



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VYUŽITÍ DLS MIKROREOLOGIE KE STUDIU PRŮBĚHU GELACE POLYMERU

DLS MICRORHEOLOGY TO STUDY GELATION OF POLYMER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

DENISA PÍŠOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. ZUZANA HNYLUCHOVÁ

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0893/2014** Akademický rok: **2014/2015**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Denisa Píšová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin (B2901)
Studijní obor: Biotechnologie (2810R001)
Vedoucí práce **Ing. Zuzana Hnylučová**
Konzultanti:

Název bakalářské práce:

Využití DLS mikrorheologie ke studiu průběhu gelace polymeru

Zadání bakalářské práce:

- Studium mikrorheologických technik se zaměřením na DLS mikrorheologii
- Rešerše týkající se gelace polymerů, měřících technik určených k tomuto účelu se zaměřením na mikrorheologické techniky a DLS mikrorheologii
- Experimentální stanovení procesu gelace na modelovém polymeru pomocí DLS mikrorheologie
- Shodnocení vhodnosti použité metody k danému účelu

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Denisa Píšová
Student(ka)

Ing. Zuzana Hnylučová
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Cieľom tejto bakalárskej práce je experimentálne sledovanie procesu gelácie na modelovom polymére pomocou DLS mikrorheológie. Modelovým polymérom bola zvolená agaróza a pre mikrorheologické meranie boli používané polystyrénové častice. Pomocou metódy dynamického rozptylu svetla boli skúmané roztoky agarózy o rôznych hmotnostných koncentráciách. Z nameraných dát boli vytvorené grafy závislosti MSD na čase, ktoré boli porovnávané na základe MSD kriviek a vynesných chybových úsečiek. Porovnávané boli taktiež hodnoty difúzných koeficientov pre všetky roztoky a každú teplotu.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the study of gelation process on model polymer through DLS microrheology. As the model polymer was used agarose and for microrheological measurement were used polystyrene particles. Agarose samples of various mass concentrations were studied through dynamic light scattering. Measured data were used to create graphs of MSD against time which were compared to MSD curves and error bars. The values of diffusion coefficients for all samples and each temperature were also compared.

KLÚČOVÉ SLOVA:

DLS mikrorheológia, agaróza, MSD krivky, difúzny koeficient

KEY WORDS:

DLS microrheology, agarose, MSD line, diffusion coefficient

PÍŠOVÁ, D. *Využití DLS mikroeologie ke studiu průběhu gelace polymeru*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 35 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Zuzana Hnylučová.

PREHLÁSENIE:

Prehlasujem, že som túto bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som citovala správne a úplne. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
podpis študenta

Podakovanie:

Rada by som poďakovala vedúcej mojej bakalárskej práce Ing. Zuzaně Hnylučové za odborný dohľad, ochotnú spoluprácu, odborné rady, pripomienky a čas, ktoré mi pri vypracovaní tejto bakalárskej práce venovala.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČASŤ.....	7
2.1	Mikroreológia	7
2.2	Aktívna a pasívna mikroreológia	7
2.2.1	Jednočasticová mikroreológia	8
2.2.2	Dvojčