou roli mikrokapsle, právě díky krátkodobému, ale účinnému uvolňování nízkých dávek, díky čemuž se považují za bezpečnější variantu. V budoucnu je snaha vyvinout inteligentní pesticidní mikrokapsle, které by měly funkce snímání, zpracovávání a spouštění, čímž by se přispělo k bezpečnosti, účinnosti a úspornosti aplikace pesticidů [31].

Hydrogely mohou být také aplikovány při balení potravin. Systémy absorbující vlhkost potravinářských výrobků založené na absorpčních „polštářcích“ s vlastnostmi zapouzdřování vody, vzbudily v poslední době zájem zejména díky snižování rizika mikrobiální kontaminace balených potravin. Pracuje se na vývoji materiálů, v nichž by byly hydrogely umístěny uvnitř potravinového obalu jako tzv. absorpční vložka, kde by absorbovaly přebytečnou vlhkost. Hydrogely v tomto odvětví představují slibný materiál především díky své biologické rozložitelnosti, skladovatelnosti a mechanickým vlastnostem [32].

Dle současných studií je integrace hydrogelů do systému balení potravin novou a slibnou strategií. Hydrogely zde představují inovativní materiály šetrné k životnímu prostředí, které mohou prodloužit trvanlivost potravinářských výrobků. Často se k tomuto účelu využívají hydrogely na bázi chitosanu, polyvinylpyrrolidonu nebo například karboxymethylcelulózy. Tyto látky totiž umožňují vytvořit transparentní, biologicky rozložitelné a flexibilní materiály. Navzdory dobrým vlastnostem hydrogelů, zde však stále zůstávají nedostatky v jejich omezené mechanické odolnosti či odolnosti vůči vodě, ve které může docházet k růstu mikroorganismů. Jedna ze strategií pro vylepšení těchto nedostatků spočívá v inkorporaci nanočástic (stříbra, zinku či mědi) do polymerní struktury obalového materiálu, které mohou přispět ke zvýšení jejich antimikrobiálních účinků [32].

Gellanové hybridní hydrogely nachází své uplatnění zejména v medicínských aplikacích a v oblasti tkáňového inženýrství. Jedná se o materiály, které se využívají jakožto biologická podpora nebo pro usnadnění regenerace meziobratlových plotének (GG–celulóza). V oblasti tkáňového inženýrství se hlavně využívají jako „nosné“ matrice pro podporu léčené tkáně a současně také na podporu proliferace buněk a k iniciaci regeneračních procesů. Mezi další gellanové hybridní systémy se řadí i tzv. samogelovací hydrogely, mezi které patří například methakrylovaný gellanový hydrogel. Tento materiál lze aplikovat injekčním způsobem. Hydrogely na bázi gellanu jsou díky svému jednoduchému a především nenákladnému způsobu výroby potenciálně vynikající biomateriál pro regeneraci měkkých tkání [33].

Hydrogely na bázi gellanu také nabízejí své využití ve vývoji kompozitních materiálů prostřednictvím vyztužení jejich struktury nanočásticemi. Pochopení interakcí mezi buňkami a daným materiálem v nanokompozitních hydrogelech a jejich biologických aktivit, by mohlo přispět k rozvoji nové generace léčebných regeneračních terapií [33].

Gellanové hydrogely mohou být zpracovávány různými způsoby dle účelu jednotlivých léčiv. Vědci a farmaceutické firmy zkoumají tyto systémy v souvislosti s mukoadhezí, odolností vůči kyselinám, vyšším teplotám a v neposlední řadě reaktivitu těchto systémů v závislosti na použitých iontech. Gellanové hydrogely se široce využívají pro navrhování mikrokapslí, *in situ* gelových formulí, kuliček či filmů. Aplikují se bukálně, oftalmologicky, orálně nebo transdermálně. Pro jejich významné vlastnosti jako je gelovací schopnost, tepelná a iontová citlivost, mukoadheze a laditelné fyzikální či mechanické vlastnosti, vzrůstá vědecký zájem o tento biomateriál. Jedná se o optimální substrát pro podávání a řízené uvolňování terapeutických léčiv, ale i o vhodný materiál pro účely regenerativní medicíny napodobující víceúrovňovou organizaci živých tkání tzv. *scaffoldy* [24].

Gellanové gely mají obrovský potenciál, protože chemické modifikace a výroba směsí, umožnily vyladit a rozšířit jeho zpracovatelnost a použití. Některé strategie umožňují překonat nepřiměřené nativní vlastnosti tohoto polysacharidu a zesílit tak jeho vhodnost pro specifické účely. Další zkoumání tohoto nízkonákladového materiálu může přinést nepochybně působivé výsledky. Mezi současně využívané hybridní gellanové hydrogely patří materiály typu gellan–polyakrylová kyselina, gellan–polymethakrylamid, gellan–sericin, gellan–PEG–chitosan, gellan–glukosamin, gellan–alginát, gellan–pektin, gellan–polyvinylalkohol a mnoho dalších [24].

Nanokompozitní hydrogely na bázi gellanu mohou být použity jako obvazové materiály nebo také pro dodávání terapeutických látek až do místa poranění. Navíc jejich zlepšené mechanické vlastnosti umožňují sterilní ošetření, což za použití běžných hydrogelů není možné. Byl vyvinut gellanový hybridní hydrogel v kombinaci s methakrylátem (dále jen GG–MA), který by měl sloužit jako inovativní obvazový materiál zejména k léčbě popálenin, které často bývají náchylné ke chronickým infekcím. Gely na bázi GG–MA byly dle mezinárodních směrnic (*ISO 10993-5*) zhodnoceny z hlediska cytotoxicity za zcela biokompatibilní. Výsledky studií rozšiřují jejich použitelnost jakožto výchozích materiálů k vytvoření inteligentního zařízení, které může být použito jako nosič pro modulaci uvolňování terapeutických činidel [34].

Vědci z MIT (Massachusettského technologického institutu v Cambridge) vyvinuli hydrogelové systémy vyrobené z kyseliny polyakrylové, kterou zapouzdřili do polyvinylalkoholové hydrogelové membrány. Uvádějí, že tyto hydrogely mohou být použity pro snímání žaludeční teploty či pro postupné uvolňování léčiv. Další aplikací těchto hydrogelových systémů je měření biosignálů a vizualizace gastrointestinálního traktu pomocí připojené mikrokamery. Vědci také uvádí, že pórovitost a poměr zesítnění hybridního hydrogelu hraje důležitou roli při uvolňování léčiva. V současné době se ve výzkumu pracuje na studiu *in situ* hydrogelových scaffoldů, za současného vstříkávání hydrogelu do místa aplikace. Ačkoli byly provedeny rozsáhlé studie o hydrogelech, nejen v aplikacích pro tkáňové inženýrství, komercializace těchto produktů však neustále probíhá. Předpokládá se, že budoucnost hybridních hydrogelů bude velmi slibná. V biomedicínských aplikacích, *drug delivery* systémech či v oblasti tkáňového inženýrství je však čeká ještě dlouhá cesta [30].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

Akrylamid: Fluka Analytical, CAS: 79-06-1, $\geq 98,0$ %.

Alginát sodný: Sigma Aldrich, CAS: 14984-39-5.

Deionizovaná voda: PURELAB–flex, ELGA–LabWater, USA.

Chlorid sodný: Penta s.r.o., CAS: 7647-14-5, 99,9 %.

Chlorid vápenatý dihydrát: Lach–Ner, s.r.o., CAS: 10035-04-8, 99,5 %.

Methylenová modř: Penta s.r.o., CAS: 122965-43-9, 95,0 %.

N,N'–methylenbisakrylamid: Sigma–Aldrich, CAS: 110-26-9, 99,0 %.

Peroxodisíran draselný: Fluka Analytical, CAS: 7727-21-1, 99,0 %.

Phytigel: Sigma Aldrich, CAS: 71010-52-1.

Tween 80: Sigma Aldrich, CAS: 9005-65-6.

4.2 Použité přístroje

Analytické váhy TB 124 A (Denver Instrument, USA).

Magnetická míchačka s vyhříváním MR Hei–Standard (Maneko, ČR).

Vícemístná magnetická míchačka Variomag POLY (Thermo Scientific, USA).

Ultrazvuková čistička Bandelin Sonorex Digitec (VERKON, ČR).

Sušicí váhy IR 35 (DENVER Instruments, USA).

Reometr HR–2 (TA–Instruments, USA).

UV-VIS spektrometr Cary 50 (VARIAN, USA).

4.3 Příprava zásobních roztoků a koncentračních řad

Cílem této práce bylo studium vzájemných vztahů struktury hybridních hydrogelů a jejich mechanických a transportních vlastností. Pro tyto účely (a pro porovnání) byly zvoleny jak hydrogely tvořené jedním typem zesíťení, tak hydrogely tvořené dvojím typem zesíťení. V obou těchto případech se jednalo o hydrogely na bázi biokompatibilních látek, a to gellanu a alginátu sodného.

4.3.1 Gellanové hydrogely

Nejprve byly připraveny koncentrační řady gellanu v prostředí deionizované vody. Byly zvoleny následující koncentrace: 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. % roztoku gellanu. Celkový objem jednotlivých vzorků byl vždy 10 ml. U 1 hm. % gellanu se postupovalo tak, že byl navážen 0,1 g gellanu, který byl poté rozpuštěn v 10 ml deionizované vody (u dalších koncentrací byl postup obdobný). Všechny vzorky byly následně zahřáty na teplotu cca 80 °C, přičemž následným ochlazením na laboratorní teplotu docházelo ke tvorbě gelů.

Druhým typem připravovaných hydrogelů byly gellanové hydrogely v prostředí dihydrátu chloridu vápenatého. V tomto případě byly zvoleny tři koncentrace dihydrátu chloridu vápenatého, a to 0,1; 0,01 a 0,001 M. Zásobní roztoky byly vždy připraveny v odměrných baňkách o objemu 100 ml deionizované vody. Koncentrace gellanu byly i v tomto případě stanoveny na 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. U 1 hm. % vzorku gellanu se postupovalo tak, že se navázilo 0,1 g gellanu a rozpustil se v 10 ml připraveném roztoku $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ostatní vzorky byly připraveny obdobným způsobem). Hydrogely byly připraveny smícháním zásobního roztoku dihydrátu chloridu vápenatého o dané koncentraci a navážky gellanu tak, aby byl výsledný objem hydrogelu vždy 10 ml. I tyto vzorky byly zahřívány na přibližně 80 °C. Následně byly vzorky ponechány volně zchladnout na laboratorní teplotu, čímž docházelo ke tvorbě gelů.

Další typ hydrogelu byl připravován z gellanu a roztoku tweenu 80, dle článku *Production of hybrid gels from polysorbate and gellan gum* [35]. Koncentrace zásobních roztoků tweenu 80 v prostředí deionizované vody byly následující: 5; 10; 20 a 30 obj. %. Koncentrace gellanu byly opět stanoveny na 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. I v tomto případě se postupovalo podobně. Pro přípravu vzorku s 1 hm. % gellanem se navázilo 0,1 g gellanu a přidalo se k němu 10 ml roztoku tweenu 80 o zvolené koncentraci. Finální objem vzorku byl tedy 10 ml. Vzorky nebylo potřeba příliš zahřívát, neboť se gely začaly tvořit téměř okamžitě.

4.3.2 Alginátové hydrogely

Při přípravě alginátových hydrogelů byly nejprve připraveny zásobní roztoky alginátu sodného v deionizované vodě o koncentracích 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. Inspirací pro přípravu těchto hydrogelů byla bakalářská práce studenta Lukáše Magery *Příprava a charakterizace hybridních hydrogelových matic* [6]. V případě 1 hm. % zásobního roztoku byl navážen 1 g alginátu sodného, a poté byl kvantitativně převeden deionizovanou vodou do 100 ml odměrné baňky (zbývající koncentrace byly připraveny obdobných způsobem). Roztoky byly ponechány zhruba 3–5 dnů na magnetické míchačce, aby bylo zajištěno dokonalé rozpuštění a promíchání alginátu. Je známo, že alginát ochotně tvoří gely s vápenatými ionty, a tak byly připraveny zásobní roztoky dihydrátu chloridu vápenatého o třech koncentracích, a to 0,1; 0,25 a 0,5 M. Hydrogely byly připraveny smícháním obou těchto zásobních roztoků v následujících poměrech: 15 ml roztoku alginátu sodného ku 5 ml roztoku dihydrátu chloridu vápenatého (objemový poměr složek 3:1), dále 10 ml ku 5 ml (obj. poměr 2:1) a 10 ml ku 10 ml (obj. poměr 1:1).

Následně byly připraveny hybridní hydrogely na bázi alginátu sodného a PAAm. Příprava těchto hybridních hydrogelů vycházela ze článku *Mechanical properties of interpenetrating polymer network hydrogels based on hybrid ionically and covalently crosslinked networks* [36]. Bylo potřeba připravit zásobní roztoky alginátu sodného o koncentracích 2 a 2,5 hm. %. Roztok o koncentraci 2 hm. % byl připraven rozpuštěním 2 g alginátu sodného ve 100 ml deionizované vody (u zásobního roztoku 2,5 hm. % bylo postupováno obdobným způsobem). Dle postupu ve výše uvedeném článku, bylo nutno do roztoku takto připraveného alginátu přidat akrylamid. Radikálovým iniciátorem reakcí byl v tomto případě zvolen peroxodisíran draselný (dále jen KPS). Následně byl přidán N,N'-metylenbisakrylamid (dále jen MBAAm), který zde působil jako chemické síťovací činidlo. Takto připravené vzorky bylo nutno odplynit v ultrazvuku po dobu cca 1 min. Dále byly vzorky podrobeny radikálové polymeraci za zvýšené teploty, a to při 60 °C, po dobu 6 hod. Po uplynulých 6 hod byly vzorky vloženy do připraveného zásobního roztoku dihydrátu chloridu vápenatého, o koncentraci 2 hm. %, po dobu 3 dnů. Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 2 g dihydrátu chloridu vápenatého následným rozpuštěním a kvantitativním převedením do 100 ml odměrné baňky s deionizovanou vodou. Vzorky byly po uplynutí 3 dnů důkladně promyty vodou, a takto připravené byly podrobeny dalšímu měření. V Tabulce 1 uvedené níže jsou zaznamenány jednotlivé navážky připravených hybridních hydrogelů.

Tabulka 1: *Hybridní alginátové hydrogely s PAAm.*

Alginát [hm. %]	V _{Alg} [ml]	m _{AAm} [g]	V _{AAm} [ml]	m _{KPS} [g]	MBAAm [g]	MBAAm [mol. %]
2,0	5	1,2	5	0,0046	0,0052	0,2
2,0	5	1,2	5	0,0046	0,0261	1,0
2,5	5	1,2	5	0,0046	0,0052	0,2
2,5	5	1,2	5	0,0046	0,0261	1,0

4.4 Nastavení přístrojů a popis použitých metod

4.4.1 Sušící váhy

Měření probíhalo na sušících vahách IR 35 Denver Instruments. Teplota měření byla nastavena na 110 °C a čas měření (dle potřeby) v rozmezí 60 až 90 min. Pro měření byla zvolena možnost fixního času měření (tzn. že se každý ze vzorků sušil stanovenou dobu sušení). Sken hmotnosti byl nastaven po 30 s intervalech. Co se týče nastavení portu na vahách, bylo zvoleno 1200 bitů za sekundu, 7 datových bitů, lichá parita, počet stop-bitů na 1 a hardwarové řízení toku měření. Při každém měření bylo naváženo zhruba 0,5 g daného vzorku. Následně se data vyhodnocovala v prostředí programu OriginPro (verze 2018 b).

4.4.2 Reometr

Tato diplomová práce je mimo jiné zaměřena na reologická měření (resp. oscilační testy) která se prováděla na reometru HR-2 (od TA-Instruments). Jednalo se o stěžejní část experimentální práce, v níž se zkoumaly viskoelastické vlastnosti připravených hydrogelů. Reometr měl ocelový senzor o průměru 25 mm a konfiguraci typu deska–deska. Jako první se prováděl viskoelastický test, konkrétně amplitudový test, při konstantní frekvenci oscilace 1 Hz. Rozsah amplitudy deformace byl 0,01–1000 %. Normálová síla při stlačování vzorku byla přístrojem udržována pod hraniční hodnotou 5 N a teplota měření byla nastavena na 25 °C.

Následně se z výstupu tohoto měření vybrala hodnota amplitudy deformace, která se nacházela v lineární viskoelastické oblasti (neboli oblasti konstantních hodnot G' , G''). Pro další testy byla vybrána amplituda deformace 1 %. Viskoelastické vlastnosti všech připravených hydrogelů byly tedy dále stanoveny oscilačními testy při konstantní amplitudě deformace a měnící se frekvenci oscilací. Rozsah frekvence oscilačního testu byl stanoven na rozmezí 0,01–20 Hz. Amplituda deformace tedy byla stanovena na 1 %, maximální hodnota normálové síly při stlačování vzorku opět na 5 N a teplota měření byla nastavena opět na 25 °C. Před zahájením měření byl ještě proveden tzv. relaxační krok, kdy vzorek po stlačení senzorem na odpovídající vzdálenost od desky (ta byla zvolena na 1 mm) relaxuje. Tento relaxační krok byl nastaven na 120 s, při nichž měřený vzorek relaxoval, a byl zahřán na přednastavených 25 °C.

4.4.3 Difúzní experimenty

Pro difúzní experimenty byl použit model tzv. *difúzního páru* složený ze dvou kyvet obsahující jednotlivé vzorky hydrogelů. První kyveta, s tzv. *zdrojovým gelem*, obsahovala konstantní nenulovou koncentraci barviva (methylenové modři, dále jen MM). Druhá kyveta, s tzv. *akceptorním gelem*, obsahovala na začátku experimentu nulovou koncentraci tohoto barviva. Pro provedení experimentu bylo potřeba obě tyto kyvety spojit a obalit parafilmem (viz Obrázek 36). V průběhu měření byly takto připravené vzorky difúzních párů uchovávány při laboratorní teplotě v příslušném exsikátoru s vodou (pro zaručení konstantní vlhkosti prostředí). Měření absorbance MM probíhalo celkem ve 4 intervalech, tj. ihned po přípravě, po 24 hod, po 48 hod a po 120 hod difúze. Za optimální koncentraci byla pro difúzní experimenty zvolena koncentrace MM 0,01 g/l (bližší popis optimalizace je uveden v kap. Transportní experimenty).

4.4.4 UV-VIS spektrometr

Měření probíhalo na přístroji UV-VIS spektrometru Cary 50 od firmy VARIAN. Po spuštění programu *CarryWinUV* na příslušném počítači bylo potřeba nastavit rozmezí vlnových délek na 400–800 nm. Skenovací rychlost byla nastavena na střední hodnotu z nabízených možností, a také byla nastavena korekce *baseliny*. Z módu *AutoStore* byla vybrána možnost *Storage off*. Data byla následně vyhodnocována v prostředí programu MS Excel.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Jedním z cílů této práce bylo definovat vhodné zástupce (nejen) hybridních hydrogelů, pro které se následně studoval vzájemný vztah jejich mechanických a transportních vlastností. K tomuto studium byly vybrány dvě skupiny hydrogelů skládající se z biokompatibilních látek, konkrétně z gellanu a alginátu sodného. První skupinou byly vzorky hydrogelů tvořené jedním typem zesítení (alginát sodný zesítený Ca^{2+} ionty a gellanový hydrogel v prostředí deionizované vody). Druhou skupinu tvořily hybridní hydrogely obsahující síť s dvojím typem zesítení. Mezi tyto hydrogely patřily hydrogely na bázi gellanu zesítené Ca^{2+} ionty, gellan s tweenem 80 a alginátový hydrogel zesítený Ca^{2+} ionty s PAAm a MBAAm. Porovnáním obou typů hydrogelů, tvořených jedním typem vazeb a hydrogelů tvořených dvojím typem zesítení, byly následně posouzeny případné změny v jejich mechanických a transportních vlastnostech.

Nejprve však bylo potřeba optimalizovat přípravu jednotlivých typů hydrogelů. Zejména byl kladen důraz na to, aby připravený gel držel tvar, nebyl příliš tuhý, byl homogenní a v ideálním případě opticky transparentní.

5.1 Optimalizace příprav hydrogelových systémů

5.1.1 Gellanové hydrogely

Nejdříve byly připraveny gellanové hydrogely tvořené jedním typem zesítení, v tomto případě šlo o fyzikální gellanové hydrogely. Byla připravena koncentrační řada gellanových hydrogelů o koncentracích gellanu 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. % v prostředí deionizované vody. Vlastnosti jednotlivých vzorků hydrogelů jsou uvedeny v následující Tabulce 2.

Tabulka 2: Koncentrační řada gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody.

Gellan [hm. %]	Vlastnosti
1,0	Čirý, velmi jemný, homogenní gel, který nedrží tvar.
1,5	Tužší gel, který začíná držet svůj tvar.
2,0	Tužší gel, který zaujímá tvar nádoby.
2,5	Jemně zakalený, tvrdý gel.
3,0	Tužší, zakalený gel.
3,5	Tuhý gel.
4,0	Velmi tuhý gel, který zgelovatěl téměř okamžitě.

Na základě vlastností uvedených v Tabulce 2, byly do dalších experimentů vybrány vzorky o koncentracích gellanu 1,5; 2 a 2,5 hm. %. Právě tyto vzorky se na základě vizuálního pozorování a při mechanické manipulaci jeví jako ty nejvhodnější. Vybrané vzorky hydrogelů měly ideální hustotu, tvrdost, byly dostatečně stálé a také homogenní, viz Obrázek 13.



Obrázek 13: Koncentrační řada vybraných gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody.

Dalším typem připravených hydrogelů byly hybridní hydrogely tvořené dvojím typem síťování, mezi které v této práci patřily hydrogely z gellanu zesítěného Ca^{2+} ionty a hydrogely na bázi gellanu a tweenu 80.

Nejprve byly připraveny gellanové hydrogely v roztoku dihydrátu chloridu vápenatém. Opět byla připravena koncentrační řada s koncentracemi gellanu 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. Roztok dihydrátu chloridu vápenatého byl připraven o koncentracích 0,1; 0,01 a 0,001 M. Celkem byly připraveny 3 koncentrační řady po 7 vzorcích, tedy 21 vzorků. Vlastnosti takto připravených hydrogelů jsou sesumarizovány v Tabulce 3 uvedené níže.

Tabulka 3: Koncentrační řady gellanových hydrogelů v prostředí $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Gellan [hm. %]	0,1 M Ca^{2+}	0,01 M Ca^{2+}	0,001 M Ca^{2+}
1,0	Sraženina	Gel nevznikl	Viskózní kapalina
1,5	Sraženina a mírný zákal	Viskóznější kapalina	Jemný, řídký gel
2,0	Sraženina a zákal	Řidší gel	Řídký gel
2,5	Sraženina a zákal	Řidší gel	Gel
3,0	Sraženina a zákal	Řídký gel	Tužší gel
3,5	Sraženina a hustší zákal	Homogenní gel	Tuhý gel
4,0	Sraženina a silný zákal	Tužší gel	Nejtuhší gel z řady

Vizuálním pozorováním byly pro další experimenty vybrány hydrogely o koncentracích gellanu 1,5; 2 a 2,5 hm. % v prostředí 0,01 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. V prostředí $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o koncentraci 0,001 M, byly vybrány hydrogely o koncentraci gellanu pouze 2 a 2,5 hm. %. Všichni tito zástupci měli totiž nejvhodnější vlastnosti vzhledem k navazujícím experimentům. Jednalo se o homogenní hydrogely, které na rozdíl od ostatních vzorků nebyly ani příliš tvrdé nebo naopak příliš viskózní. Fotografie jsou uvedeny v příloze této práce.

Dalším typem hydrogelů z řady hybridů, byly hydrogely z gellanu a polysorbátu, konkrétně tweenu 80. Vycházelo se z koncentrací gellanu v rozmezí 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. Dále byly připraveny roztoky tweenu 80 o koncentracích 5; 10; 20 a 30 obj. %. Celkem tedy byly připraveny 4 koncentrační řady po 7 vzorcích, tj. 28 vzorků. Přehled vlastností takto připravených hydrogelů je uveden v Tabulce 4 níže.

Tabulka 4: Koncentrační řady gellanových hydrogelů v prostředí tweenu 80.

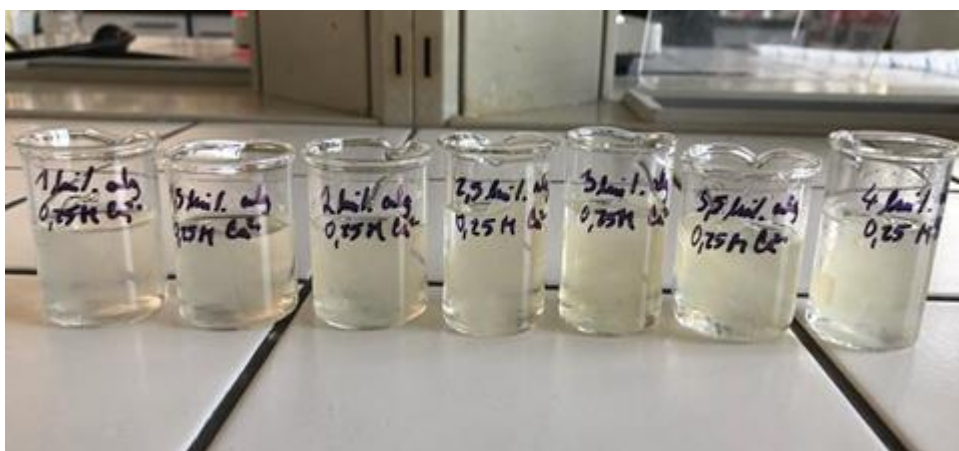
Gellan [hm. %]	5 obj. % tween 80	10 obj. % tween 80	20 obj. % tween 80	30 obj. % tween 80
1,0	Velmi řídký gel	Viskóznější kapalina	Gel	Kapalina
1,5	Řidší gel	Velmi jemný gel	Tužší gel	Kapalina
2,0	Gel	Tvrší gel	Tuhý gel	Kapalina
2,5	Tužší gel	Hustší gel	Velmi tuhý gel	Viskóznější kapalina
3,0	Tuhý gel	Hustý, pevný gel	Viskóznější kapalina se sraženinou	Viskóznější kapalina se sraženinou
3,5	Nejtužší gel	Nejhustší gel	Kapalina	Kapalina
4,0	Jemnější gel	Méně hustý gel	Kapalina	Kapalina

Co se týče výběru vhodných zástupců z řad výše připravených gelů, byly vybrány gely s roztoky 10 a 20 obj. % tweenu 80, neboť právě ty tvořily s gellanem strukturně neoptimálnější gely. Koncentrace gellanů byly nejideálnější o 1,5; 2 a 2,5 hm. %. Všechny gely byly zbarveny mírně do žluta, jelikož samotný polysorbát je žlutě zbarvená kapalina olejovitého charakteru (viz fotografie nacházející se v příloze práce).

5.1.2 Alginátové hydrogely

Pro charakterizaci alginátových hydrogelů byly opět připraveny dva typy hydrogelů. Nejprve byly připraveny klasické alginátové hydrogely tvořené jedním typem vazeb (alginát sodný zesítěný Ca^{2+} ionty), dále pak hybridní alginátové hydrogely tvořené dvojím typem vazeb (alginát sodný zesítěný Ca^{2+} ionty s PAAm a MBAAm).

Alginát tvoří velmi ochotně gely s vícevaznými kationty, a právě proto byl vybrán roztok dihydrátu chloridu vápenatého (dále jen $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Byly připraveny zásobní roztoky alginátu sodného o koncentracích 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 a 4 hm. %. Roztoky $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ byly připraveny ve třech různých koncentracích a to 0,1; 0,25 a 0,5 M. Výsledné gely se pak připravily smícháním zásobního roztoku alginátu sodného s roztokem $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v obj. poměrech 3:1, 2:1 a 1:1. Tímto způsobem bylo připraveno 21 vzorků pro každou ze tří koncentrací $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (celkem tedy 63 vzorků). Vlastnosti připravených hydrogelů jsou uvedeny v následujících třech tabulkách.



Obrázek 14: Příklad koncentrační řady alginátových hydrogelů s 0,25 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v poměru 1:1.

Tabulka 5: Koncentrační řady hydrogelů alginátu sodného s 0,1 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Alginát [hm. %]	Obj. poměr 3:1	Obj. poměr 2:1	Obj. poměr 1:1
1,0	Řidší gel	Nehomogenní gel	Vznikl jemný gel
1,5	Hustší gel	Gel	Méně pevný gel
2,0	Homogenní gel	Hustší gel	Hustší gel se zákalem
2,5	Hustý gel	Pevný gel	Hustší gel
3,0	Hustý, kompaktní gel	Nejhustší gel	Velmi hustý gel
3,5	Velmi hustý gel	Méně homogenní gel	Velmi pevný gel
4,0	Hustý gel	Méně hustý gel	Pevný gel

Tabulka 6: Koncentrační řady hydrogelů alginátu sodného s 0,25 M CaCl₂·2H₂O.

Alginát [hm. %]	Obj. poměr 3:1	Obj. poměr 2:1	Obj. poměr 1:1
1,0	Nehomogenní gel	Řídký gel	Velmi řídký gel
1,5	Nehomogenní gel	Gel	Řídký gel
2,0	Řidší gel	Hustší gel	Hustší, zakalený gel
2,5	Hustší gel	Pevnější gel	Hustší gel
3,0	Nejhustší gel	Pevný a hustý gel	Nejhustší gel
3,5	Nehomogenní gel	Velmi hustý a pevný gel	Méně pevný gel
4,0	Viskóznější kapalina	Nejhustší gel	Méně pevný gel

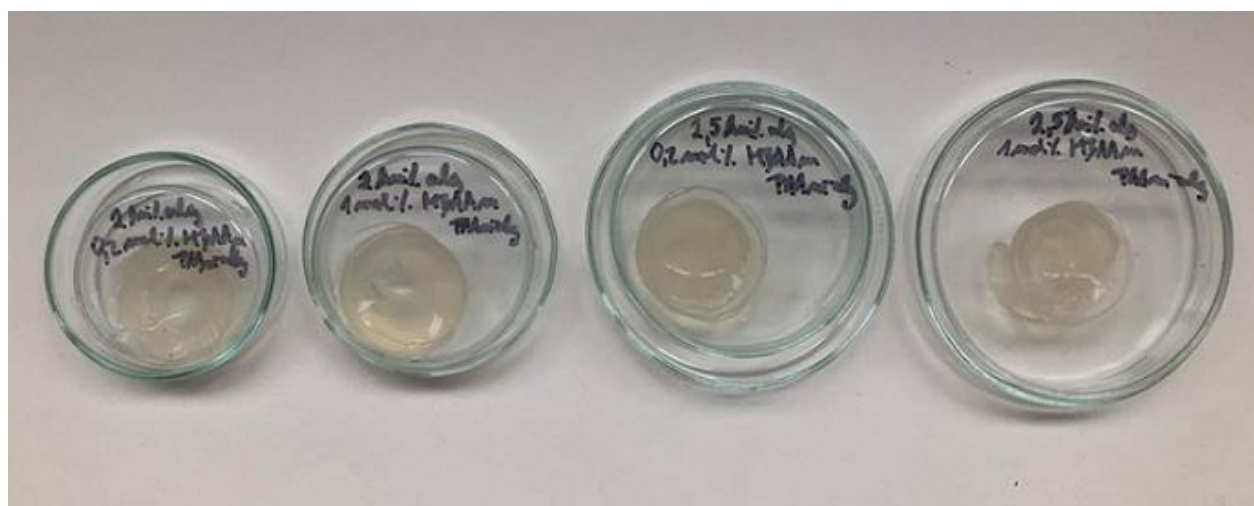
Tabulka 7: Koncentrační řady hydrogelů alginátu sodného s 0,5 M CaCl₂·2H₂O.

Alginát [hm. %]	Obj. poměr 3:1	Obj. poměr 2:1	Obj. poměr 1:1
1,0	Nehomogenní gel	Gel nevznikl	Jemný gel se zákalem
1,5	Nehomogenní gel	Velmi řídký gel	Nehomogenní gel
2,0	Kompaktní gel	Kompaktní gel	Pevnější gel
2,5	Hustý, pevný gel	Pevný gel	Pevný gel
3,0	Velmi hustý gel	Hustý a pevný gel	Velmi pevný gel
3,5	Velmi hustý gel	Velmi hustý gel	Velmi hustý gel
4,0	Nejpevnější gel	Nejhustší gel	Hustý, tvrdý gel

Mezi reprezentativní vzorky byly, na základě vizuálního pozorování a na základě mechanické manipulace se vzorky, vybrány vzorky s koncentrací alginátu sodného 2 a 2,5 hm. % z každého obj. poměru síťovacího činidla CaCl₂·2H₂O (tzn. o obj. poměrech 3:1, 2:1 a 1:1).

Experimentálně nejnáročnějším bodem bylo připravit hybridní hydrogely alginátu sodného s Ca^{2+} ionty a PAAm. Celkem byly připraveny 4 vzorky. Jak je výše uvedeno, vycházelo se ze článku [36]. Bylo tedy využito zásobního roztoku alginátu sodného o koncentracích 2 a 2,5 hm. % v prostředí deionizované vody, dále pak akrylamidu, který byl podroben radikálové polymeraci za zvýšené teploty za vzniku PAAm. MBAAm zde sloužil jako síťovací činidlo pro PAAm.

Dle navážek uvedených v Tabulce 1 vycházejících ze článku [36] a následných přepočtů na požadované objemy, bylo potřeba připravit zásobní roztoky MBAAm o koncentracích 0,2 a 1 mol. % ve finálních vzorcích hydrogelů. Přehled vlastností těchto vzorků je uveden v Tabulce 8.



Obrázek 15: Hybridní hydrogely alginátu sodného s PAAm.

Tabulka 8: Hybridní hydrogely alginátu sodného a PAAm.

2,0 hm. % alg a 0,2 mol. % MBAAm	2 hm. % alg a 1 mol. % MBAAm	2,5 hm. % alg a 0,2 mol. % MBAAm	2,5 hm. % alg a 1,0 mol. % MBAAm
Homogenní, zakalený gel	Homogenní, tužší, zakalený gel	Homogenní, tužší, zakalený gel	Homogenní, zakalený gel

5.2 Charakterizace a studium tvorby hydrogelových systémů

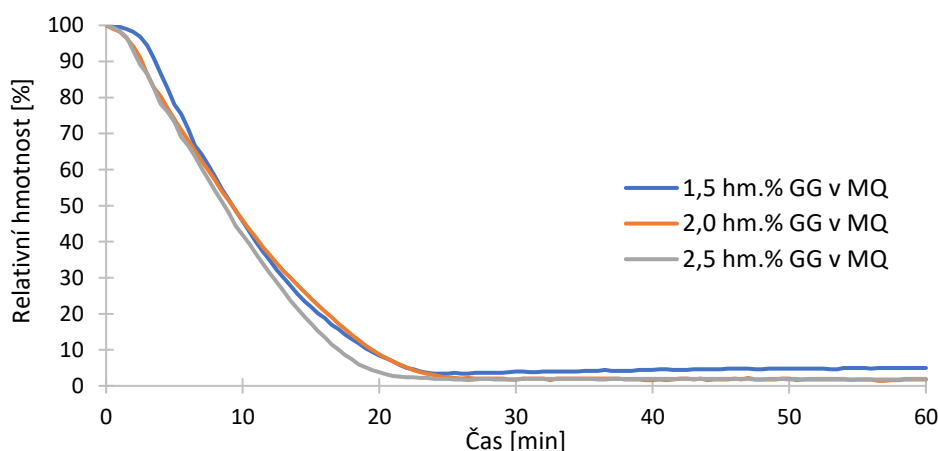
5.2.1 Sušící váhy

Prvním experimentálním měřením bylo měření (resp. sušení) vzorků hydrogelů na sušících vahách. Podrobnější nastavení přístroje je uvedeno v kapitole *Nastavení přístrojů* v sekci *Sušící váhy*. Cílem bylo sledovat průběh procesu sušení, resp. odpařování navázaných molekul vody, ve strukturách odlišně připravených hydrogelů.

Pro srovnání byly připraveny jak hydrogely tvořené jedním typem vazeb (fyzikální případně chemické), tak hydrogely s více typy vazeb (tzv. hybridní). Struktury těchto hydrogelů se od sebe liší, a tím pádem bylo stěžejní zjistit, zdali se mezi sebou budou lišit i závislosti v odpařování navázaných molekul vody v navzájem odlišně připravených vzorcích hydrogelů. Proměřeny byly všechny typy hydrogelů, tzn. gellanové hydrogely v prostředí deionizované vody, v prostředí Ca^{2+} iontů a v prostředí polysorbátu (tweenu 80). Byly proměřeny i hydrogely alginátového typu zesíťované Ca^{2+} ionty, a také hybridní alginátové hydrogely s Ca^{2+} ionty a PAAm.

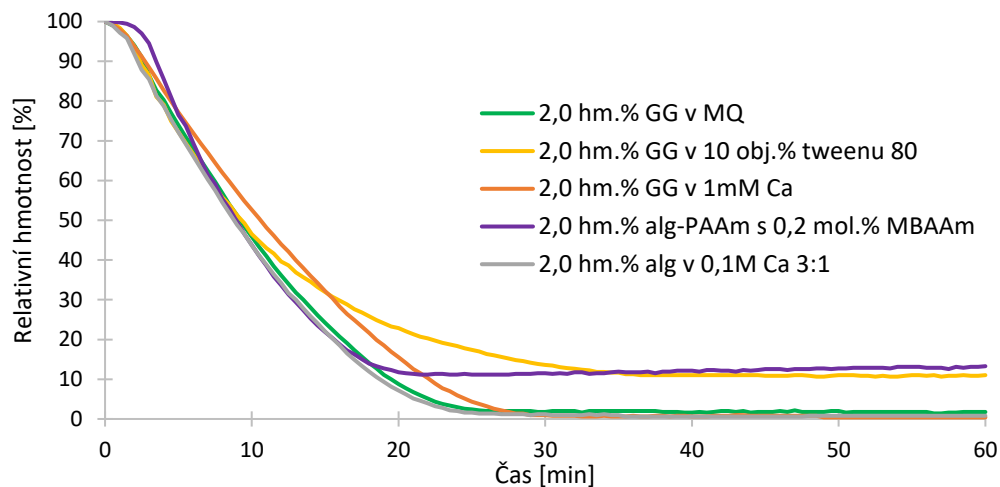
Naváženo bylo 0,5 g konkrétního typu hydrogelu a vzorky byly sušeny fixně po dobu 60 min. Jelikož se navážky od sebe, byť i minimálně lišily, vzaly se v potaz tzv. hmotnosti relativní. Naměřené hodnoty hmotností vzorků byly vždy vztaženy vzhledem k počáteční navážce vzorku. Jednotky relativních hmotností jsou tím pádem uvedeny v procentech.

Na vybraném Obrázku 16 uvedeném níže, je vyobrazen průběh sušení, resp. závislost relativních hmotností gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody v závislosti na čase (tzv. *termogravimetrická křivka*). Je zde vidět, že hmotnosti vzorků se ustálily již po cca 25 min.



Obrázek 16: Závislost relativních hmotností gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody v průběhu sušení na čase.

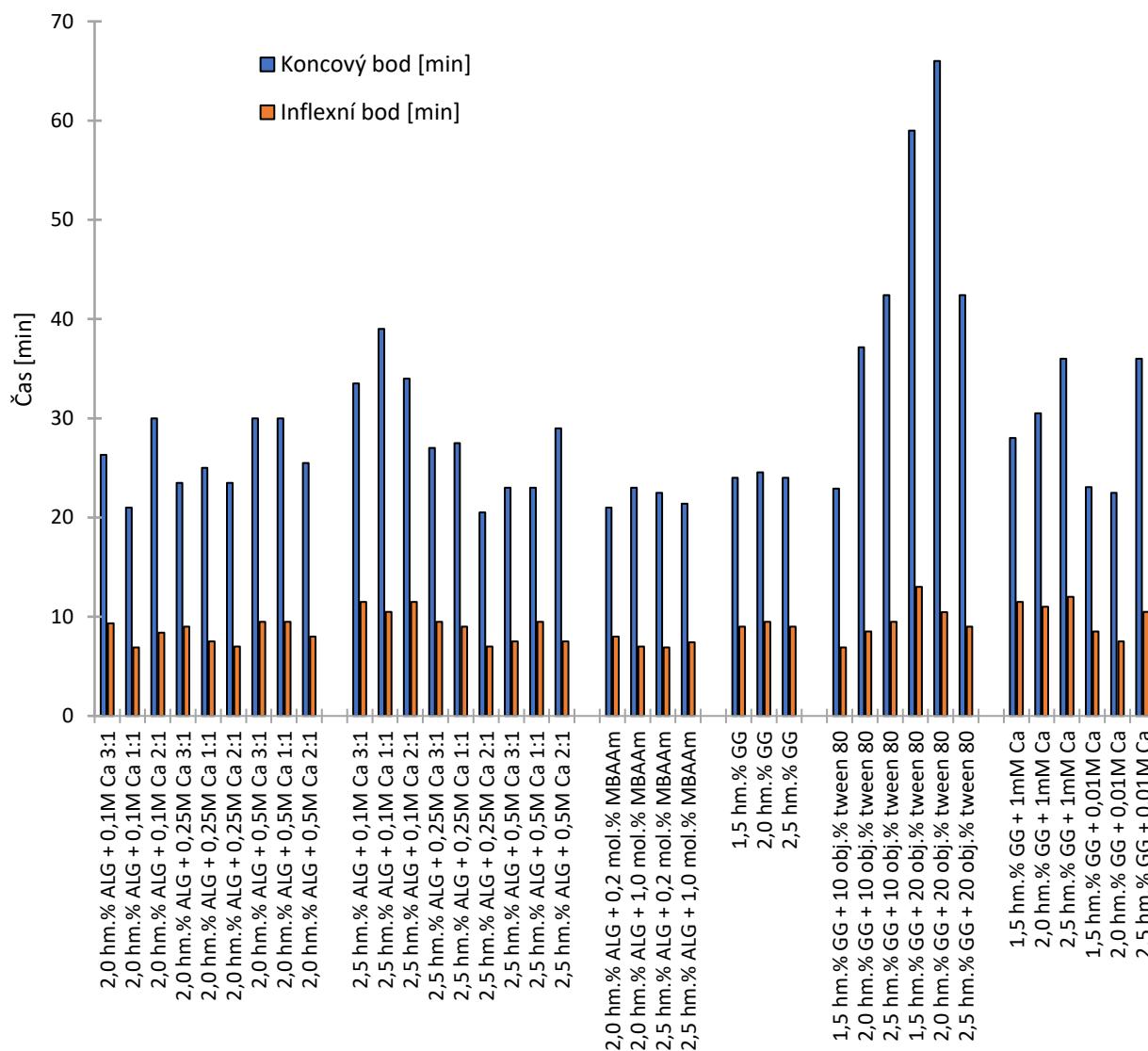
Na Obrázku 17 jsou pro lepší přehlednost uvedeny hydrogely se stejným množstvím (resp. hm. %) alginátu sodného a gellanu. Je zde vidět, že gellanové hybridní hydrogely s tweenem 80 se sušily mnohem déle, než gellanové hydrogely v prostředí ultračisté vody (jejich hmotnosti se ustálily kolem 40 až 50 min) a měly i vyšší obsah sušiny. Naopak alginátové hybridní hydrogely s PAAm se sušily rychleji (hmotnosti se ustálily po zhruba 15 až 20 min). Průběhy sušících křivek pro zbylé analyzované vzorky vykazovaly obdobný trend.



Obrázek 17: Relativní hmotnosti vybraných zástupců 2,0 hm. % gellanových a alginátových hydrogelů v průběhu sušení na čase.

Pro další zpracování výsledků se data vyhodnocovala v prostředí programu OriginPro (verze 2018 b). Pro vyhodnocení bylo potřeba do programu nejprve vložit data vypočtených relativních hmotností (z důvodu lepšího srovnání vzorků, lišících se v navážkách). Data byla proložena Boltzmanovou sigmoidní křivkou a poté zderivována.

Následně tedy bylo možné odečíst inflexní bod Boltzmannovy křivky, který odpovídá největšímu úbytku vody při sušení, a koncový bod, který odpovídá dosušení vzorku. Z určené hodnoty koncového bodu, od kterého na křivce sušení již vzorek dosahoval konstantní hmotnosti, byl rovněž určen obsah sušiny gelu.

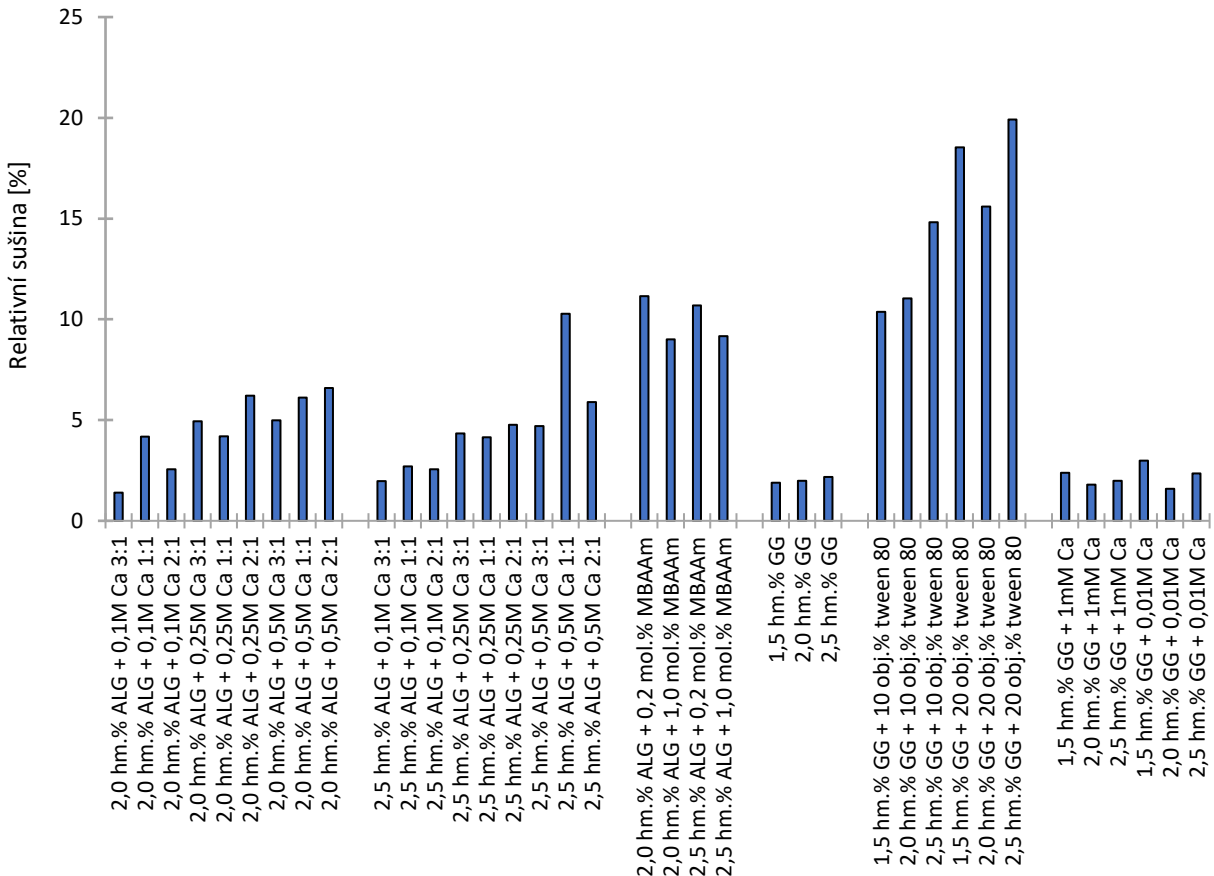


Obrázek 18: Hodnoty časů sušení všech připravených hydrogelů.

Na Obrázku 18 jsou zobrazeny hodnoty časových souřadnic pro stanovené inflexní body ze sušících křivek jednotlivých hydrogelů (na Obrázku 18 označeno jako inflexní bod) a hodnoty časových souřadnic ze sušících křivek, při kterých bylo dosaženo konstantní hmotnosti (na Obrázku 18 označeno jako koncový bod). Inflexní bod na sušící křivce znázorňuje čas, při kterém dochází k nejrychlejšímu váhovému úbytku hydrogelu při sušení. S rostoucí x-ovou souřadnicí inflexního bodu dochází k pozdějšímu vysušení vody ze struktury hydrogelu a lze tedy říct, že v hydrogelové síti je voda zadržována více, než v případě vzorků o nižší časové souřadnici inflexního bodu.

Obdobně je tomu s časovou souřadnicí koncového bodu, od které hydrogel dosahuje již konstantní hmotnosti. Veškerá voda odchází ze vzorku před tímto bodem a dále zůstává pouze pevný podíl hydrogelu – tzv. *sušina*.

U většiny vzorků byly stanoveny obdobné souřadnice inflexních bodů na sušících křivkách (při daném nastavení sušících vah okolo 10 min) a rovněž srovnatelné časy získání konstantní hmotnosti během sušení (mezi 20–30 minutou při použitém nastavení sušících vah). Největší výchyly však byly pozorovány u vzorků 2,5 hm. % alginátových hydrogelů zesíťovaných Ca^{2+} ionty a u gellanových hydrogelů v prostředí polysorbátu (tweenu 80). Lze se tedy domnívat, že struktury těchto hydrogelů se od ostatních struktur poněkud liší, neboť z nich bylo obtížnější navázané molekuly vody odpařit.



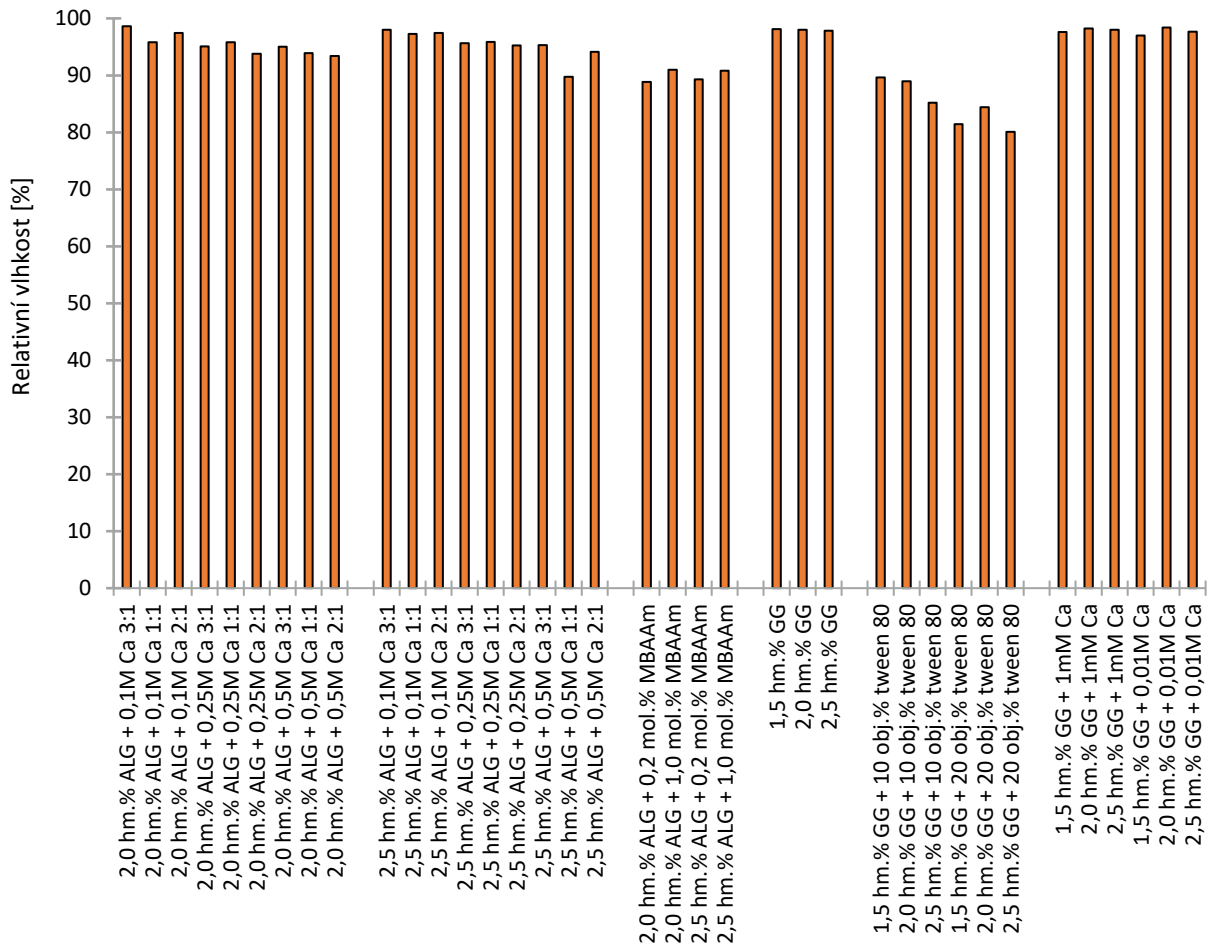
Obrázek 19: Hodnoty obsahů relativních sušín všech připravených hydrogelů.

Na Obrázku 19 jsou zobrazeny hodnoty obsahů relativních sušín ve všech připravených hydrogelech. Tyto hodnoty byly určeny jako y -ové souřadnice bodů, u kterých došlo k dosažení konstantní hmotnosti na sušící křivce (viz Koncové body na Obrázku 18).

Je zde vidět, že nejvyšších hodnot dosahují hybridní gellanové hydrogely s tweenem 80 a hybridní alginátové hydrogely s PAAm. Lze se tedy domnívat, že hydrogely síťované pouze Ca^{2+} ionty (resp. tvořené jedním typem vazeb) obsahují sušiny méně, kdežto hybridní hydrogely (o složitějších strukturách) obsahují sušiny více.

Může to být dáno tím, že polysorbát (tween 80) je viskózní látka, která byla obsažena v připravených hydrogelech ve vyšším množství v porovnání s ostatními aditivy (10 respektive 20 obj. %), a tudíž po vytvoření hydrogelu obsahoval hydrogel více sušiny. V alginátových hybridních hydrogelech je naopak obsaženo více složek, což v těchto případech mohlo přispět k vyššímu obsahu sušiny. Připravené hydrogely dosahovaly vcelku srovnatelných hodnot, a tak další rozdíly v mechanických (resp. transportních) vlastnostech budou souviset spíše s vnitřní strukturou hydrogelu, obsahem vazebných míst či porozitou gelu nežli přímo s obsahem vody.

Ze závislosti relativních vlhkostí jednotlivých hydrogelů (viz Obrázek 20 níže) si lze všimnout, že hodnoty hybridních gellanových hydrogelů s tweenem 80 a hodnoty hybridních alginátových hydrogelů s PAAm dosahují oproti zbývajícím hydrogelům nižších hodnot. Je to zřejmě způsobeno komplikovanějšími strukturami těchto hydrogelů a vyšším obsahem složek nutných pro jejich přípravu a zesítní.



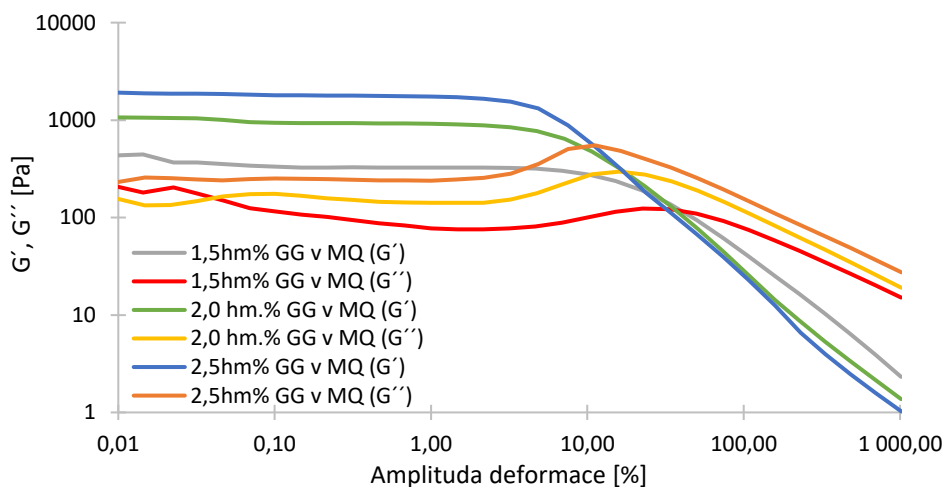
Obrázek 20: Hodnoty relativních vlhkostí všech připravených typů hydrogelů.

5.2.2 Reologická měření

Mezi další experimenty patřila reologická měření. Podrobnější nastavení přístroje je uvedeno v kapitole *Nastavení přístrojů* v sekci *Reometr*. V tomto případě bylo cílem sledovat mechanické, resp. viskoelastické vlastnosti připravených hydrogelových systémů. Mezi sledované vlastnosti patřily především: elastické a viskózní moduly, komplexní moduly, ztrátové úhly, amplitudy deformací a v neposlední řadě také obsahy jednotlivých složek (např. Ca^{2+} iontů) a jejich vliv na odolnost či rigiditu připravených hydrogelů.

Gellanové hydrogely

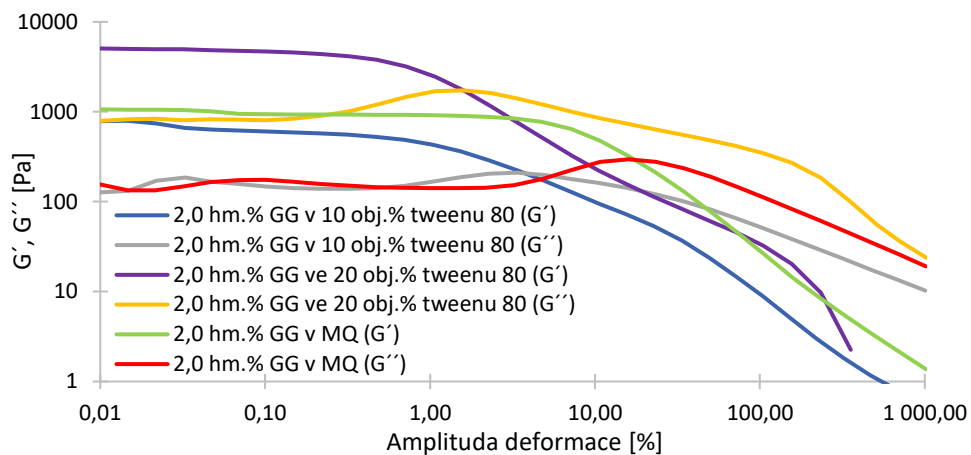
První studovanou skupinou byly gellanové typy hydrogelů. Pro srovnání jednotlivých naměřených charakteristik, jsou na obrázcích níže zobrazeny amplitudové testy. Na Obrázku 21 jsou vyobrazeny závislosti gellanových hydrogelů o všech připravených koncentracích v prostředí deionizované vody.



Obrázek 21: Závislost elastických a viskózních modulů gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody na amplitudě deformace.

Ze závislostí vyplývá, že nejvyšších hodnot viskoelastických modulů dosahuje hydrogel o koncentraci gellanu 2,5 hm. %. Hydrogel se i na základě vizuálního pozorování jevil jako nejvíce tuhý. Nejnižších hodnot viskoelastických modulů naopak dosahuje hydrogel o koncentraci gellanu 1,5 hm. %. Co se týče hodnot amplitud deformací odpovídajících konci lineární viskoelastické oblasti (dále jen LVO), resp. tzv. *cross-pointu*, které hovoří o schopnosti materiálu odolávat působení vnějšího napětí, dosahoval vzorek 2,5 hm. % gellanového hydrogelu nejnižších hodnot. Tento typ hydrogelu tedy neodolává namáhání tak dobře, jako např. 1,5 hm. % gellanový hydrogel, jehož hodnoty amplitud deformací odpovídající konci LVO dosahují vyšších hodnot. Lze se tedy domnívat, že 1,5 hm. % gellanový hydrogel je schopen více odolávat působení vnějšímu napětí, než se jeho struktura začne bortit.

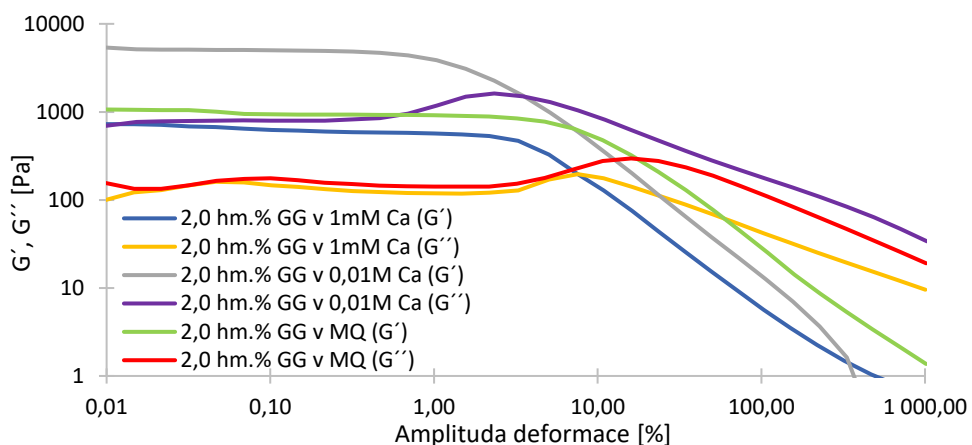
Na Obrázku 22 níže jsou uvedeny závislosti výsledků z amplitudových testů 2 hm. % gellanových typů hydrogelů připravených v deionizované vodě ve srovnání s 2 hm. % gellanovými hydrogely připravených v prostředí roztoku tweenu 80. Zbylé koncentrace a výsledky z amplitudových testů jsou uvedeny v příloze této práce.



Obrázek 22: Závislost elastických a viskózních modulů 2,0 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a v prostředí tweenu 80 na amplitudě deformace.

Nejvyšších hodnot viskoelastických modulů dle Obrázku 22 dosahuje vzorek 2 hm. % gellanového hydrogelu v prostředí 20 obj. % tweenu 80. Hydrogel byl nejvíce pevný a zřejmě i vyšší zastoupení viskózní látky, kterou tween 80 je, přispělo k celkové pevnosti hydrogelu. Z pohledu hodnot amplitud deformací odpovídajících konci LVO (resp. *cross-pointu*) testy ukazují, že nejvyšších hodnot dosahují gellanové hydrogely v prostředí deionizované vody. Tyto hydrogely jsou tedy oproti zbylým schopny lépe odolávat namáhání a relaxovat.

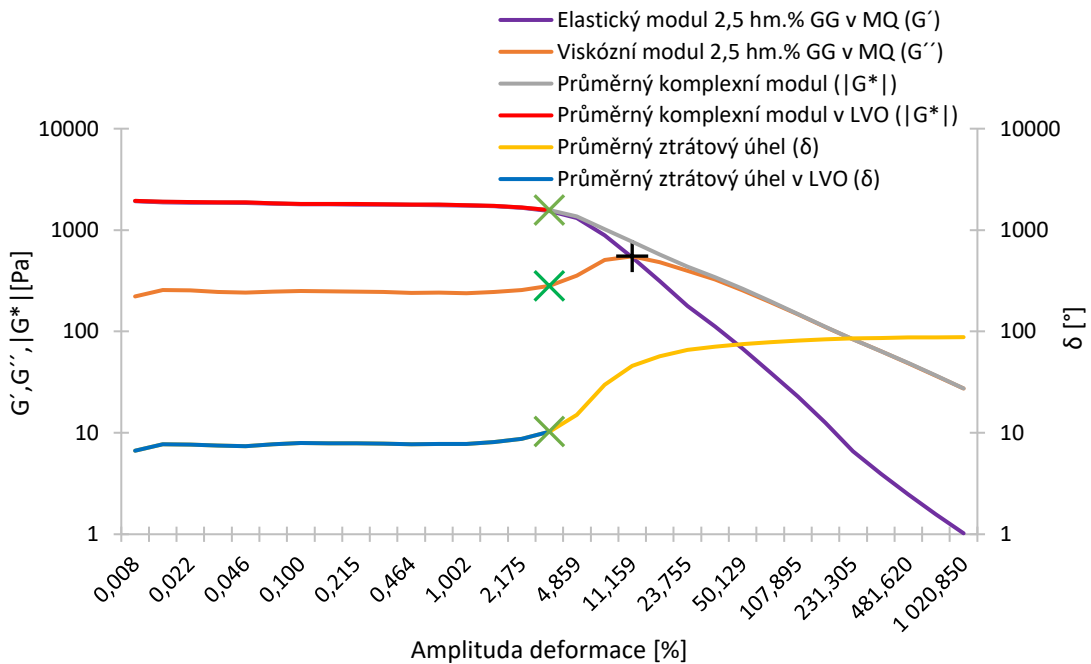
Na Obrázku 23 jsou zobrazeny výsledky z provedených amplitudových testů gellanových hydrogelů v deionizované vodě a gellanových hydrogelů v prostředí Ca^{2+} iontů. I v tomto případě byly pro srovnání a přehled vybrány hydrogely o koncentraci gellanu 2 hm. %.



Obrázek 23: Závislost elastických a viskózních modulů 2,0 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a v prostředí roztoků Ca^{2+} iontů na amplitudě deformace.

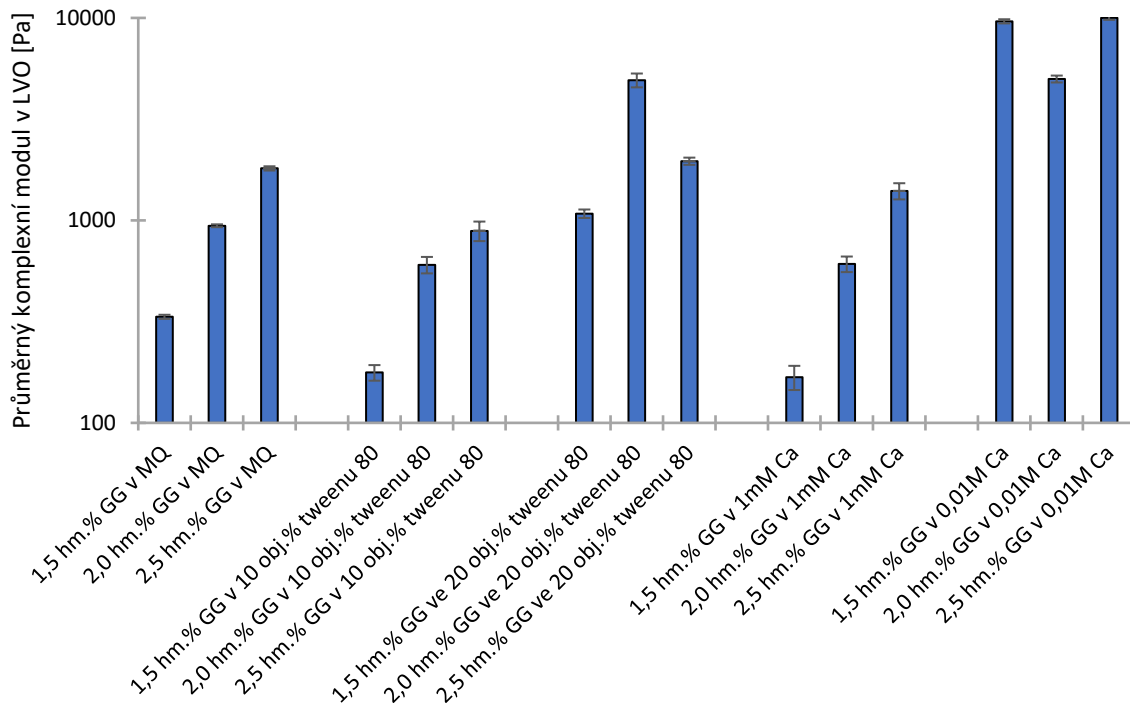
Výsledky z Obrázku 23 prokazují, že nejvyšších hodnot viskoelastických modulů dosahují 2 hm. % gellanové hydrogely v prostředí roztoku $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o koncentraci 0,01 M, a zároveň dosahují nejnižší hodnoty amplitudy deformace odpovídající konci LVO. Nejvyšší hodnoty amplitudy deformace odpovídající konci LVO dosahují i v tomto případě 2 hm. % gellanové hydrogely v prostředí deionizované vody, což opět vypovídá o tom, že jsou tyto hydrogely nejvíce odolné vůči působení vnějších sil.

Pro porovnání jednotlivých vzorků hydrogelů byly zvoleny v získaných amplitudových oscilačních testech hodnoty průměrných komplexních modulů a průměrných ztrátových úhlů. Na Obrázku 24 je pro ilustraci uveden amplitudový test 2,5 hm. % gellanového hydrogelu v prostředí deionizované vody. Hodnoty průměrného komplexního modulu jsou v grafu označeny šedou barvou. Pro bližší charakterizaci hodnot průměrných komplexních modulů se brala v potaz pouze oblast po konec LVO, která je v grafu znázorněna červenou barvou. Jedná se o oblast, kdy je hydrogel ideálně zesíťovaný, kdežto za touto oblastí LVO již dochází vlivem působení vnějšího napětí ke zhroucení celé struktury gelu. Konec LVO je v grafu označen zelenými křížky. Konec LVO, resp. *cross-point* v tomto případě amplitud deformací elastického (G') a viskózního (G'') modulu, je v grafu znázorněn černým křížkem. Hodnoty průměrného ztrátového úhlu jsou v grafu zobrazeny žlutou barvou. V tomto případě nás opět zajímala oblast po konec LVO, která je v grafu znázorněna modrou barvou. Je to oblast, během které materiál vykazuje jemu charakteristickou makroskopickou tuhost, kdežto za touto hraniční hodnotou LVO je struktura materiálu vlivem působení vnějšího napětí zcela zničena.



Obrázek 24: Amplitudový test 2,5 hm. % gellanového hydrogelu v prostředí deionizované vody.

Další sledovanou veličinou byl průměrný komplexní modul v LVO. Komplexní modul je veličina, která popisuje rigiditu analyzovaného vzorku. V případě hydrogelů hodnota komplexního modulu odpovídá míře zesílení vnitřní struktury hydrogelu, resp. její provázanosti. Na Obrázku 25 jsou znázorněny komplexní moduly všech připravených gellanových hydrogelů. Postup určení hodnot komplexních modulů je vysvětlen na str. 49.



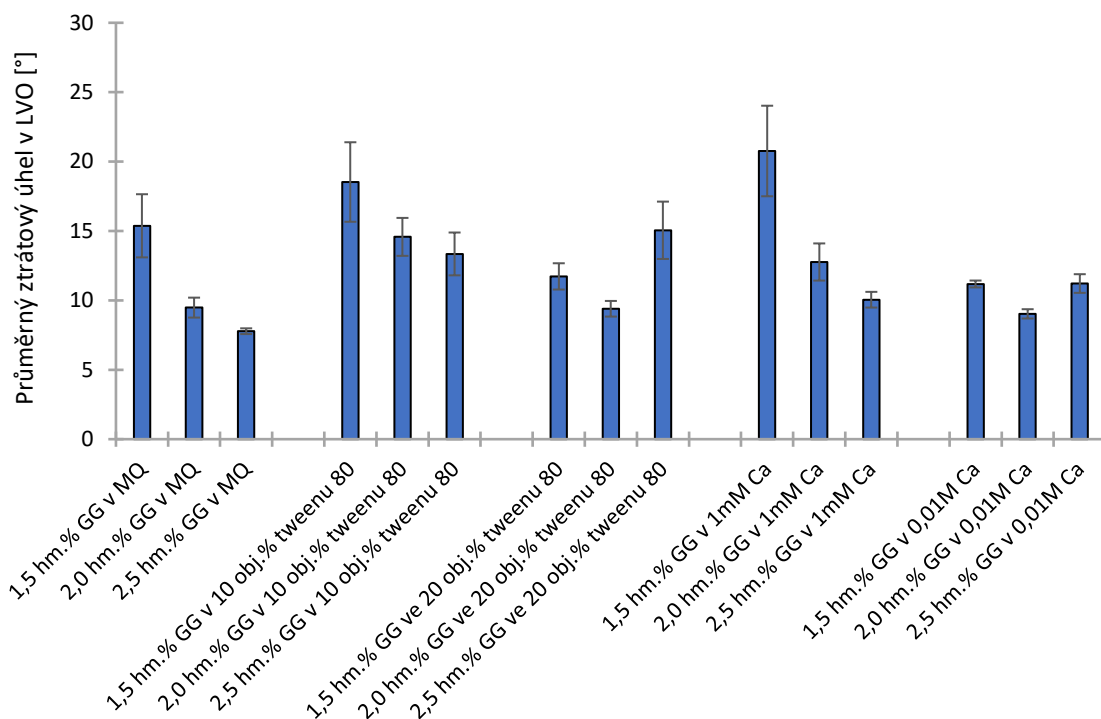
Obrázek 25: Komplexní moduly gellanových hydrogelů.

Hodnoty komplexních modulů z Obrázku 25 ukazují, že s rostoucí koncentrací gellanu komplexní modul dle očekávání roste. V hydrogelu se totiž nachází větší množství vazeb, a tím pádem roste i jeho rigidita (zesílení).

Při porovnání hodnot komplexních modulů těchto typů gellanových hydrogelů vůči hybridním gellanovým hydrogelům s obsahem Ca^{2+} iontů, hybridní hydrogel s nižším obsahem Ca^{2+} iontů dosahuje obdobných hodnot komplexních modulů, a tím pádem je i podobně zesíťovaný. S vyšším přídatkem Ca^{2+} iontů komplexní moduly pro stejné koncentrace gellanových hydrogelů rostou. Bylo tedy prokázáno, že Ca^{2+} ionty opravdu více síťují gellanové hydrogely a jejich struktura je proto rigidnější.

Co se týče hybridních hydrogelů v prostředí Ca^{2+} o koncentraci 0,01 M, tak v tomto případě již nejsou patrné rozdíly ve vztahu ke zvyšujícímu se obsahu gellanu. Zřejmě zde dochází k tomu, že jsou vazby s Ca^{2+} ionty dominantnější. U hybridních gellanových hydrogelů s tweenem 80 dochází k podobným trendům. S vyšší koncentrací tweenu 80 je vazba přes tenzid dominantnější (rostoucí koncentrace gellanu již nemá takový vliv), ale není zde zřejmý takový nárůst v hodnotách komplexních modulů, jako je tomu u komplexních modulů gellanových hydrogelů s Ca^{2+} ionty.

Další sledovanou veličinou byl průměrný ztrátový úhel v LVO. Ztrátový úhel charakterizuje makroskopickou tuhost zvoleného materiálu, tedy podobnost s ideálně tuhým materiálem (odpovídal by ztrátový úhel 0°). Závislosti ztrátových úhlů připravených gellanových hydrogelů jsou uvedeny na Obrázku 26 níže. Postup stanovení hodnot ztrátových úhlů je vysvětlen na str. 49.



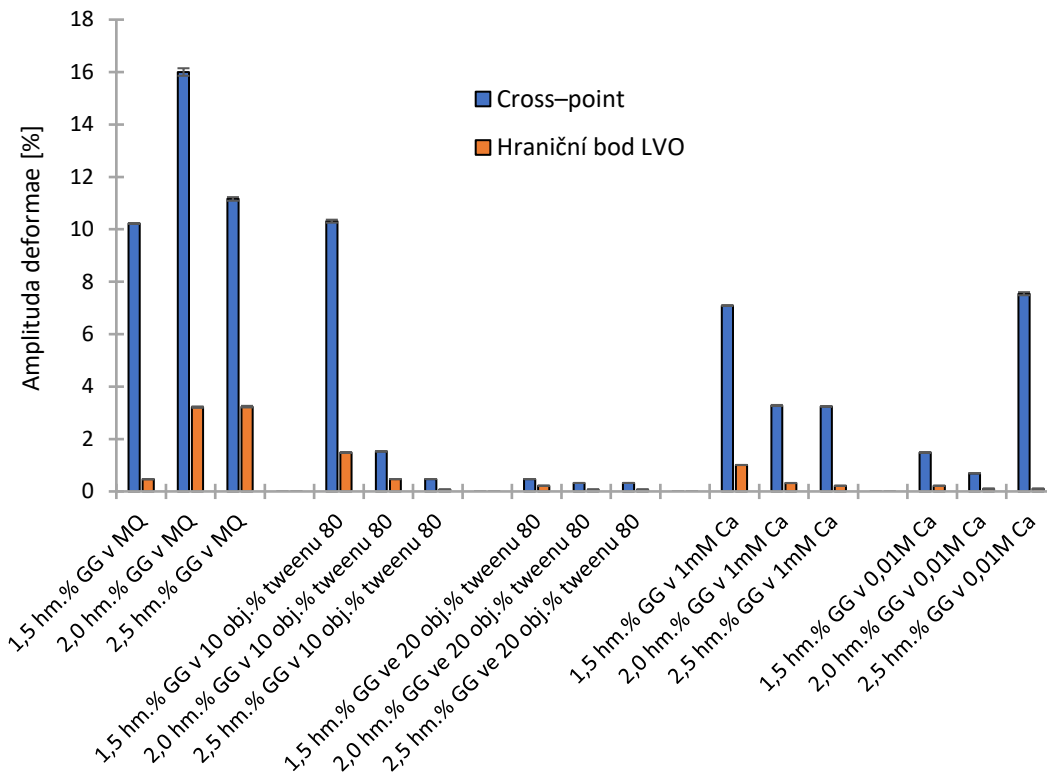
Obrázek 26: Ztrátové úhly gellanových hydrogelů.

Ze závislostí uvedených na Obrázku 26 je vidět, že u gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody s rostoucí koncentrací gellanu, dle očekávání, hodnoty ztrátového úhlu klesají. S rostoucí koncentrací gellanu totiž dochází ke zvyšování počtu vazeb v hydrogelu, což má za následek vyšší tuhost gelu.

U gellanových hybridních hydrogelů v prostředí $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, s nižším přídatkem Ca^{2+} iontů, je obecně trend podobný, jako je tomu u čistých gellanových hydrogelů (tj. pouze v prostředí deionizované vody). Vyšší přídatek Ca^{2+} iontů na ztrátový úhel již nemá vliv.

Obecně u gellanových hybridních hydrogelů s nižším přídatkem tweenu 80 je trend taktéž podobný, jako u čistých gellanových hydrogelů, tj. s rostoucí koncentrací tweenu 80 hodnoty ztrátových úhlů klesají. Hydrogely totiž obsahují větší množství vazeb, což přispívá k vyšší tuhosti gelů. Vyšší přídatky tweenu 80 na ztrátový úhel vliv již také nemají.

Dále byly sledovány závislosti hodnot amplitud deformací odpovídající konci LVO, respektive *cross-pointu* elastického a viskózního modulu všech gellanových hydrogelů. Porovnání amplitud deformací, odpovídající oběma výše popsaným jevům, poskytuje informace o tom, do jaké míry je materiál schopen odolávat vnějšímu napětí, což popisuje jeho odolnost. Hodnoty amplitud deformací jednotlivých gellanových hydrogelů jsou uvedeny na Obrázku 27. Postup stanovení těchto hodnot je uveden na str. 49.



Obrázek 27: Hodnoty amplitud deformací gellanových hydrogelů.

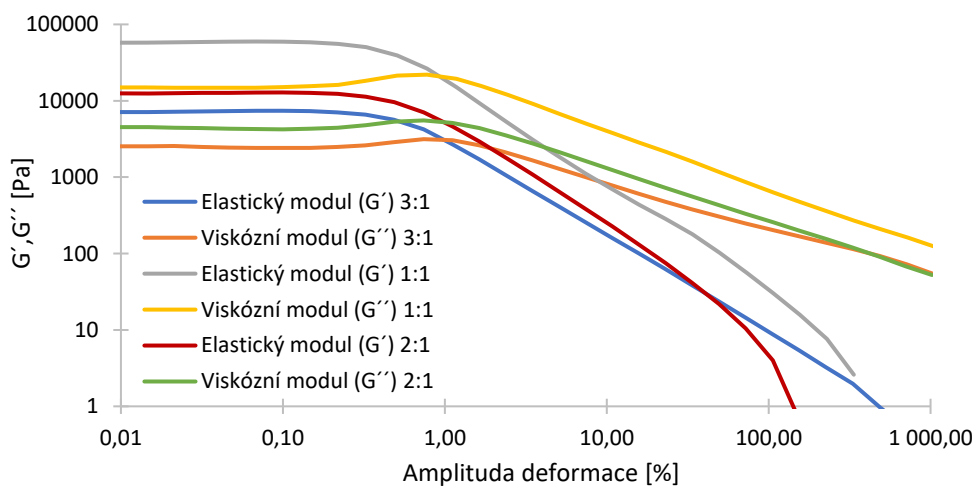
Z hodnot uvedených na Obrázku 27 není detekován jednoznačný vliv společný pro všechny připravené hydrogely. Můžeme si ale všimnout, že u gellanových hydrogelů připravených v prostředí deionizované vody a u gellanových hydrogelů v prostředí 0,01 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lze pozorovat, že s rostoucím obsahem gellanu nastává *cross-point* (resp. konec LVO) mírně při vyšších hodnotách amplitud deformací. Dochází k tomu tak z toho důvodu, že s rostoucím obsahem gellanu v systémech roste také počet vazeb, a tak tyto typy hydrogelů dokážou lépe reagovat na rostoucí namáhání a lépe odolávat vnějšímu napětí (tj. relaxovat).

U gellanových hybridních hydrogelů s tweenem 80 lze pozorovat jev, kdy *cross-point* i konec LVO s rostoucí koncentrací gellanu a zvyšující se koncentrací tweenu 80 dosahují postupně se snižujících hodnot amplitud deformací. Tyto hybridní hydrogely dokážou tím pádem hůře odolávat mechanickému napětí. U gellanových hydrogelů v prostředí 1 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ je trend podobný jako u hydrogelů s tweenem 80, jen pokles není tak výrazný.

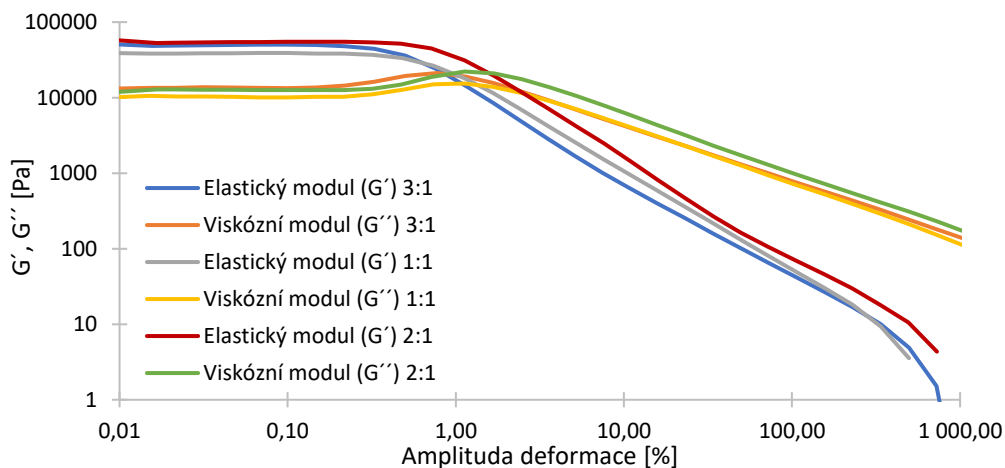
Alginátové hydrogely

Druhou studovanou skupinou byly hydrogely na bázi alginátu sodného. Alginátové hydrogely byly připraveny přidávkem síťovacího činidla, konkrétně roztokem $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Koncentrace Ca^{2+} iontů byla regulována dvojím způsobem. Změnila se buď molární koncentrace zásobních roztoků těchto iontů, nebo se změnil poměr přídatku roztoku Ca^{2+} iontů ku množství roztoku alginátu sodného v deionizované vodě.

Na Obrázku 28 a 29, které byly vybrány pro studium vlastností alginátových hydrogelů, jsou zobrazeny závislosti viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro 2 hm. % alginátové hydrogely v prostředí roztoků Ca^{2+} iontů o koncentracích 0,1 M a 0,5 M. Oscilační testy zbylých alginátových hydrogelů, jsou uvedeny v příloze této práce.



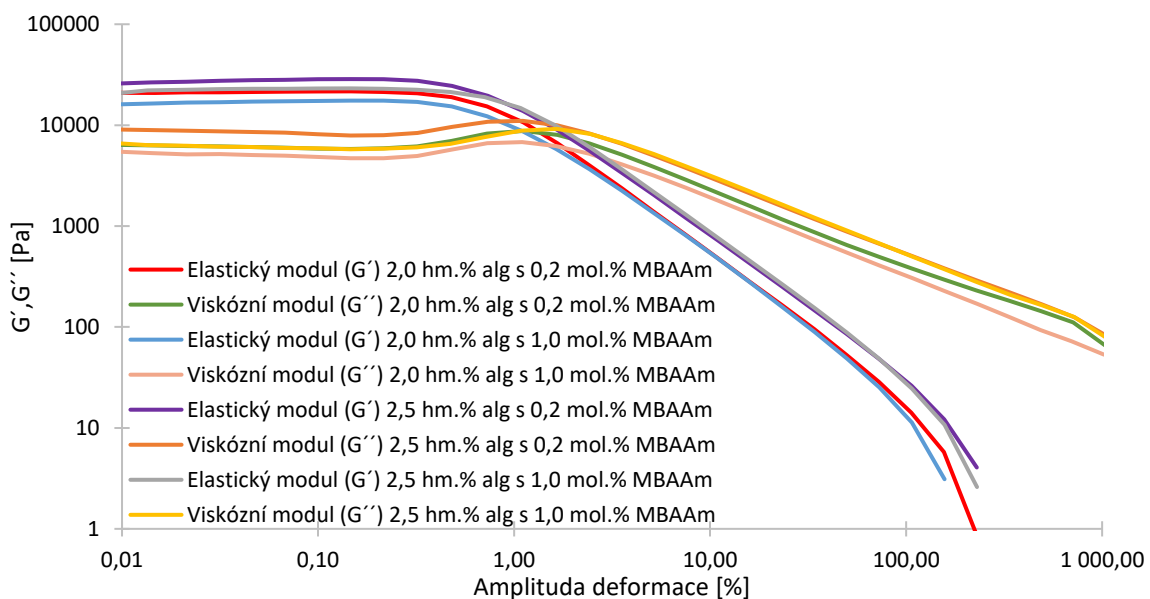
Obrázek 28: Závislost elastických a viskózních modulů 2 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku 0,1 M Ca^{2+} (v různých poměrech) na amplitudě deformace.



Obrázek 29: Závislost elastických a viskózních modulů 2 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku 0,5 M Ca^{2+} (v různých poměrech) na amplitudě deformace.

Ze závislostí uvedených na Obrázku 28 a 29 si lze všimnout, že na průběh oscilačních testů má přídavek (resp. koncentrace) Ca^{2+} iontů vliv. Je zde vidět rozdíl v rozpětí LVO a především rozdíl v hodnotách viskoelastických modulů. Moduly hydrogelů v prostředí 0,1 M Ca^{2+} iontů dosahují nižších hodnot, než v prostředí 0,5 M Ca^{2+} iontů. V prostředí 0,1 M Ca^{2+} iontů se při porovnání s hydrogely v prostředí 0,5 M Ca^{2+} iontů jedná o méně odolné struktury, neboť elastické a viskózní moduly dosahují nižších hodnot. Může to být dáno tím, že u nižší koncentrace Ca^{2+} iontů dochází k postupnému obsazování vazebných míst ve strukturách hydrogelů, kdežto u vyšších koncentracích, jsou již vazebná místa téměř obsazena, a na dalším příbytku síťovacího činidla již tak nezáleží a struktury jsou tím pádem více pevné. Z tohoto důvodu hydrogely v prostředí 0,5 M Ca^{2+} iontů dosahují navzájem dost podobných hodnot.

Dále byly proměřeny amplitudové testy hybridních alginátových hydrogelů. Na Obrázku 30 uvedeném níže jsou zobrazeny výsledky oscilačních testů 2 hm. % a 2,5 hm. % hybridních alginátových hydrogelů (kombinace fyzikálního síťování alginátu s Ca^{2+} ionty a chemického síťování PAAm s MBAAm).



Obrázek 30: Závislost elastických a viskózních modulů 2 a 2,5 hm. % alginátových hybridních hydrogelů na amplitudě deformace.

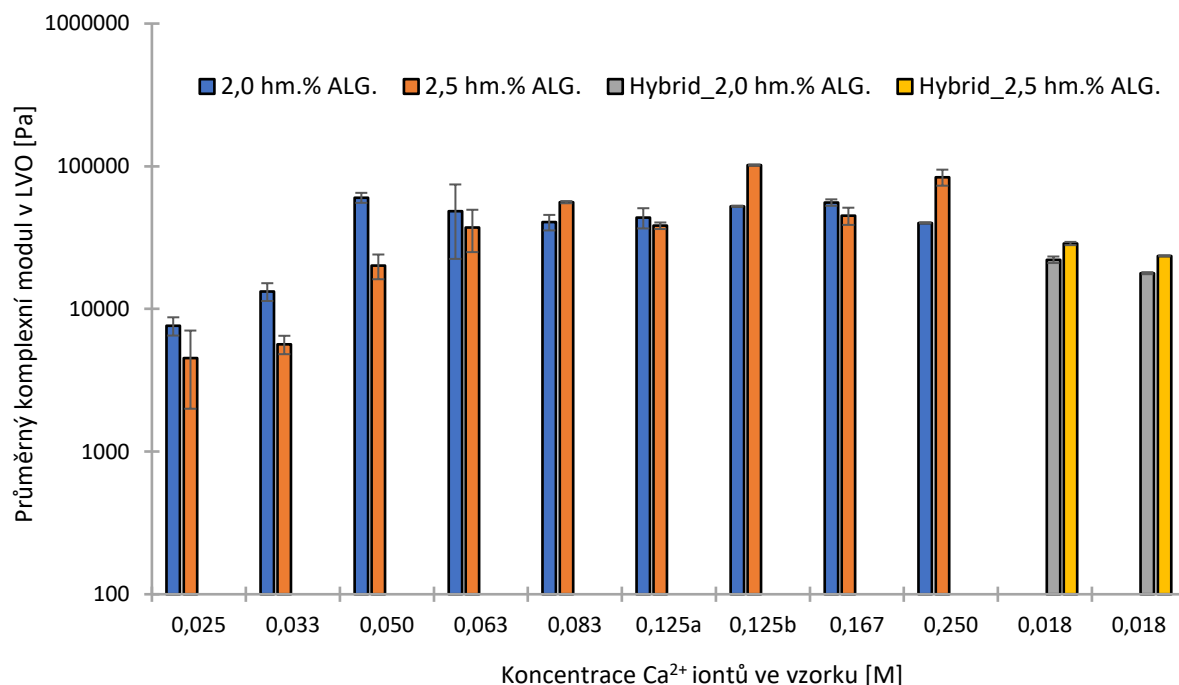
V těchto případech můžeme říct, že změna koncentrace alginátu sodného, ani změna koncentrace chemicky síťovacího činidla MBAAm, nezpůsobují odchylky ve vlastnostech, neboť viskózní a elastické moduly dosahují podobných hodnot. I na základě vizuálního pozorování se jednalo o stejně pevné a tvárné gely.

Pro další studium vlastností alginátových hydrogelů, byly poměry přidaného množství roztoku síťovacího činidla $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (resp. Ca^{2+} iontů) přepočteny dle postupu uvedeného v Tabulce 9 ($M_{\text{W}} \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 110,98 g/mol).

Tabulka 9: Výpočty obsahů Ca^{2+} iontů v alginátových hydrogelech.

Složení alginátových hydrogelů	Postup výpočtu	Koncentrace Ca^{2+} iontů ve vzorku
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,10 M Ca^{2+} 3:1	$0,10 \text{ M} \cdot \frac{1}{4}$	0,025 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,10 M Ca^{2+} 2:1	$0,10 \text{ M} \cdot \frac{1}{3}$	0,033 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,10 M Ca^{2+} 1:1	$0,10 \text{ M} \cdot \frac{1}{2}$	0,050 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,25 M Ca^{2+} 3:1	$0,25 \text{ M} \cdot \frac{1}{4}$	0,063 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,25 M Ca^{2+} 2:1	$0,25 \text{ M} \cdot \frac{1}{3}$	0,083 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,25 M Ca^{2+} 1:1	$0,25 \text{ M} \cdot \frac{1}{2}$	0,125 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,50 M Ca^{2+} 3:1	$0,50 \text{ M} \cdot \frac{1}{4}$	0,125 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,50 M Ca^{2+} 2:1	$0,50 \text{ M} \cdot \frac{1}{3}$	0,167 M
2,0 a 2,5 hm. % alg. + 0,50 M Ca^{2+} 1:1	$0,50 \text{ M} \cdot \frac{1}{2}$	0,250 M
Alginátové hybridy s 2,0 hm. % Ca^{2+}	$\frac{2,00}{110,98 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}$	0,018 M

Z provedených amplitudových testů byl, obdobným způsobem jako v případě gellanových hydrogelů, stanoven průměrný komplexní modul, průměrný ztrátový úhel v LVO a amplitudy deformace odpovídající konci LVO, resp. tzv. *cross-pointu*. Na Obrázku 31 jsou znázorněny komplexní moduly všech připravených alginátových hydrogelů. Postup stanovení těchto hodnot je popsán na str. 49.

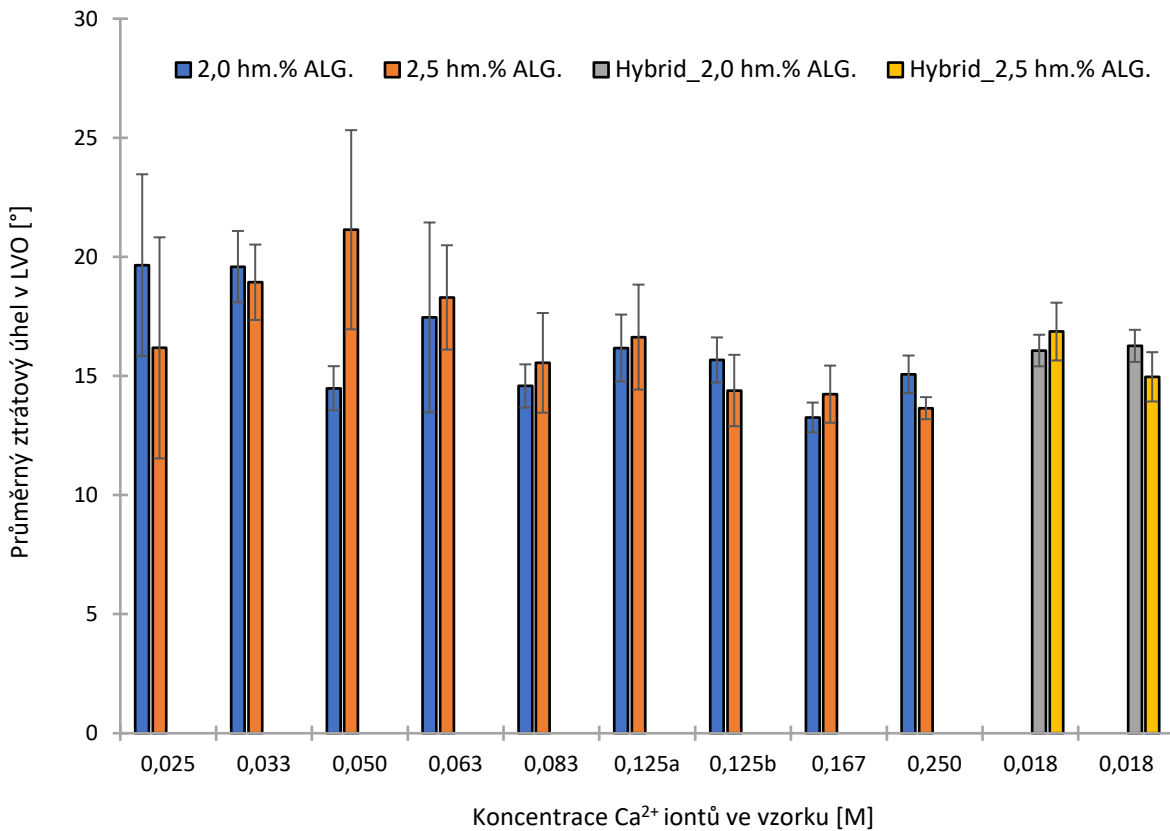


Obrázek 31: Závislost komplexních modulů alginátových hydrogelů na koncentraci Ca²⁺ iontů ve vzorku.

Ze závislostí je vidět, že s rostoucím obsahem Ca²⁺ iontů (buď s větším poměrem nebo s vyšší koncentrací použitého roztoku síťovacího činidla CaCl₂·2H₂O) dle očekávání komplexní modul roste. To znamená, že se v hydrogelu nachází větší množství vazeb, z čehož vyplývá, že jeho rigidita (neboli tuhost či provázanost) roste. Nejvíce se tato závislost projevuje u alginátových hydrogelů s přídatkem 0,1 M roztoku CaCl₂·2H₂O ve všech zvolených poměrech. Na Obrázku 31 se jedná o hodnoty koncentrace Ca²⁺ iontů 0,025 M, 0,033 M a 0,050 M. Pozn.: hodnota 0,125a z Obrázku 31 odpovídá, po přepočtu na koncentraci Ca²⁺ iontů, vzorku s 0,25 M Ca²⁺ v obj. poměru 1:1 a hodnota 0,125b odpovídá vzorku s 0,5 M Ca²⁺ v obj. poměru 3:1.

Co se týče porovnání komplexních modulů mezi fyzikálními a hybridními alginátovými hydrogely, lze říct, že hybridní hydrogel má více méně vlastnosti na pomezí alginátových hydrogelů s přídatkem 0,1 M a 0,25 M CaCl₂·2H₂O. Na Obrázku 31 se jedná o koncentrace Ca²⁺ iontů 0,025 M, 0,033 M, 0,050 M, 0,063 M, 0,083 M a 0,125 M. Jsou tedy lehce více zesítěné než hydrogely s 0,1 M Ca²⁺ ionty a méně zesítěné než 0,25 M, resp. 0,5 M (navzdory tomu, že koncentrace Ca²⁺ iontů je výrazně nižší). To může souviset s přítomností podvojně sítě kombinující chemické (kovalentní) vazby mezi PAAm a MBAAm a fyzikální (iontové) vazby mezi alginátem a Ca²⁺ ionty.

Další sledovanou veličinou byl průměrný ztrátový úhel v LVO. Ztrátový úhel charakterizuje makroskopickou tuhost materiálu. Závislosti ztrátových úhlů alginátových hydrogelů (vč. závislosti těchto úhlů pro hybridní alginátové hydrogely) jsou uvedeny na Obrázku 32. Postup stanovení je blíže popsán na str. 49.

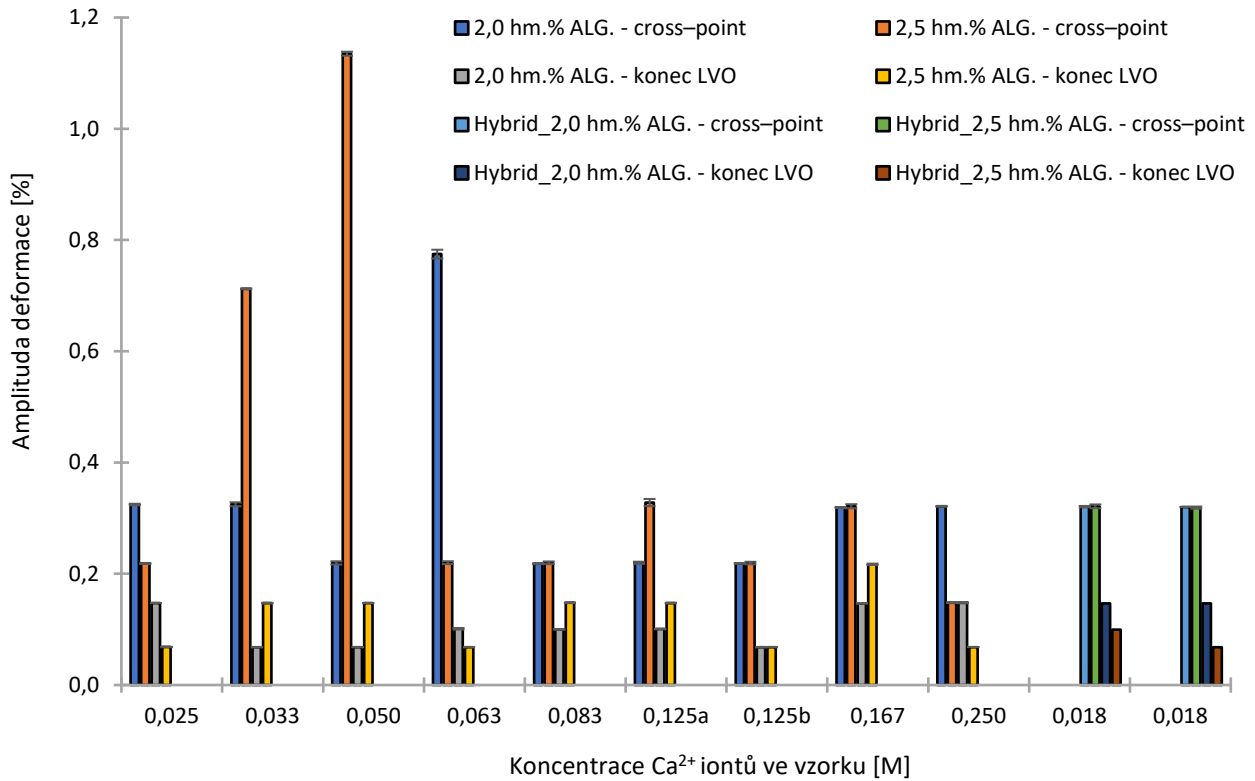


Obrázek 32: Závislost ztrátových úhlů alginátových hydrogelů na koncentraci Ca²⁺ iontů ve vzorku.

S rostoucím obsahem Ca²⁺ iontů (buď s větším poměrem nebo s vyšší koncentrací použitého roztoku síťovacího činidla CaCl₂·2H₂O) ztrátový úhel mírně klesá. Z toho tedy plyne, že jsou hydrogely celkově tužší. Více se tak projevuje jejich elastické chování, jinými slovy se více projevuje jejich podobnost s pevnými látkami. Pozn.: hodnota 0,125a z Obrázku 32 odpovídá, po přepočtu na koncentraci Ca²⁺ iontů, vzorku s 0,25 M Ca²⁺ v obj. poměru 1:1 a hodnota 0,125b odpovídá vzorku s 0,5 M Ca²⁺ v obj. poměru 3:1.

Pro porovnání klasických alginátových hydrogelů s hybridními alginátovými hydrogely lze konstatovat, že opět co do celkové tuhosti (vyjádřené v tomto případě hodnotou ztrátového úhlu), jsou hybridy na pomezí alginátových hydrogelů s 0,1 M a 0,25 M CaCl₂·2H₂O. Na Obrázku 32 se jedná o koncentrace Ca²⁺ iontů 0,025 M, 0,033 M, 0,050 M, 0,063 M, 0,083 M a 0,125 M. Jsou zde ale rozdíly o dost menší, než tomu bylo u sledování průměrných komplexních modulů (viz Obrázek 31).

Dále byly sledovány hodnoty amplitud deformací odpovídající konci LVO, resp. *cross-pointů* G' a G'' modulů alginátových hydrogelů v závislosti na měnících se koncentracích použitého síťovacího činidla $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (viz Obrázek 33). Amplituda deformace pro konec LVO, resp. *cross-point* hovoří o tom, do jaké míry je materiál schopen odolávat působení vnějšího napětí. Postup stanovení těchto hodnot je blíže popsán na str. 49.



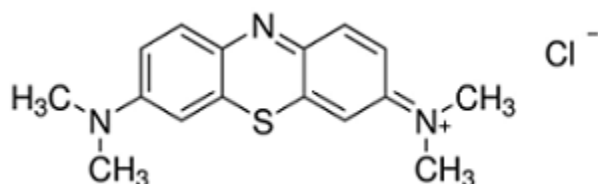
Obrázek 33: Závislost amplitud deformací alginátových hydrogelů na koncentraci Ca^{2+} iontů ve vzorku.

S rostoucím obsahem Ca^{2+} iontů (buď s větším poměrem nebo s vyšší koncentrací použitého roztoku síťovacího činidla $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) mírně klesá hodnota amplitudy deformace, při které nastává *cross-point*, a obdobně je tomu i u konce LVO. Nejvíce se trendy odlišují u hydrogelů s 0,1 M roztokem $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kde je množství Ca^{2+} iontů minimální. Pozn.: hodnota 0,125a z Obrázku 33 odpovídá, po přepočtu na koncentraci Ca^{2+} iontů, vzorku s 0,25 M Ca^{2+} v obj. poměru 1:1 a hodnota 0,125b odpovídá vzorku 0,5 M Ca^{2+} v obj. poměru 3:1.

U hybridních alginátových hydrogelů opět dochází ke *cross-pointu* i ke konci LVO srovnatelně jako u klasických hydrogelů s přidavkem 0,25 M či 0,5 M roztoku Ca^{2+} iontů. Pouze 2 hm. % alginátové hydrogely s roztokem 0,25 M Ca^{2+} iontů (v poměru 2:1 a 1:1, tedy hodnoty 0,083 M a 0,125 M) vykazují větší schopnost relaxovat při namáhání, a tím pádem i větší odolnost, než se jejich struktura začne bortit.

5.2.3 Transportní experimenty

Pro provedení transportních experimentů byl použit model tzv. *difúzního páru*, kdy tzv. *zdrojový gel* obsahoval konstantní, nenulovou koncentraci sledované sondy. Na základě předchozích zkušeností byla zvolena methylenová modř (dále jen MM). Chemická struktura MM je uvedena na Obrázku 34. Jedná se o heterocyklickou aromatickou sloučeninu, která je známá pro své široké využití zejména v oblasti biologie a chemie. Její chemický vzorec je $C_{16}H_{18}N_3S$.

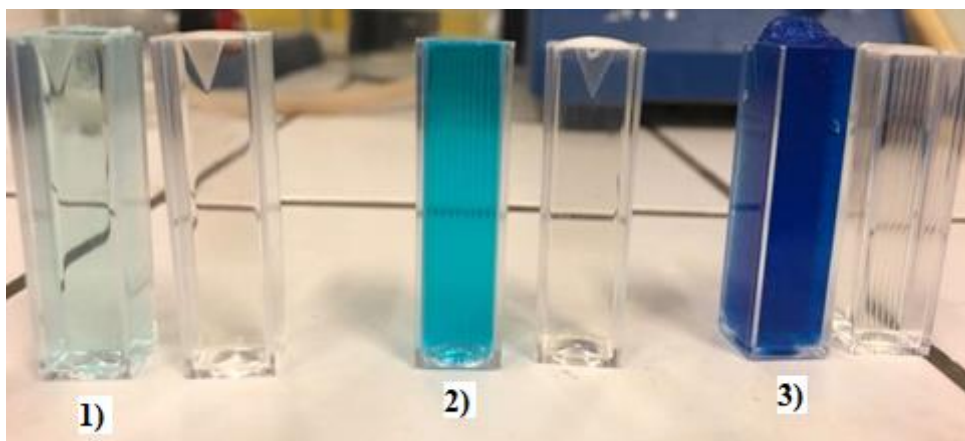


Obrázek 34: Chemická struktura methylenové modři [37].

Druhý gel difúzního páru, tzv. *akceptorní gel*, měl na začátku experimentu nulovou koncentraci tohoto barviva. Pro zahájení experimentu byly oba tyto gely spojeny a v definovaných časových úsecích pak byly měřeny absorbance MM v závislosti na vzdálenosti od rozhraní. Měření probíhalo ihned po přípravě (tedy v čase 0), po 24 hod, po 48 hod a po 120 hod. U hydrogelů na bázi gellanu byla pro všechny vzorky zvolena jednotná koncentrace gellanu, a to 2 hm. %.

Transportní experimenty byly studovány pouze na gellanových hydrogelech, jelikož se jednalo o homogenní gely v celém svém objemu. Pro studium transportních vlastností alginátových hydrogelů, které nebyly homogenní a tvořily sraženiny, by bylo potřeba se ještě více zabývat optimalizací jejich přípravy. Vzhledem k situaci v době pandemie koronaviru SARS-CoV-2 to ale nebylo možné, jelikož byla fakulta a laboratoře studentům uzavřeny. V budoucnosti se ale tohle téma nabízí jako zajímavá inspirace pro další závěrečné práce studentů.

Nejprve tedy bylo potřeba optimalizovat koncentraci MM ve zdrojovém gellanovém hydrogelu. Byly zvoleny koncentrace 0,001 g/l, 0,01 g/l a 0,05 g/l (viz Obrázek 35).

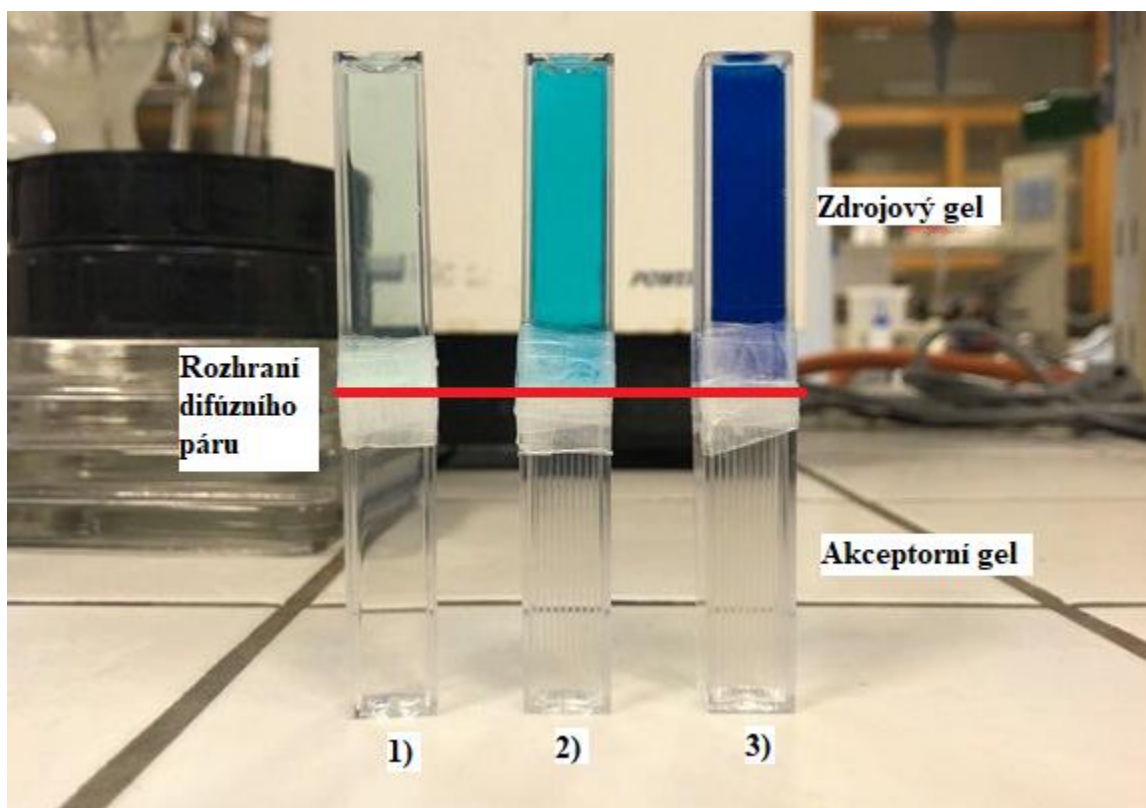


Obrázek 35: Koncentrace MM v hydrogelu na bázi gellanu v prostředí deionizované vody 1) 0,001 g/l, 2) 0,01 g/l a 3) 0,05 g/l.

Při přípravě vzorků pro měření UV-VIS bylo potřeba dbát na homogenitu gelu, neboť výskyt i sebemenších bublinek by mohl následné měření znehodnotit. Připravované gely byly pro lepší manipulaci zahřívány a následně vloženy na 1–3 min do ultrazvukové vodní lázně pro odstranění veškerých vzduchových bublin.

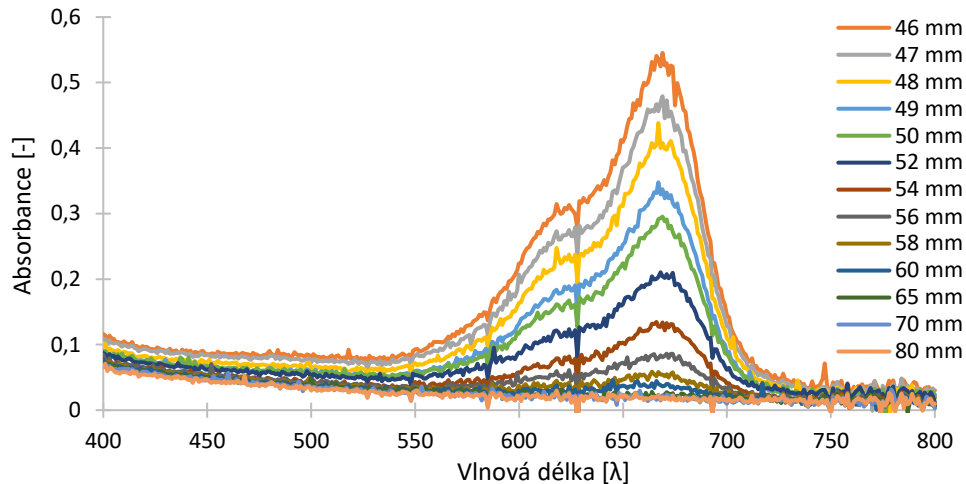
Pro vyhodnocování absorpčních spekter jednotlivých vzorků hydrogelů byla provedena korekce na tzv. *baselinu*. Například u vyhodnocování absorpčních spekter difúzního páru na bázi gellanu v prostředí deionizované vody a MM bylo nejprve proměřeno absorpční spektrum akceptorního gelu (tj. gelu bez obsahu MM) a následně pak byla v prostředí MS Excel korigována všechna získaná absorpční spektra gelů s barvivem pomocí absorpčního spektra čistého gelu bez obsahu MM (kvůli odečtení naměřené absorpce hydrogelové matrice gellanového gelu).

Absorbance difúzních párů byly měřeny v závislosti na vzdálenosti od jejich rozhraní, a proto pro zdrojové gely byly pro přehlednost zvoleny záporné hodnoty vzdáleností od tohoto rozhraní a pro gely akceptorní hodnoty kladné (viz Obrázek 36).

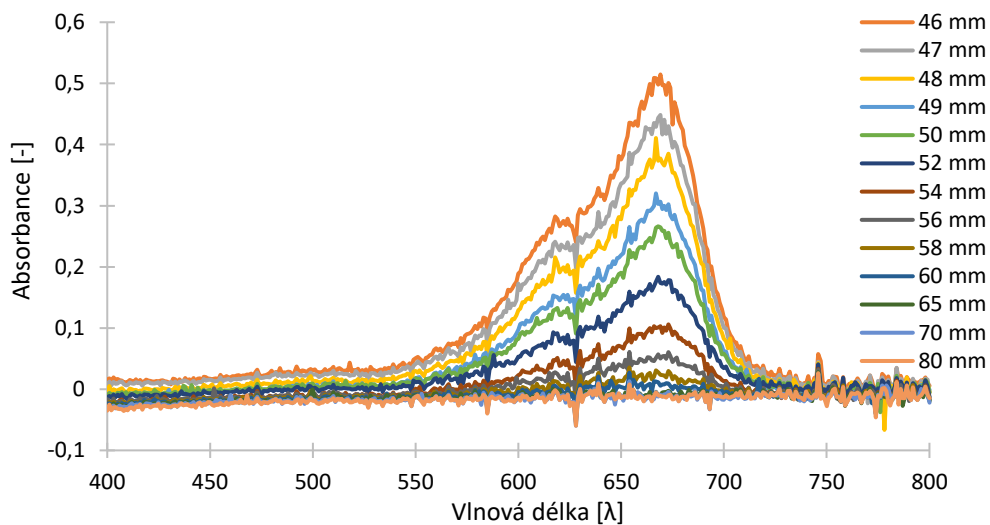


Obrázek 36: Příklad difúzních párů hydrogelů na bázi gellanu v prostředí deionizované vody a MM ve zdrojovém gelu o koncentraci 1) 0,001 g/l, 2) 0,01 g/l a 3) 0,05 g/l.

Na Obrázku 37 a 38 jsou zobrazena absorpční spektra akceptorních částí difúzního páru hydrogelu na bázi gellanu v prostředí deionizované vody s koncentrací MM 0,01 g/l po 48 hod před a po korekci na *baselinu*.

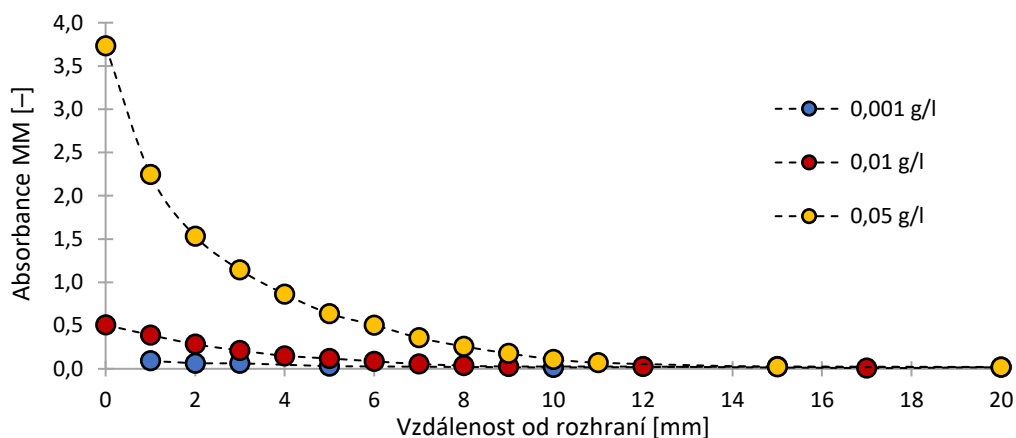


Obrázek 37: Absorpční spektrum gellanového hydrogelu v prostředí deionizované vody s 0,01 g/l MM po 48 hod před korekcí na *baselinu*.



Obrázek 38: Absorpční spektrum gellanového hydrogelu v prostředí deionizované vody s 0,01 g/l MM po 48 hod po korekcí na *baselinu*.

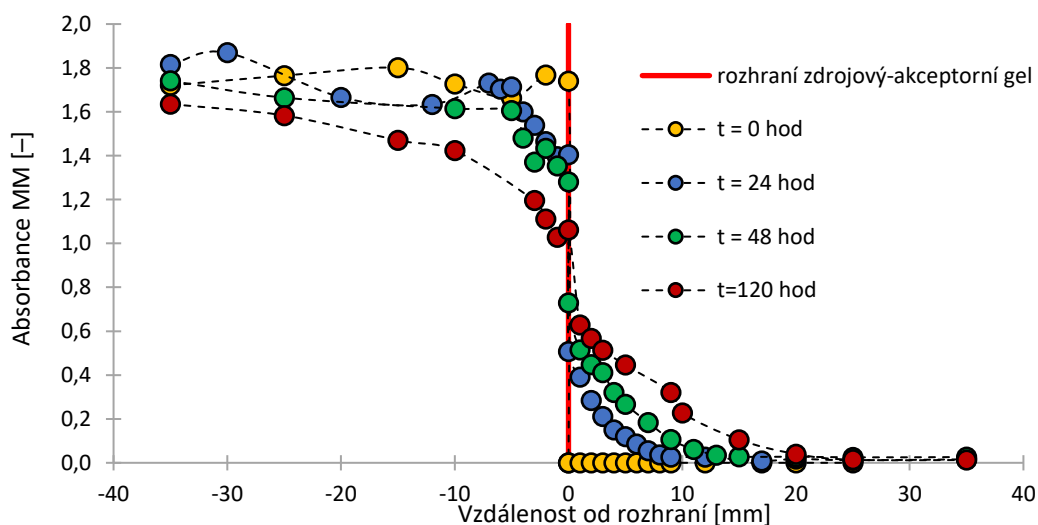
V jednotlivých vzdálenostech pak byly v prostředí MS Excel vypočteny hodnoty absorbancí v maximech naměřených spekter. Na následujícím Obrázku 39 jsou pro porovnání uvedeny jednotlivé absorpční profily MM v akceptorních gelech, a to konkrétně v gellanových hydrogelech v prostředí deionizované vody po 24hodinové difúzi.



Obrázek 39: Akceptorní část difúzního páru gellanového hydrogelu v prostředí deionizované vody s koncentrací MM 0,001 g/l, 0,01 g/l a 0,05 g/l po 24 hod.

Ze závislostí na Obrázku 39 jde dle očekávání vidět, že s rostoucí koncentrací MM ve zdrojových gelech byly detekovány i vyšší absorbance MM v gelech akceptorních. Koncentrační gradient mezi zdrojovým a akceptorním gelem je v těchto případech vyšší, což jakožto hnací síla difúze, působí na difúzní proces těchto hydrogelů efektivněji. U difúze v hydrogelech s koncentrací MM 0,001 g/l dosahovaly hodnoty absorbancí v systému velmi nízkých hodnot, které byly na spodní mezi detekovatelnosti, a tudíž bylo vyhodnocení zatíženo velkou chybou v důsledku šumu v UV-VIS spektrech. U difúze v hydrogelech s obsahem 0,05 g/l MM naopak hodnoty naměřených absorbancí dosahovaly vysokých hodnot, blízcích se horním detekčním limitům metody a např. ve zdrojových gelech na počátku experimentu nešly vyhodnotit vůbec. Z těchto důvodů byla pro další transportní experimenty vybrána koncentrace MM 0,01 g/l.

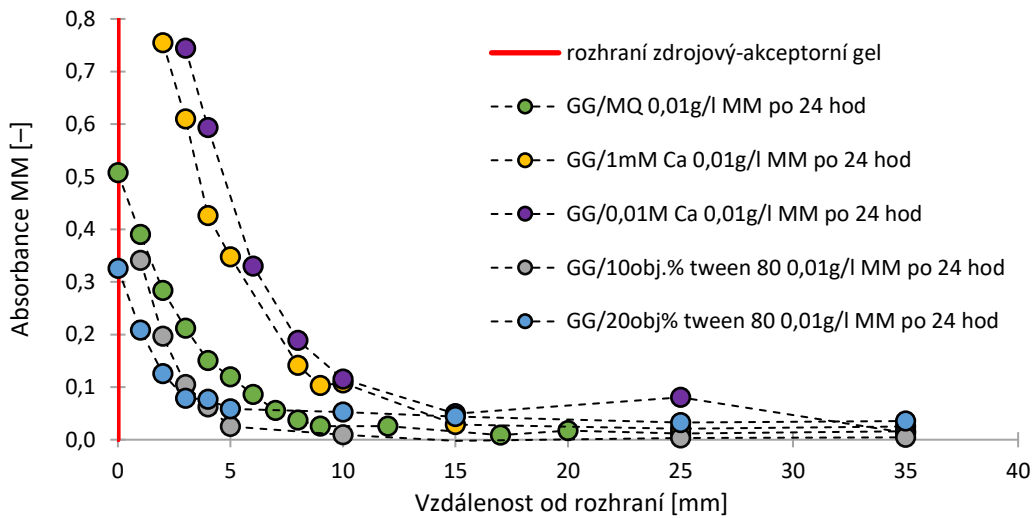
Na Obrázku 40 je zobrazen časový vývoj koncentračních profilů pro data z difúze gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a MM o koncentraci 0,01 g/l.



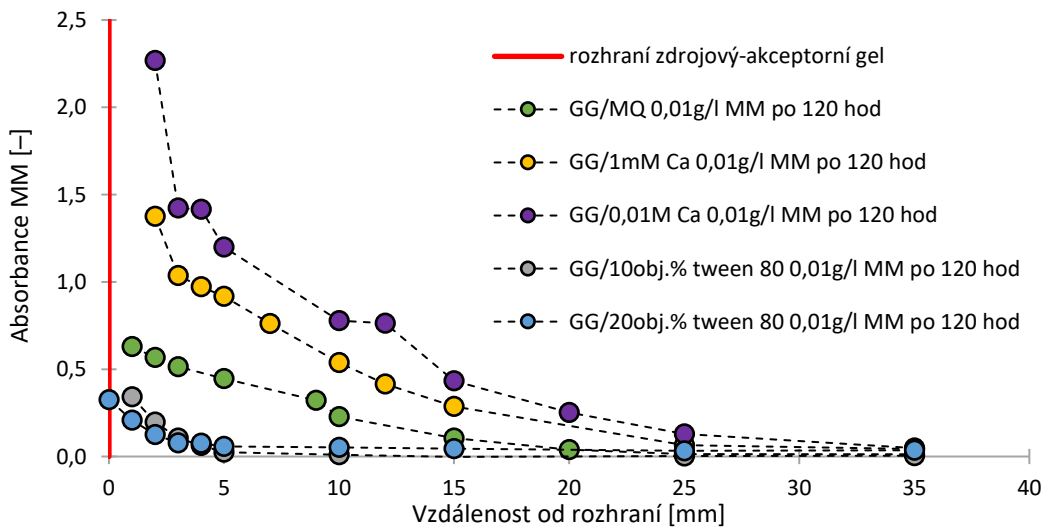
Obrázek 40: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a MM o koncentraci 0,01 g/l.

Dle závislosti z Obrázku 40 je vidět, že s rostoucím časem MM prodifundovala do prostředí hydrogelu dále. Proto jsou v případě měření absorbancí po 120 hod detekovány v akceptorním hydrogelu nejvyšší koncentrace tohoto barviva, a naopak ve zdrojovém gelu nejvíce klesá koncentrace směrem k rozhraní s akceptorním gelem.

Pro další porovnání koncentračních profilů gellanových hydrogelů jsou na Obrázku 41 a 42 zobrazeny hodnoty naměřených absorbancí akceptorních gellanových hydrogelů s MM o koncentraci 0,01 g/l pro dva vybrané časové intervaly, a to 24 hod a 120 hod, ve všech měřených prostředích (tj. v prostředí deionizované vody, v 1 mM a 0,01 M roztoku Ca^{2+} iontů a v roztoku 10 obj. % a 20 obj. % tweenu 80).



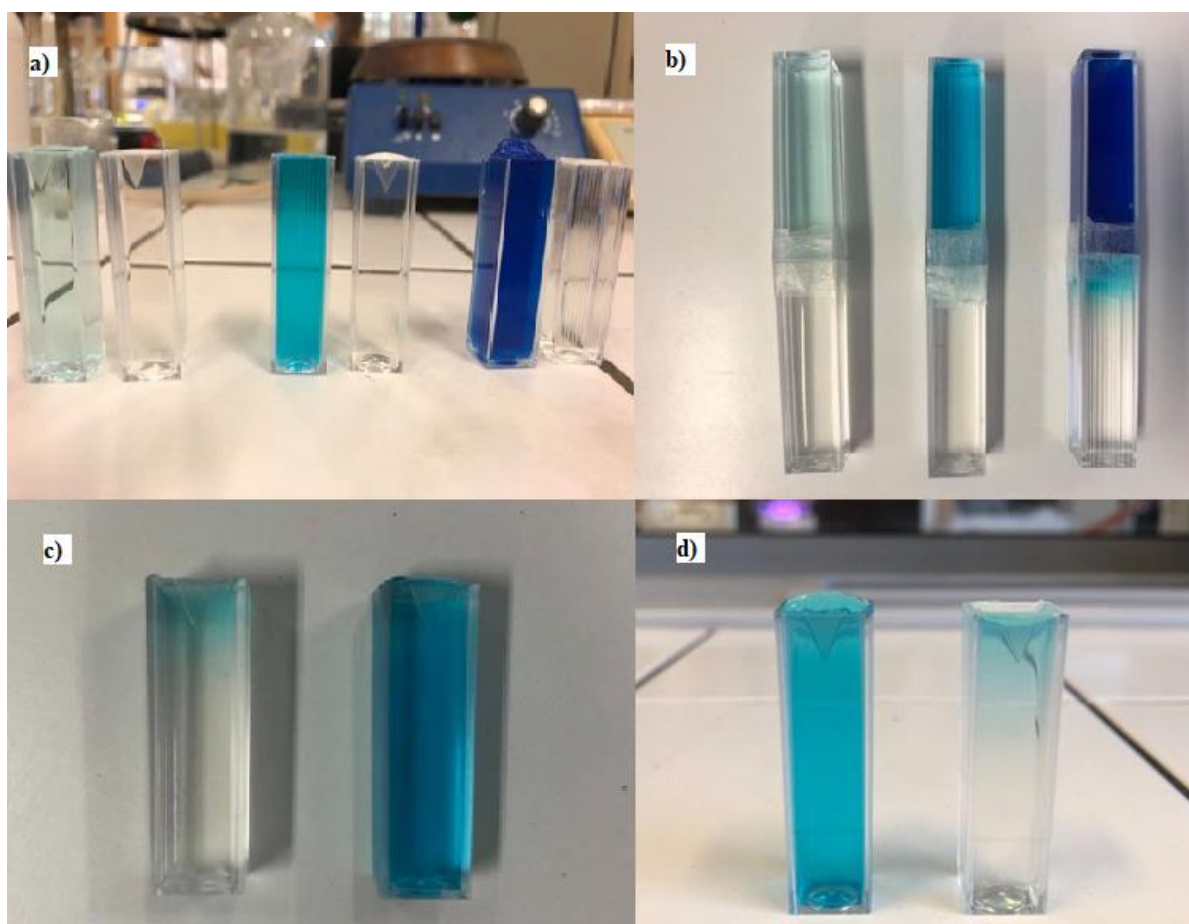
Obrázek 41: Koncentrační profily akceptorních gellanových hydrogelů s 0,01 g/l MM ve všech měřených prostředích (fyzikální i hybridní gellanové gely) po 24 hod.



Obrázek 42: Koncentrační profily akceptorních gellanových hydrogelů s 0,01 g/l MM ve všech měřených prostředích (fyzikální i hybridní gellanové gely) po 120 hod.

Čistý gellan (tj. pouze v prostředí deionizované vody a 0,01 g/l MM) dosahuje oproti gelům, které jsou zesítněné přidávkem Ca^{2+} iontů mnohem nižších hodnot absorpance (viz zelené značky na Obrázku 41 a 42). Je také evidentní, že u vzorků s rostoucí koncentrací Ca^{2+} iontů rostou i hodnoty absorpance. Je to dáno zřejmě tím, že Ca^{2+} ionty obsazují vazebná místa v prostředí vzorku gellanového hydrogelu, čímž napomáhají transportu MM tím, že omezují počty vazebných míst, kam by se MM případně mohla navázat, a proto MM může ve vzorku prodifundovat o něco dále.

U vzorků hydrogelů v prostředí roztoku tweenu 80 bylo i na základě vizuálního pozorování patrné, že s rostoucí koncentrací tweenu 80 probíhala difúze pomaleji a také, že s přibývajícím časem hodnoty naměřených absorpance podél rozhraní difúzního páru rostly výrazně pomaleji. Vzorky hydrogelů v prostředí roztoku tweenu 80 byly poněkud tužší. Tyto hydrogely tvořily hustou síť, což vedlo k tomu, že transport MM v daném prostředí byl stericky více bráněn, a proto došlo ke zpomalení difúze MM v těchto hydrogelech.



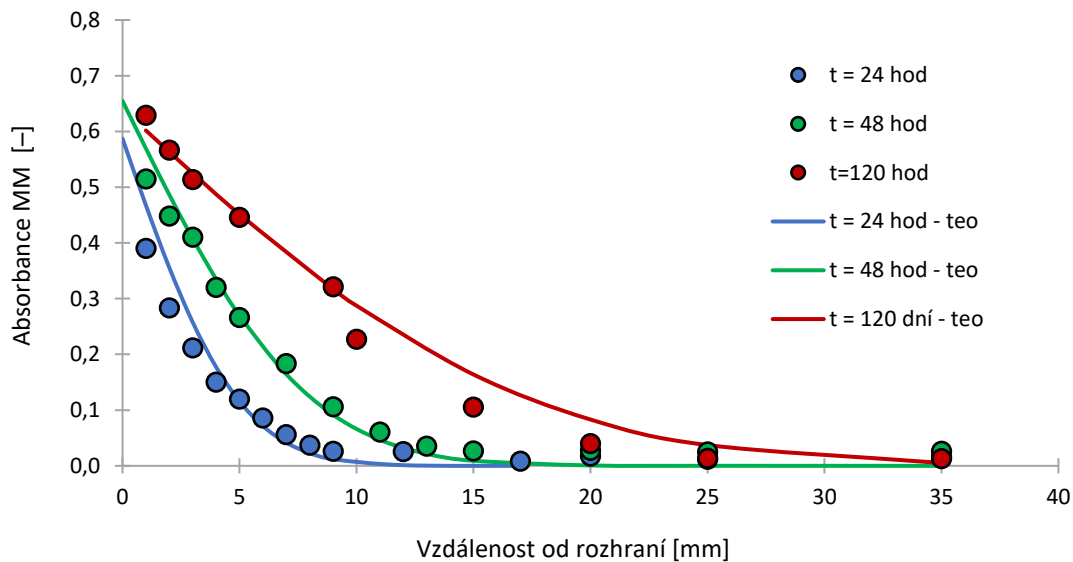
Obrázek 43: Schématické znázornění časového vývoje difúzních experimentů pro difúzi v gellanovém hydrogelu v prostředí deionizované vody a a) všechny vybrané koncentrace MM ihned po přípravě, b) všechny vybrané koncentrace MM po 24 hod, c) 0,01 g/l MM po 48 hod v detailu, d) 0,01 g/l MM po 120 hod v detailu.

Pro vyhodnocení a porovnání gelů, byly z akceptorních gelů pomocí matematického modelu (viz rovnice (11) níže [38]) určeny difúzní koeficienty (tzv. *efektivní difúzní koeficienty*), které představují difúzní koeficienty v reaktivním gelu. Jedná se tedy o hodnoty difúzních koeficientů, které navíc skrývají i vliv porosity daného prostředí gelu, a také interakce MM s reaktivními funkčními skupinami přítomnými v gelové síti.

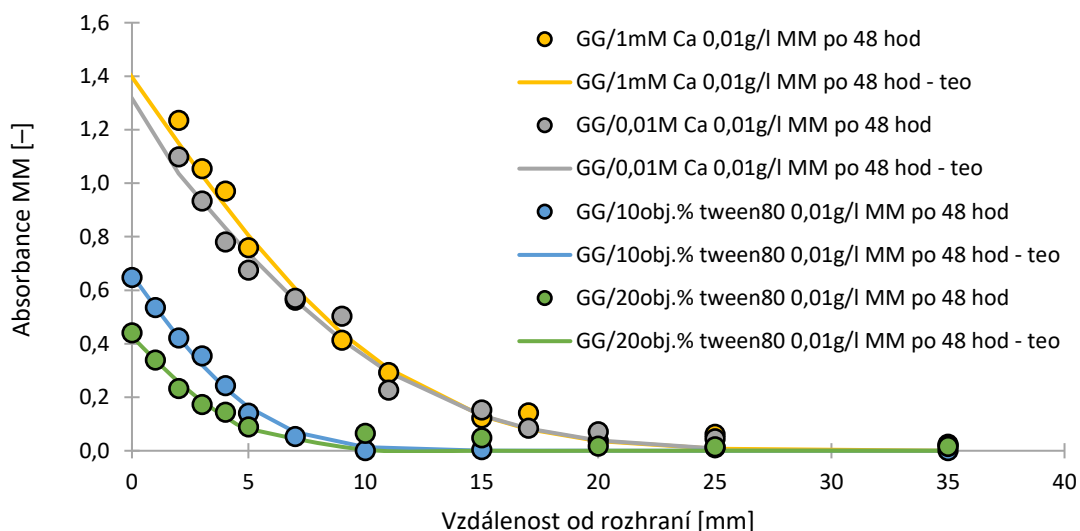
$$\left| A = A_0 \cdot \operatorname{erfc} \left(\frac{x}{4D_{eff}t} \right) \right| \quad (11)$$

A je naměřená absorbance v gelu ve vzdálenosti x od rozhraní zdrojového/přijímacího gelu, t je doba trvání experimentu, D_{eff} je efektivní difúzní koeficient, A_0 je absorbance na rozhraní zdrojového/akceptorního gelu a erfc představuje chybovou statistickou funkci v prostředí MS Excel.

Bylo potřeba určit hodnoty D_{eff} a A_0 , k čemuž byl využit doplněk MS excelu, tzv. *Řešitel*, kdy byla experimentálně naměřená data naitována teoretickým modelem, popsáným výše uvedenou rovnicí (11). Jediné proměnné, které *Řešitel* mohl měnit byly právě hodnoty D_{eff} a A_0 . Na Obrázku 44 níže je ukázka naitovaných koncentračních profilů pro difúzi v akceptorních gellanových hydrogelech v prostředí deionizované vody s MM o koncentraci 0,01 g/l.



Obrázek 44: Naitované koncentrační profily pro difúzi akceptorních gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody s 0,01 g/l MM ve všech měřených intervalech.



Obrázek 45: Nafitované koncentrační profily pro difúzi akceptorních gellanových hydrogelů s 0,01 g/l MM v prostředí 1 mM a 0,01 M roztoku Ca^{2+} iontů a 10 obj. % a 20 obj. % roztoku tweeku 80.

Pomocí fitování v prostředí MS Excel funkcí Řešitel byly pro jednotlivé hydrogely určeny efektivní difúzní koeficienty a hodnoty absorbancí na rozhraní (viz Tabulka 10). Efektivní difúzní koeficienty byly poděleny hodnotou difúzního koeficientu MM ve vodě ($6,74 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ [39]), čímž byl stanoven tzv. *relativní difúzní koeficient*. Ten uvádí, kolikrát je rychlost difúze, v tomto případě barviva MM, v příslušných gelech rychlejší (větší číslo než 1) nebo pomalejší (menší číslo než 1, v našem případě) než ve vodném prostředí.

Tabulka 10: Efektivní difúzní koeficienty, relativní difúzní koeficienty a absorbance na rozhraní pro všechny připravené hydrogely.

Gel	Počáteční koncentrace MM ve zdrojovém gelu [g/l]	$D_{eff} [\text{m}^2/\text{s}] \times 10^{-11}$	$D_{rel} [-]$	$A_0 [-]$
2 hm. % GG v MQ	0,001	$1,709 \pm 0,126$	$0,025 \pm 0,002$	$0,092 \pm 0,004$
	0,010	$1,305 \pm 0,258$	$0,019 \pm 0,004$	$0,627 \pm 0,036$
	0,050	$1,272 \pm 0,215$	$0,019 \pm 0,003$	$2,813 \pm 0,460$
2 hm. % GG v 0,001 M Ca^{2+}	0,010	$1,955 \pm 0,173$	$0,029 \pm 0,003$	$1,363 \pm 0,046$
2 hm. % GG v 0,010 M Ca^{2+}	0,010	$2,045 \pm 0,212$	$0,030 \pm 0,003$	$1,345 \pm 0,135$
2 hm. % GG v 10 obj. % tweeku 80	0,010	$0,873 \pm 0,143$	$0,013 \pm 0,002$	$0,668 \pm 0,184$
2 hm. % GG ve 20 obj. % tweeku 80	0,010	$0,831 \pm 0,171$	$0,012 \pm 0,003$	$0,439 \pm 0,017$

V Tabulce 10 jsou uvedeny hodnoty efektivních a relativních difúzních koeficientů a hodnoty absorpční (na rozhraní difúzních párů) pro všechny připravené vzorky gellanových hydrogelů. Hodnoty byly vypočtené pomocí funkce Řešitel v prostředí MS Excel (viz postup výše).

Z Tabulky 10 je evidentní, že pro vzorky gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody s koncentrací MM 0,01 g/l dosahují hodnoty efektivních difúzních koeficientů nižších hodnot, než u hydrogelů v prostředí Ca^{2+} iontů (o koncentraci MM takéž 0,01 g/l). Z čehož lze vyvozovat, že Ca^{2+} ionty napomáhají transportu MM. Při tvorbě hybridního gellanového gelu s Ca^{2+} ionty patrně dojde v důsledku interakce funkčních skupin gellanu (karboxylových) s Ca^{2+} ionty k eliminaci náboje ve struktuře tohoto gelu. MM, která je nabitá kladně, následně může strukturou hydrogelu prodívat mnohem snadněji, což zefektivňuje průběh difúze.

Obdobně je tomu u hodnot relativních difúzních koeficientů. Tyto hodnoty hovoří o tom, kolikrát je rychlost difúze rychlejší/pomalejší než ve vodném prostředí. U vzorků s Ca^{2+} ionty dosahují hodnoty relativních difúzních koeficientů vyšších hodnot, než u hydrogelů v prostředí deionizované vody což svědčí o tom, že v prostředí Ca^{2+} iontů (tím víc s rostoucí koncentrací Ca^{2+} iontů) probíhá difúze zvoleného barviva rychleji.

U vzorků hydrogelů s tweenem 80 byly pozorovány opačné trendy v rychlosti difúze MM. Vzorky gellanových hydrogelů v prostředí roztoku tweenu 80 dosahují nejnižších hodnot jak efektivních, tak i relativních difúzních koeficientů. Vzhledem k tomu, že podstata tvorby hybridního gellanového hydrogelu s tweenem 80 není založena na elektrostatických interakcích (nedochází zde k ovlivnění vnitřní nábojové hustoty gelu), lze se domnívat, že rychlost difúze MM je v těchto gelech snížena stericným bráněním transportu MM vlivem navázání tweenu 80 do struktury gellanového hydrogelu. Z tohoto důvodu zde probíhá difúze pomaleji.

5.3 Korelace výsledků z jednotlivých metod

V této kapitole jsou korelovány výsledky charakteristik připravených klasických hydrogelů (tvořených jedním typem zesíťení) a tzv. hybridních gelů (kombinace dvojího typu síťování). Stěžejní hodnoty naměřených veličin jsou uvedeny v následující Tabulce 11.

Tabulka 11: Přehled vybraných veličin popisující vlastnosti připravených hydrogelů s 0,01 g/l MM.

Typ hydrogelu	Průměrný komplexní modul [Pa]	Průměrný ztrátový úhel [°]	Relativní vlhkost [%]	D_{eff} [m^2/s] $\times 10^{-11}$
2 hm. % GG v MQ	940,87 ± 15,22	9,48 ± 0,72	98,012	1,305 ± 0,258
2 hm. % GG v 0,001 M Ca^{2+}	609,38 ± 53,81	12,77 ± 1,34	98,211	1,955 ± 0,173
2 hm. % GG v 0,010 M Ca^{2+}	4995,86 ± 196,01	9,03 ± 0,34	98,413	2,045 ± 0,212
2 hm. % GG v 10 obj. % tweenu 80	603,79 ± 56,29	14,58 ± 1,37	88,960	0,873 ± 0,143
2 hm. % GG ve 20 obj. % tweenu 80	4926,88 ± 386,81	9,39 ± 0,56	84,400	0,831 ± 0,171

V Tabulce 11 jsou uvedené hodnoty průměrných komplexních modulů, průměrných ztrátových úhlů, hodnoty relativních vlhkostí a hodnoty efektivních difúzních koeficientů. Jedná se o přehled a srovnání tzv. *makrocharakteristik*, vyjadřujících tuhost materiálu (odpovídající jejich LVO). Hodnota průměrného komplexního modulu hovoří o míře rigidity (zesíťování struktury) hydrogelu a hodnota průměrného ztrátového úhlu hovoří o makrotuhosti materiálu.

Ze srovnání hodnot průměrných komplexních modulů z Tabulky 11 je zřejmé, že u obou typů hybridních hydrogelů nejprve došlo k poklesu rigidity a teprve u vyšších koncentrací příslušných aditiv se začala projevovat větší míra zesíťení. Z hodnot průměrných ztrátových úhlů je naopak patrné, že k částečnému zvyšování tuhosti materiálů došlo pouhou změnou prostředí a další zvyšování koncentrace aditiv naopak vedla k poklesu těchto hodnot.

Rychlost difúze v gellanových hydrogelech s Ca^{2+} ionty vůči gellanovým hydrogelům v deionizované vodě vzrostla. Evidentně to souvisí s reakcemi mezi karboxyly v gellanu, které jsou zapojeny do interakce s Ca^{2+} ionty, které obsazují vazebná místa pro další navázání MM do struktury gellanu a tím pádem může MM difundovat v hydrogelu rychleji. Co se týče rychlosti difúze v gellanových hydrogelech s tweenem 80, došlo zde naopak k jejímu zpomalení. Tyto hydrogely byly více zesíťené a tween 80 zde navíc stericky bránil transportu MM a jejímu průchodu strukturou hydrogelu, což vedlo ke zpomalení rychlosti difúze MM. Závěrem lze tedy říct, že změnou aditiva v nosné síti hydrogelu, lze řídit rychlost transportu sondy.

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo studium přípravy a charakterizace hybridních hydrogelových systémů, a to zejména jejich mechanických a transportních vlastností. Pro porovnání vlastností byly připraveny jak jednoduché hydrogely s jedním typem síťování, tak hybridní hydrogely (tvořené dvojím typem zesíťení). Hydrogely byly připraveny ze dvou hlavních komponent, a to z gellanu a alginátu sodného. Jedná se totiž o hojně využívané materiály v mnoha různých odvětvích průmyslu. Gellanové hydrogely byly připraveny v prostředí deionizované vody, v roztocích dihydrátu chloridu vápenatého a roztocích tweenu 80. Alginátové hydrogely byly taktéž připraveny v roztocích dihydrátu chloridu vápenatého, a dále v prostředí akrylamidu s N,N'-metylenbisakrylamidem. V této diplomové práci byly pro bližší charakterizaci mechanických vlastností využity sušící váhy a reologická měření. Ke studiu transportních vlastností pak byly využity difúzní experimenty a UV-VIS spektrometrie.

Nejprve bylo potřeba optimalizovat přípravu jak gellanových, tak alginátových hydrogelů. Po přípravě vhodných koncentračních řad obou zástupců, byly hydrogely podrobeny měření na sušících vahách a stěžejní byla reologická měření. Pro studium transportních vlastností bylo potřeba se blíže věnovat optimalizaci přípravy roztoku methylenové modři, která byla následně využita v difúzních experimentech (jako modelová sonda) jejíž transport byl v jednotlivých gelových maticích pozorován za využití UV-VIS spektrometrie. Pro následné transportní experimenty byly vybrány, s ohledem na jejich mechanické vlastnosti proměřené viskoelastickými (resp. oscilačními) testy, zástupci pouze z řady gellanových hydrogelů.

Ze studia mechanických vlastností gellanových hydrogelů bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací gellanu rostly i tzv. komplexní moduly. V hydrogelech byl totiž větší počet vazeb, a tím pádem vzrostla i jeho rigidita (zesíťení). Při porovnání hodnot komplexních modulů fyzikálních a hybridních gellanových hydrogelů (s obsahem Ca^{2+} iontů), hybridní hydrogely s nižším obsahem Ca^{2+} iontů dosahovaly obdobných hodnot komplexních modulů, a tím pádem byly i podobně zesíťené. S vyšším přídatkem Ca^{2+} iontů komplexní moduly pro stejné koncentrace hybridních gellanových hydrogelů rostly, čímž bylo zjištěno, že Ca^{2+} ionty opravdu více síťují gellanové hydrogely a jejich struktura byla proto rigidnější. U gellanových hydrogelů v prostředí tweenu 80 docházelo k obdobným závislostem. Co se týče tzv. ztrátových úhlů, tak u gellanových hydrogelů tomu bylo tak, že s rostoucí koncentrací gellanu jeho hodnoty klesaly. Došlo totiž ke zvýšení počtu vazeb, což mělo za následek vyšší tuhost gelů. Při vyšších koncentracích Ca^{2+} iontů, již vyšší přídatky na pokles ztrátových úhlů takový vliv neměly (taktéž tomu bylo u gellanových hydrogelů v prostředí roztoku tweenu 80). Co se týče hodnot amplitud deformací pro konec oblasti LVO (resp. tzv. *cross-pointu*), s rostoucí koncentrací gellanu k ní docházelo při mírně zvyšujících se hodnotách amplitud deformací. Docházelo k tomu zřejmě proto, že s rostoucím obsahem gellanu vzrostl i počet vazeb, a tudíž tyto hydrogely dokázaly lépe odolávat vnějšímu napětí (tj. relaxovat). U gellanových hydrogelů s tweenem 80 bylo zjištěno, že tyto amplitudy dosahovaly nižších hodnot, takže hydrogely hůře odolávaly mechanickému napětí. Obdobně tomu bylo u hybridních gellanových hydrogelů v prostředí roztoku Ca^{2+} iontů.

Ze studia mechanických vlastností alginátových hydrogelů bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací Ca^{2+} iontů tzv. komplexní moduly rostly, tzn. že se v gelu nacházel větší počet vazeb a tím pádem i rigidita (tuhost) gelu vzrostla. U hybridních alginátových hydrogelů bylo zjištěno, že mají více méně vlastnosti na pomezí hydrogelů zesíťených pouze jedním typem vazeb s výrazně nižším obsahem Ca^{2+} iontů využitých jakožto síťovací činidlo. Ze závislosti tzv. ztrátových úhlů bylo zjištěno, že s rostoucím obsahem Ca^{2+} iontů ztrátové úhly mírně klesaly. Jednalo se celkově o tužší hydrogely. Více se tedy projevovало jejich elastické chování (větší podobnost s pevnými látkami). Po porovnání s hybridními alginátovými hydrogely bylo zjištěno, že hodnoty ztrátových úhlů hybridních hydrogelů dosahovaly obdobných hodnot, jako fyzikální alginátové hydrogely. Jinými slovy, že tyto gely měly podobnou tuhost. Z hodnot amplitud deformací odpovídajících konci oblasti LVO (resp. tzv. *cross-pointu*) bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací Ca^{2+} iontů jejich hodnoty klesaly. U hybridních alginátových hydrogelů opět docházelo k obdobným hodnotám jako u fyzikálních alginátových hydrogelů. Připravené alginátové hybridní hydrogely tedy potvrdily, že kombinovaná podvojná síť dosahovala obdobných vlastností, jako měly jednoduché alginátové hydrogely, a to při mnohem nižších přídavicích Ca^{2+} iontů.

Při studiu transportních vlastností 2 hm. % gellanových hydrogelů bylo zjištěno, že u hybridních hydrogelů změnou prostředí nejprve docházelo k poklesu rigidity a tuhosti, a až s následnou rostoucí koncentrací aditiv se začala projevovat větší míra zesíťení a větší tuhost materiálu. Bylo zjištěno, že difúze v hybridních gellanových hydrogelech s Ca^{2+} ionty probíhá rychleji (oproti gellanovým hydrogelům pouze ve vodném prostředí), což bylo patrně způsobeno sníženým obsahem volných karboxylových funkčních skupin gellanu v důsledku jejich interakce s Ca^{2+} ionty při tvorbě hybridní struktury, které jinak interagují s opačně nabitou methylenovou modří. Tímto tedy došlo k zefektivnění průběhu (resp. ke zvýšení rychlosti) difúze zvoleného barviva. U gellanových hydrogelů s tweenem 80 tomu bylo opačně. Došlo k ovlivnění difúze interakcemi mezi gellanem a methylenovou modří (resp. sterickým bráněním methylenové modří tweenem 80). Tyto gely byly poněkud tužší, což mohlo difúzi taktéž negativně ovlivňovat a bránit tak transportu barviva. Pro získání více informací o vzniklých typech vazeb ve strukturách těchto gelů, by bylo možné dále použít např. metodu FTIR spektroskopie nebo pokročilé metody strukturní analýzy (např. NMR nebo kombinaci chromatografie s hmotnostní spektrometrií).

Závěrem tedy bylo zjištěno, že vhodnou volbou aditiv o definovaných koncentracích v nosných strukturách hydrogelů lze docílit řízení rychlosti difúze a transportu zvolené sondy. Hlavním přínosem této diplomové práce bylo prostudování vzájemného vztahu vybraných mechanických a transportních charakteristik (komplexních modulů, ztrátových úhlů, amplitud deformací v příslušných oblastech, absorbcí a efektivních či relativních difúzních koeficientů) gellanových a alginátových hydrogelů a jejich vnitřní struktury (tvořené jedním, respektive dvojím typem zesíťení neboli hybridů). S ohledem na biokompatibilitu a příznivé vlastnosti obou studovaných materiálů (tj. gellanu a alginátu sodného) se dá předpokládat, že se bude i nadále jednat o hojně využívané materiály pro tvorbu (nejen) hybridních hydrogelů v oblasti biomedicínských aplikací.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] GULREZ, H. K. S., AL-ASSAF S. a PHILLIPS G. O. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications*. InTech, 2011, 2011-08-01. ISBN 978-953-307-268-5. DOI: 10.5772/24553.
- [2] KLÍMOVÁ, E. *Příprava a charakterizace tvorby polyelektrolytových komplexů v systému dextran-tenzid*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 50 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Michal Kalina, Ph.D.
- [3] AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*. 2015, 6(2), 105-121. ISSN 20901232. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [4] BARTOVSKÁ, L. a ŠIŠKOVÁ M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-708-0579-X.
- [5] HAQUE, A. M., KUROKAWA T. a GONG J. P. Super tough double network hydrogels and their application as biomaterials. *Polymer*. 2012, 53(9), 1805-1822. ISSN 00323861. DOI: 10.1016/j.polymer.2012.03.013.
- [6] MAGERA, L. *Příprava a charakterizace hybridních hydrogelových matic*, Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická Brno, 2019. 45 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jirí Smilek, Ph.D.
- [7] CHEN, Q., CHEN H., ZHU L. a ZHENG J. Fundamentals of double network hydrogels. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015, 3(18), 3654-3676. ISSN 2050-750-X. DOI: 10.1039/C5TB00123D.
- [8] NAKAJIMA, T. a GONG, J. P. Double-Network Hydrogels: Soft and Tough IPN. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2021, 2013-3-24, 1-6. ISBN 978-3-642-36199-9. DOI: 10.1007/978-3-642-36199-9_67-1.
- [9] MEZGER, G. T. *Applied Rheology*. 6th edition. Austria: Anton Paar, 2019. ISBN 978-3-9504016-0-8.
- [10] HEGER, R. *Sledování změny pH v systému fázově separovaných hydrogelů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 80 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D.
- [11] MALVERN INSTRUMENTS WORLDWIDE. A Basic Introduction to Rheology [online]. Worcestershire: Malvern Instruments, 2016 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: <http://cdn.technologynetworks.com/TN/Resources/PDF/WP160620BasicIntroRheology.pdf>.
- [12] MEZGER, G. T. *The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers*. 2nd revised edition. Germany: Hannover: Vincentz Network, 2006. ISBN 3-87870-174-8.

- [13] CHEN, D. N. T., WEN Qi, JANMEY A. P., CROCKER C. J. a YODH A. G. Rheology of Soft Materials. *Annual Review of Condensed Matter Physics* [online]. University of Pennsylvania, Philadelphia: University of Pennsylvania, 2010 [cit. 2020-4-09]. Dostupné z: <https://www.physics.upenn.edu/yodhsoftmattergroup/pubs/2010/annurev-conmatphys-2010.pdf>.
- [14] ESHTIAGHI, N., MARKIS F., YAP D. S., BAUDEZ CH. J. a SLATTER P. Rheological characterisation of municipal sludge: A review. *Water Research*. 2013, 47(15), 5493-5510. ISSN 00431354. DOI: 10.1016/j.watres.2013.07.001.
- [15] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [16] SOMMER, L. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [17] NĚMCOVÁ, I., RYCHLOVSKÝ P. a ČERMÁKOVÁ L. *Spektrometrické analytické metody*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0776-X.
- [18] OPEKAR, F. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1775-6.
- [19] DOJČANSKÝ, J. a LONGAUER J. *Chemické inžinierstvo II: difúzné procesy, prestup látky, absorpcia, adsorpcia, destilácia a rektifikácia...* Bratislava: Malé centrum, 1999. ISBN 80-967-0648-9.
- [20] SEDLÁČEK, P. *DIFÚZE: Stručný přehled*. Brno, 2007.
- [21] CUSSLER, E. L. *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. Third edition. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 2009. ISBN 978-0-521-87121-1.
- [22] BARTOVSKÁ, L. a ŠIŠKOVÁ M. Co je co v povrchové a koloidní chemii. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2021-5-17]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/.
- [23] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.
- [24] PALUMBO, F. S., FEDERICO S., PITARRESI G., FIORICA C. a GIAMMONA G. Gellan gum-based delivery systems of therapeutic agents and cells. *Carbohydrate Polymers*. 2020, (229). ISSN 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115430.
- [25] JOHNSON, M. Detergents: Triton X-100, Tween-20, and More. *Materials and Methods*. 2013, 3. ISSN 2329-5139. DOI: 10.13070/mm.en.3.163.
- [26] SUN, J. a TAN H. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. 2013, 6(4), 1285-1309. ISSN 1996-1944. DOI: 10.3390/ma6041285.
- [27] XIONG, B., LOSS D. R., SHIELDS D., PAWLIK T., HOCHREITER R., ZYDNEY A. L. a KUMAR M. Polyacrylamide degradation and its implications in environmental systems. *Npj Clean Water*. 2018, 1(1). ISSN 2059-7037. DOI: 10.1038/s41545-018-0016-8.

- [28] ASANO, Y., YASUDA T., TANI Y. a YAMADA H. A New Enzymatic Method of Acrylamide Production. *Agricultural and Biological Chemistry*. 2014, 46(5), 1183-1189. ISSN 0002-1369. DOI: 10.1080/00021369.1982.10865240.
- [29] Sigma-Aldrich [online]. Darmstadt, Germany: Merck, 2020 [cit. 2020-11-18].
- [30] ASWATHY, H. S., NARENDRAKUMAR U. a MANJUBALA I. Commercial hydrogels for biomedical applications. *Heliyon*. 2020, 6(4). DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03719. ISSN 24058440.
- [31] RUDZINSKI, E. W., DAVE A. M., VAISHNAV H. U., KUMBAR G. S., KULKARNI A. R. a AMINABHAVI M. T. Hydrogels as controlled release devices in agriculture. *Designed Monomers and Polymers*. 2012, 5(1), 39-65. DOI: 10.1163/156855502760151580. ISSN 1568-5551.
- [32] BATISTA, A. R., ESPITIA J. P. P., QUINTANS J. S. S., FREITAS M. M., CERQUEIRA A. M., TEIXEIRA A. J. a CARDOSO C. J. Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems. *Carbohydrate Polymers*. 2019, (vol. 205), 106-116. ISSN 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.10.006.
- [33] PEREIRA, D. R., SILVA-CORREIA J., OLIVEIRA J. M., REIS L. R., PANDIT A. a BIGGS J. M. Nanocellulose reinforced gellan-gum hydrogels as potential biological substitutes for annulus fibrosus tissue regeneration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2018, 14(3), 897-908. ISSN 15499634. DOI: 10.1016/j.nano.2017.11.011.
- [34] PACELLI, S., PAOLICELLI P., MORETTI G., PETRALITO S., DI GIACOMO S., VITALONE A. a CASADEI A. M. Gellan gum methacrylate and laponite as an innovative nanocomposite hydrogel for biomedical applications. *European Polymer Journal*. 2016, 77, 114-123. ISSN 00143057. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.02.007.
- [35] FASOLIN, H. L., PICONE C. F. S., SANTANA C. R. a CUNHA L. R. Production of hybrid gels from polysorbate and gellan gum. *Food Research International*. 2013, 54(1), 501-507. ISSN 09639969. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.026.
- [36] NAFICY, S., KAWAKAMI S., SADEGHOLVAAD S., WAKISAKA M. a SPINKS G. M. Mechanical properties of interpenetrating polymer network hydrogels based on hybrid ionically and covalently crosslinked networks. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013, 130(4), 2504-2513. ISSN 00218995. DOI: 10.1002/app.39417.
- [37] Methylene blue. In: Sigma-Aldrich [online]. Darmstadt, Germany: Merck, 2021 [cit. 2021-02-19].
Dostupné z:
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/159270?lang=en®ion=CZ&cm_sp=Insite_-_caContent_prodMerch_gruCrossEntropy_-_prodMerch10-1.

[38] SEDLÁČEK, P., SMILEK J., KALINA M., LAŠTŮVKOVÁ M. a KLUČÁKOVÁ M. Hydrogels: Invaluable experimental tool for demonstrating diffusion phenomena in physical chemistry laboratory courses [online]. 39. Journal of Materials Education, 2017, 59-90 [cit. 2021-02-01]. ISSN 0738-7989.

[39] SELIFONOV, A. A., SHAPOVAL G. O., MIKEROV A. N. a TUCHIN V. V. Determination of the Diffusion Coefficient of Methylene Blue Solutions in Dentin of a Human Tooth using Reflectance Spectroscopy and Their Antibacterial Activity during Laser Exposure. *Optics and Spectroscopy*. 2019, 126(6), 758-768. ISSN 0030-400X.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Seznam použitých zkratek

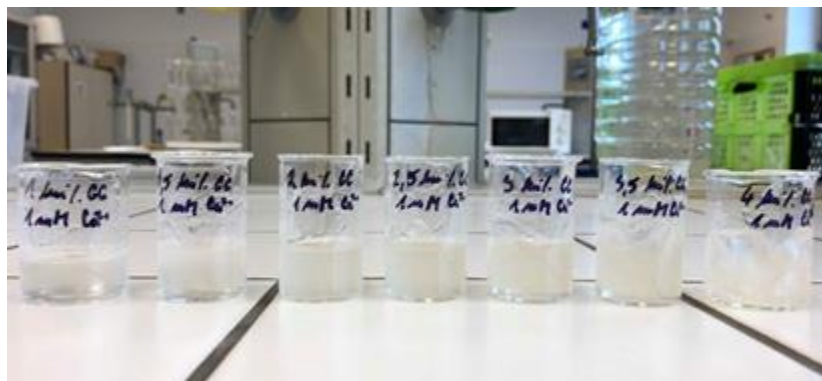
Zkratka	Vysvětlení zkratky
AA	kyselina akrylová
AAM	akrylamid
Alg	alginát sodný
GG	gellan (komerčně <i>Phytagel</i> [®] či <i>Gelrite</i> [®])
KPS	peroxodisíran draselný
LVO	lineární viskoelastická oblast
MA	methakrylát
MBAAM	N,N'–methylenbisakrylamid
MM	methylenová modř
MQ	deionizovaná voda
PAA	kyselina polyakrylová
PAAM	polyakrylamid
PDMAAM	poly(N,N'–dimethylakrylamid)
PEG	polyethylenglykol

8.2 Seznam použitých symbolů

Symbol	Popis veličiny
A	absorbance
c	látková koncentrace
C°	stupeň Celsia
D	difúzní koeficient
D_{eff}	efektivní difúzní koeficient
D_{rel}	relativní difúzní koeficient
δ	ztrátový úhel
ε	molární absorpční koeficient
$erfc$	chybová statistická funkce v prostředí MS Excel

F	síla
g	gram
G'	elastický (paměťový) modul
G''	viskózní (ztrátový) modul
h	vzdálenost mezi deskami
hm. %	hmotnostní procenta
hod	hodina
Hz	Hertz
I	prošlý zářivý tok
I_0	dopadající zářivý tok
J_i	difúzní tok složky i
l	tloušťka kyvety
M	molární koncentrace
min	minuta
ml	mililitr
mol. %	molární procenta
N	Newton
η	dynamická viskozita
nm	nanometr
obj. %	objemová procenta
ϕ	volný objem prostředí
σ	smykové napětí
t	doba trvání experimentu
T	transmitance
τ	křivolakost prostředí
γ	smyková rychlost
v	rychlost

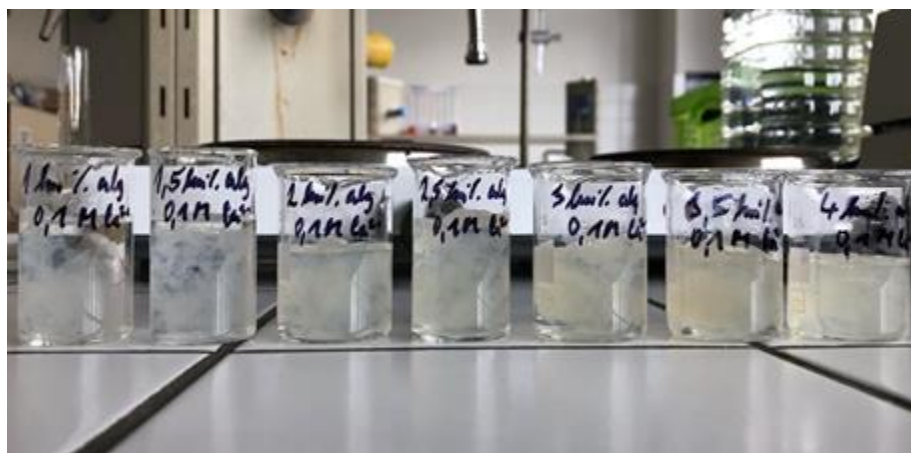
9 PŘÍLOHY



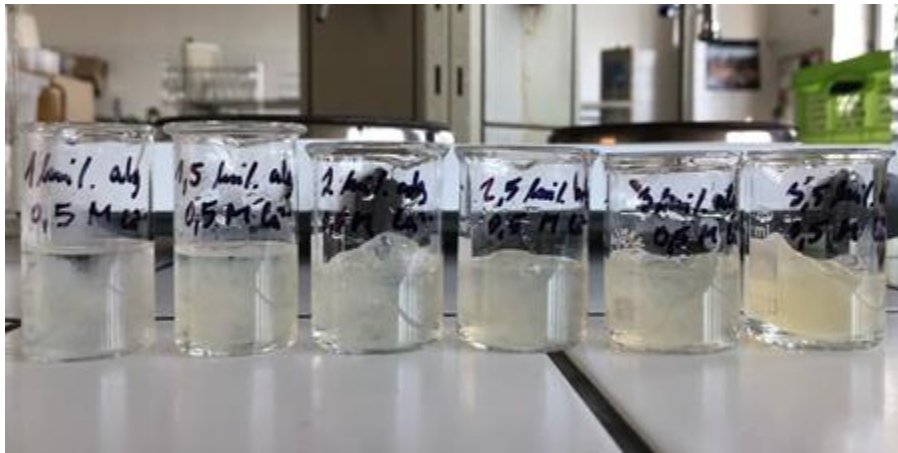
Příloha 1: Koncentrační řada gellanových hydrogelů v prostředí 0,001 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.



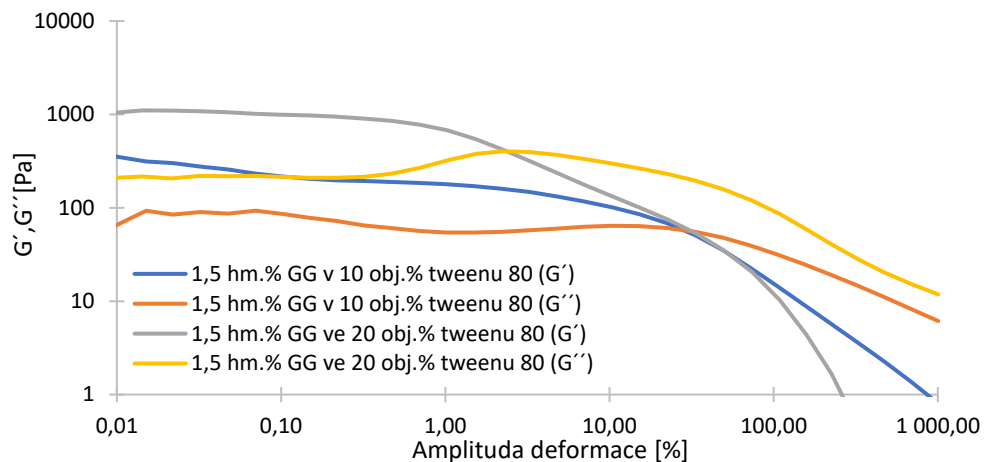
Příloha 2: Koncentrační řada gellanových hydrogelů s 10 obj. % tweenem 80.



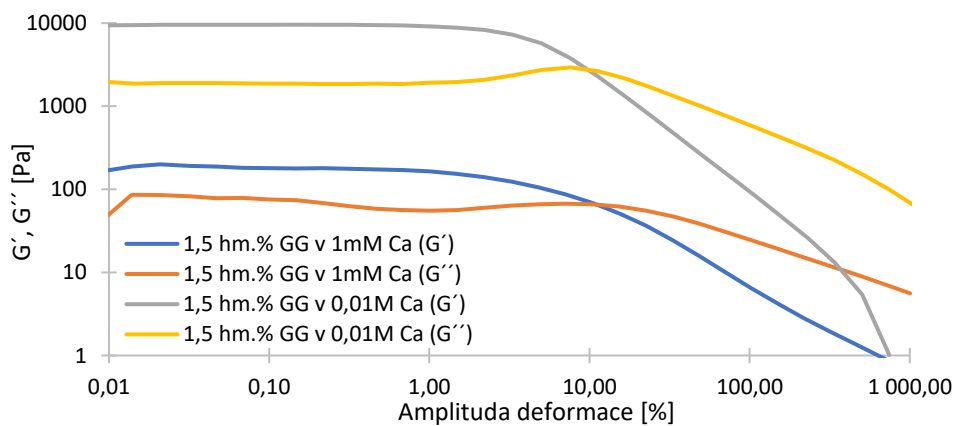
Příloha 3: Koncentrační řada alginátových hydrogelů s 0,1 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v poměru 2:1.



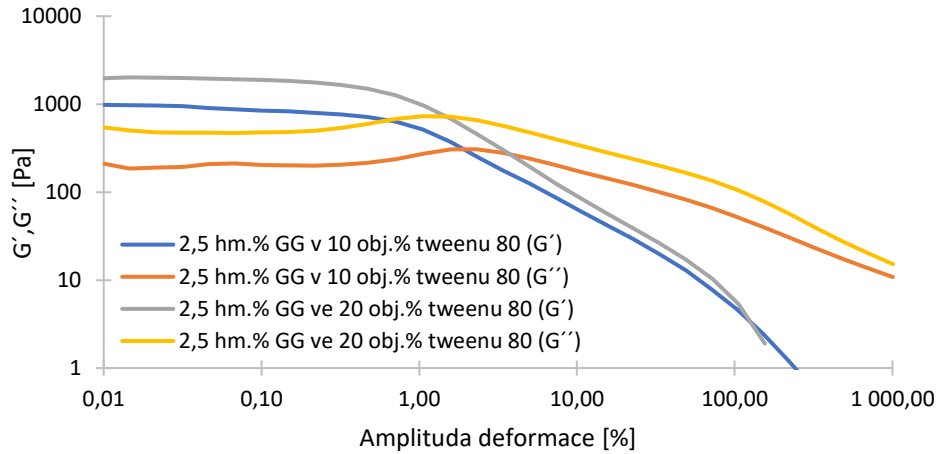
Příloha 4: Koncentrační řada alginátových hydrogelů s 0,5 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v poměru 2:1.



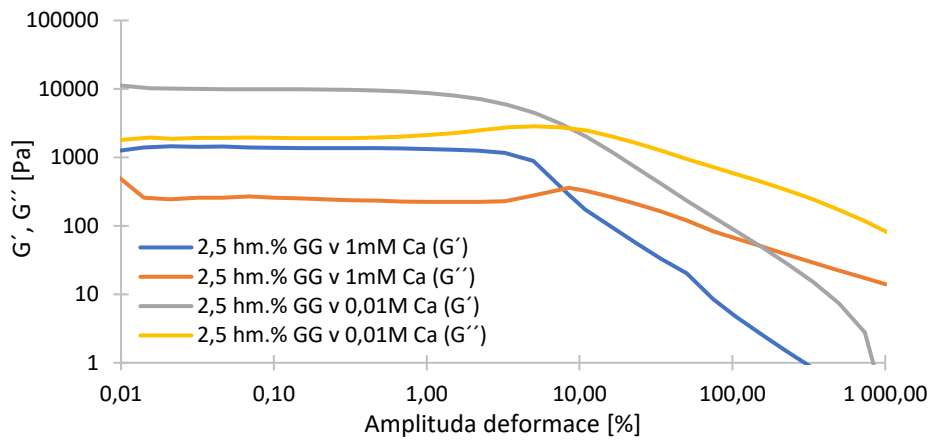
Příloha 5: Závislost elastických a viskózních modulů 1,5 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí tweenu 80 na amplitudě deformace.



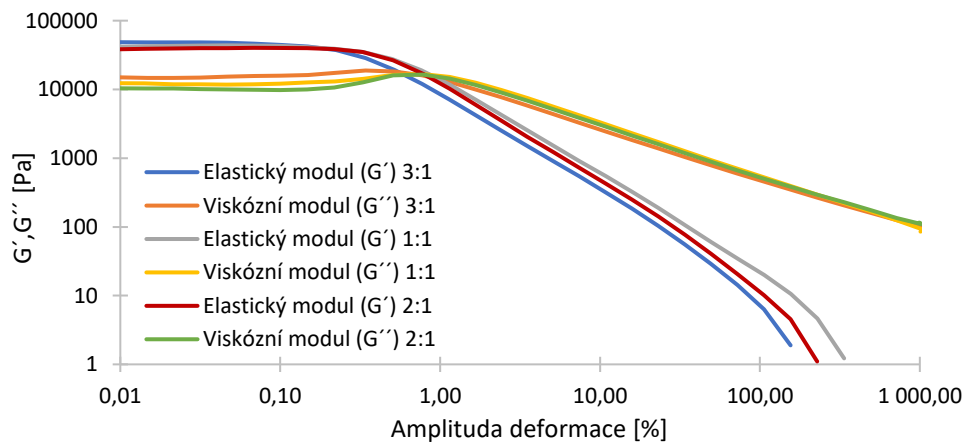
Příloha 6: Závislost elastických a viskózních modulů 1,5 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí Ca^{2+} iontů na amplitudě deformace.



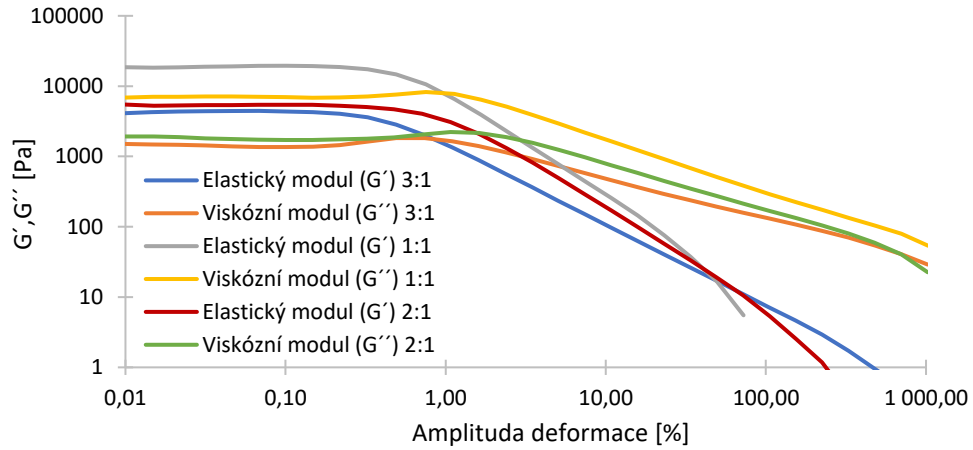
Příloha 7: Závislost elastických a viskózních modulů 2,5 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí tweenu 80 na amplitudě deformace.



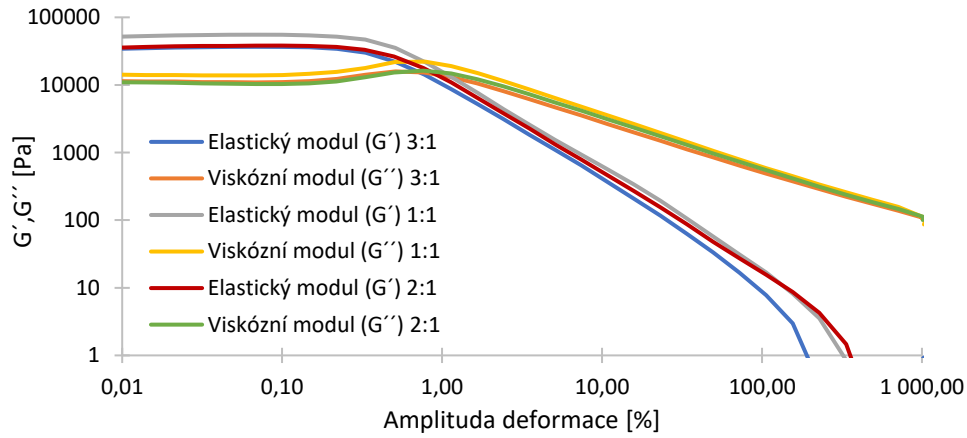
Příloha 8: Závislost elastických a viskózních modulů 2,5 hm. % gellanových hydrogelů v prostředí Ca^{2+} iontů na amplitudě deformace.



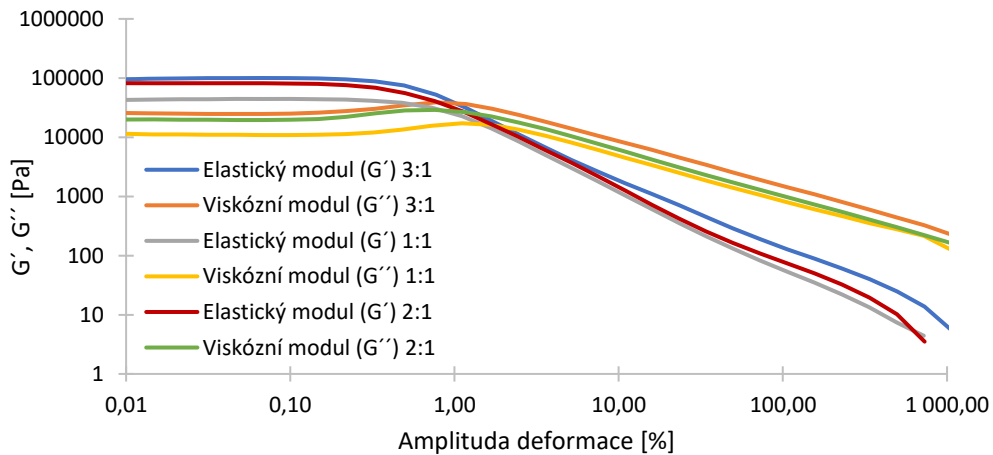
Příloha 9: Závislost elastických a viskózních modulů 2 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku $0,25M Ca^{2+}$ (v různých poměrech) na amplitudě deformace.



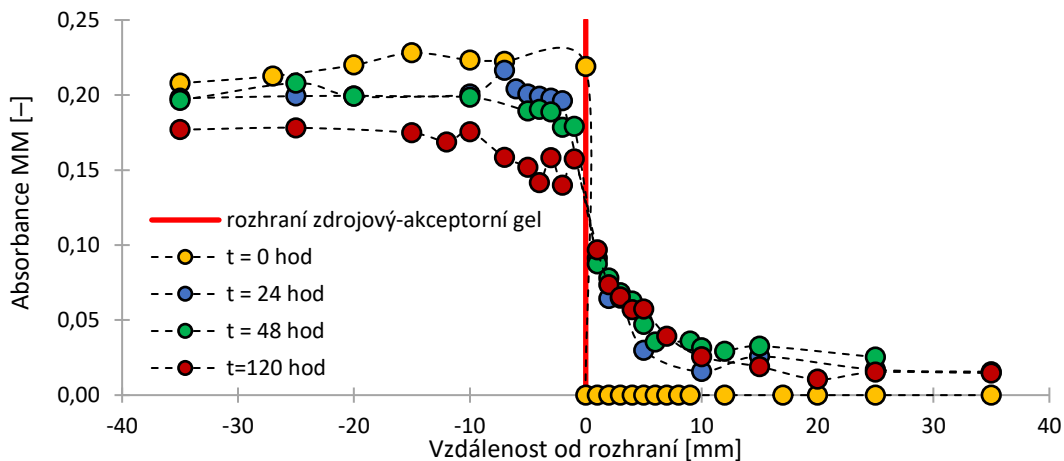
Příloha 10: Závislost elastických a viskózních modulů 2,5 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku 0,1M Ca^{2+} (v různých poměrech) na amplitudě deformace.



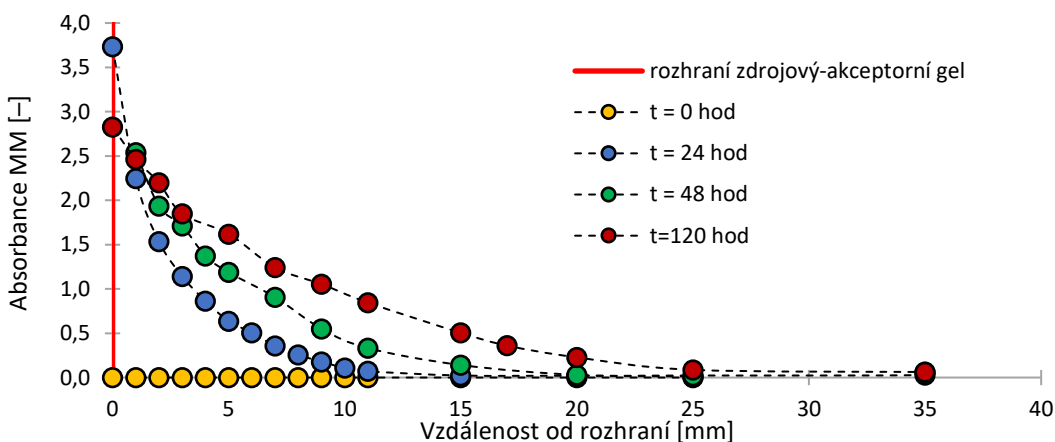
Příloha 11: Závislost elastických a viskózních modulů 2,5 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku 0,25M Ca^{2+} (v různých poměrech) na amplitudě deformace.



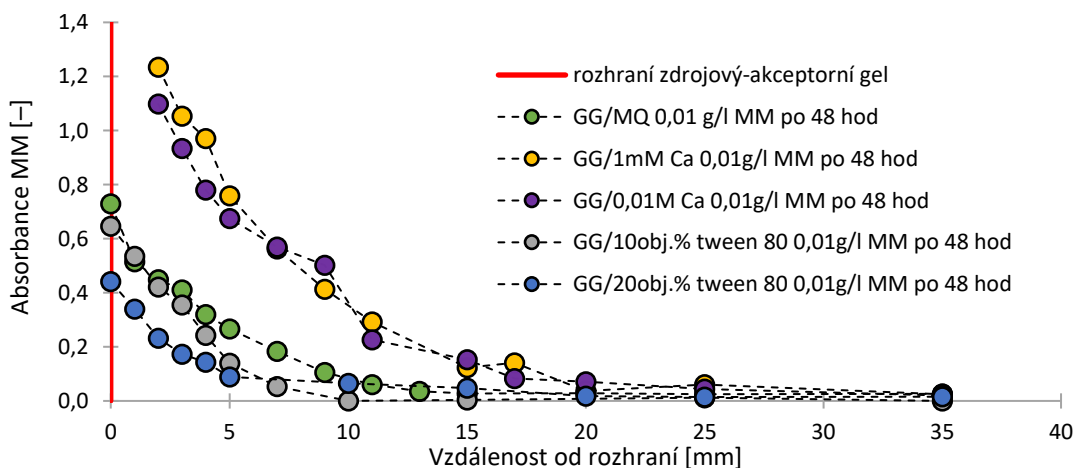
Příloha 12: Závislost elastických a viskózních modulů 2,5 hm. % alginátových hydrogelů v roztoku 0,5M Ca^{2+} (v různých poměrech) na amplitudě deformace.



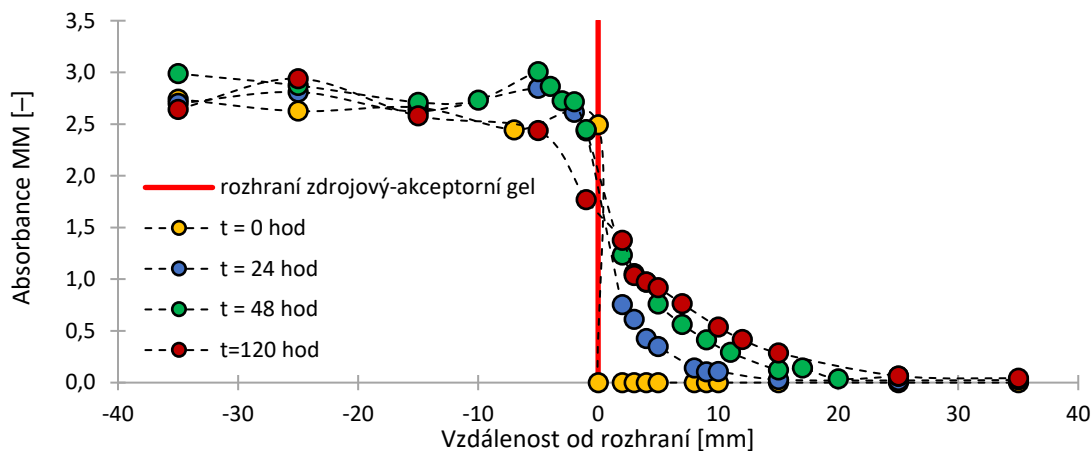
Příloha 13: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a MM o koncentraci 0,001 g/l.



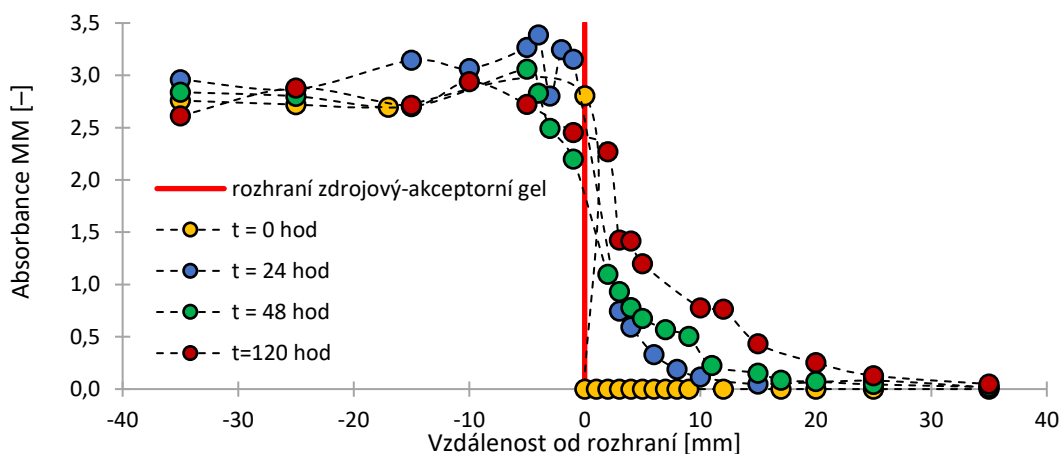
Příloha 14: Časový vývoj koncentračních profilů akceptorních gellanových hydrogelů v prostředí deionizované vody a MM o koncentraci 0,05 g/l.



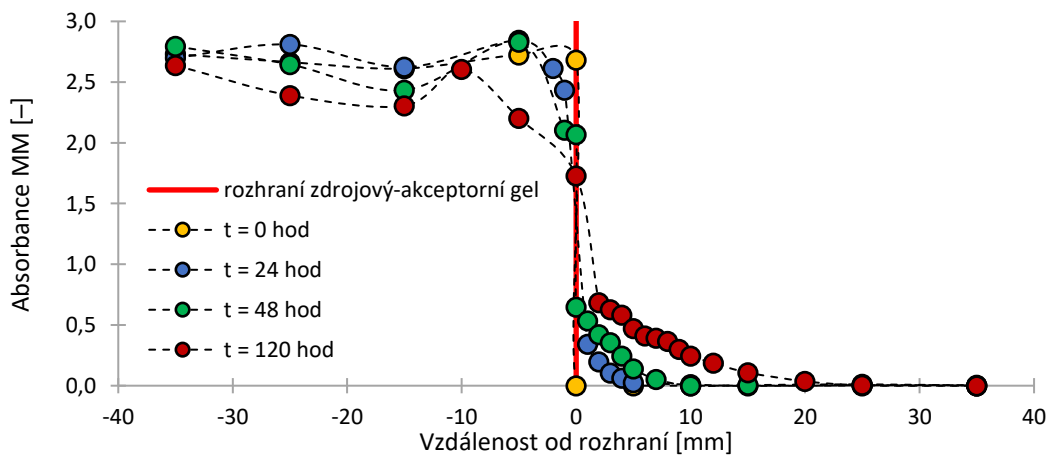
Příloha 15: Koncentrační profily akceptorních gellanových hydrogelů s MM o koncentraci 0,01 g/l ve všech měřených prostředích po 48 hod.



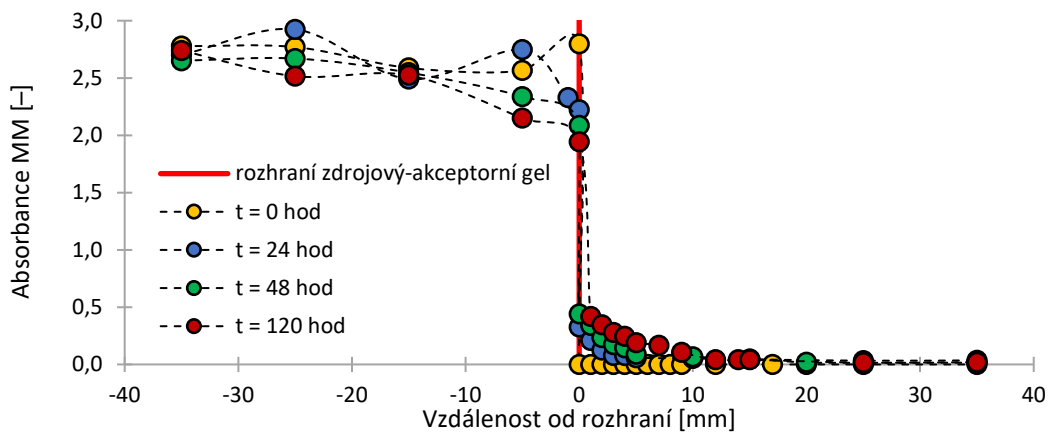
Příloha 16: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí roztoku 1 mM Ca^{2+} iontů a MM o koncentraci 0,01 g/l.



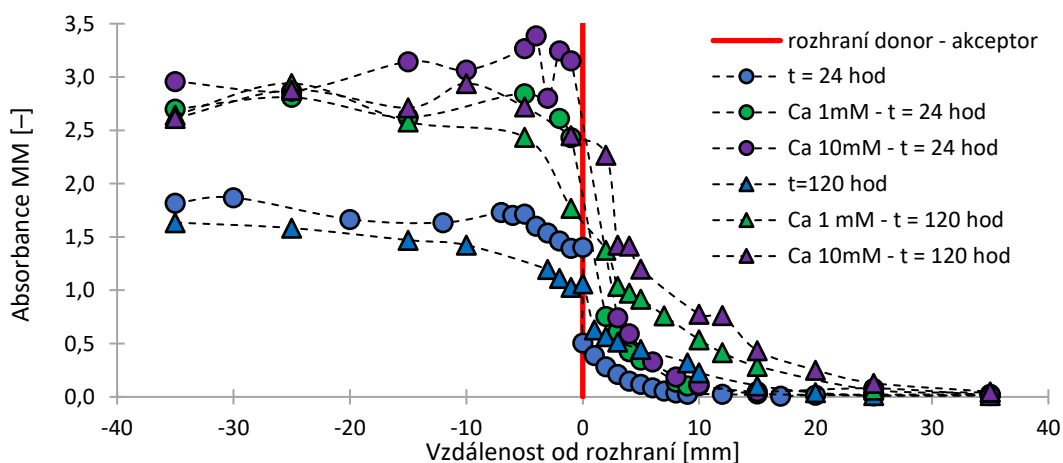
Příloha 17: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí roztoku 0,01 M Ca^{2+} iontů a MM o koncentraci 0,01 g/l.



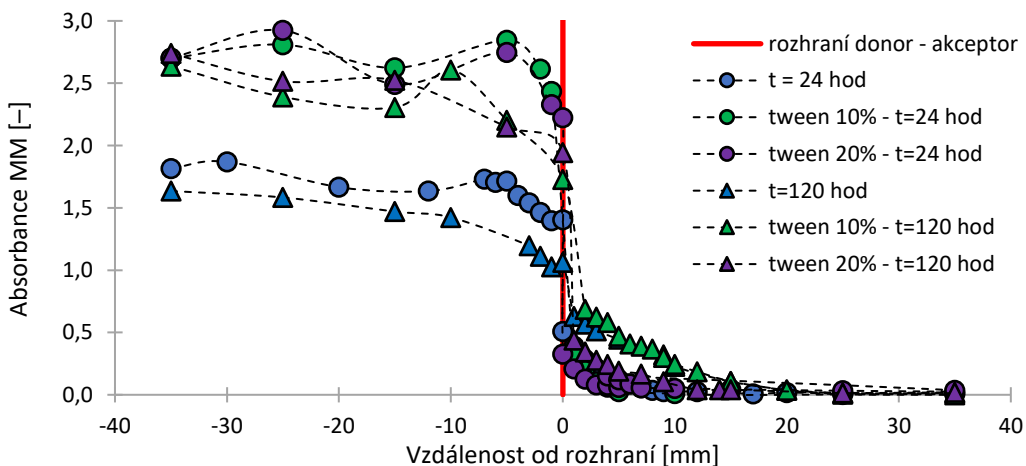
Příloha 18: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí roztoku 10 obj. % tweenu 80 a MM o koncentraci 0,01 g/l.



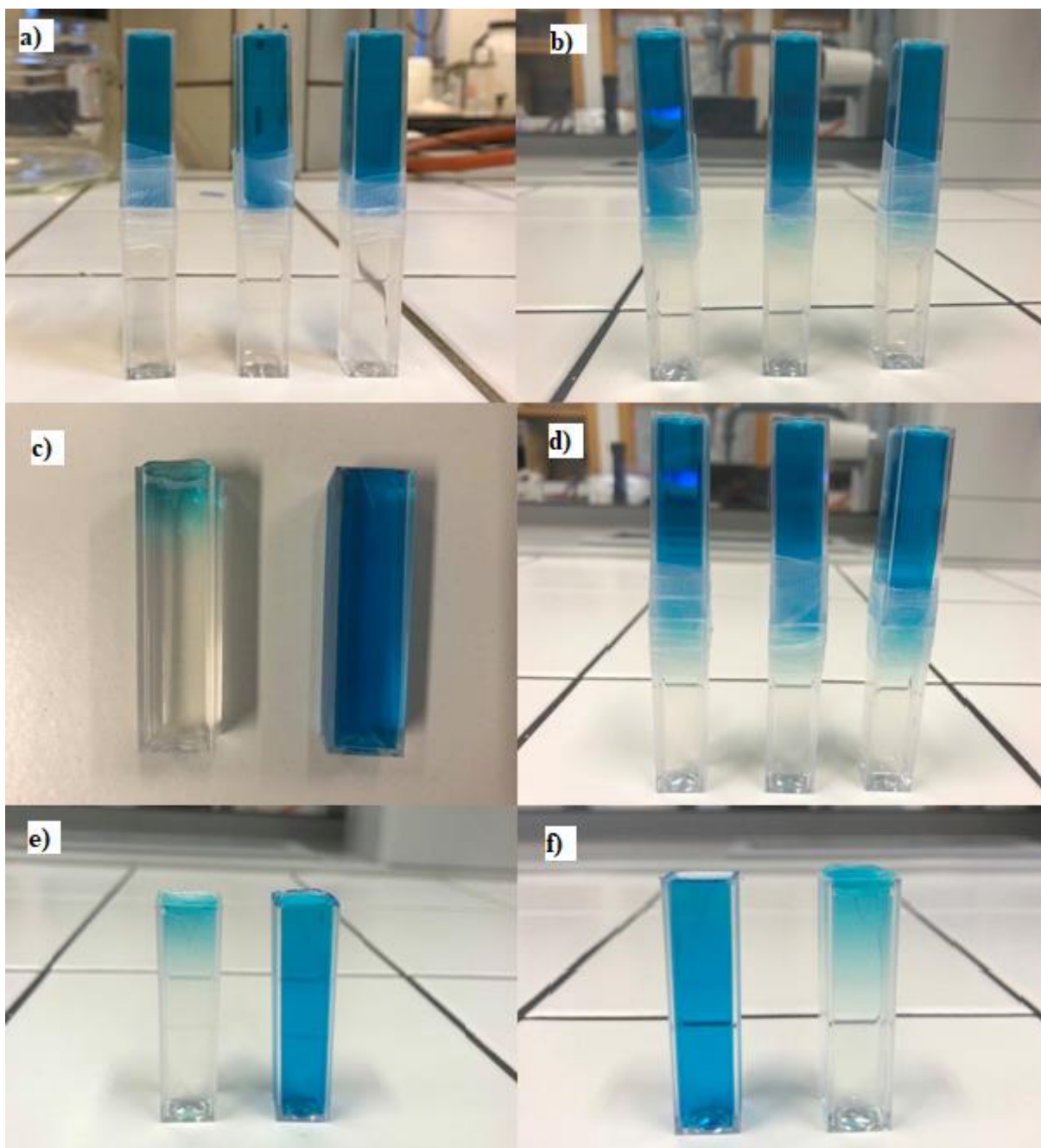
Příloha 19: Časový vývoj koncentračních profilů gellanových hydrogelů v prostředí roztoku 20 obj. % tweenu 80 a MM o koncentraci 0,01 g/l.



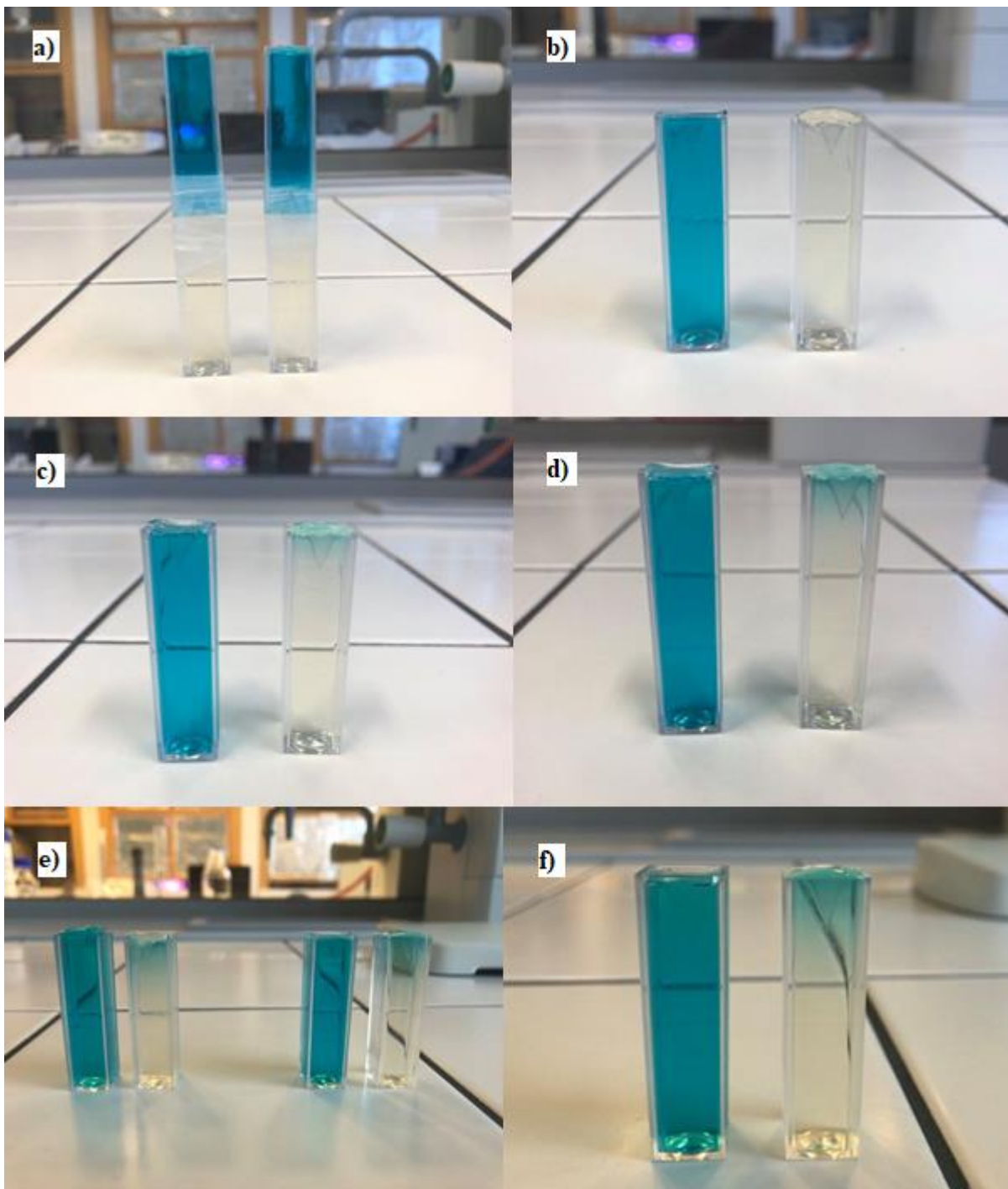
Příloha 20: Koncentrační profily gellanových hydrogelů s MM o koncentraci 0,01 g/l v prostředí 1 mM Ca²⁺ a 0,01 M Ca²⁺ po 24 a 120 hod.



Příloha 21: Koncentrační profily gellanových hydrogelů s MM o koncentraci 0,01 g/l v prostředí 10 obj. % a 20 obj. % tweenu 80 po 24 a 120 hod.



Příloha 22: Schématické znázornění časového vývoje difúzních experimentů pro difúzi v gellanovém hydrogelu v 1 mM roztoku Ca^{2+} ionů a 0,01 g/l MM a) ihned po přípravě, b) po 24 hod, c) po 24 hod v detailu, d) po 48 hod, e) po 48 hod v detailu, f) po 120 hod.



Příloha 23: Schématické znázornění časového vývoje difúzních experimentů pro difúzi v gellanovém hydrogelu v 10 obj. % roztoku tweenu 80 a 0,01 g/l MM a) ihned po přípravě, b) ihned po přípravě v detailu, c) po 24 hod, d) po 48 hod, e) po 120 hod, f) po 120 hod v detailu.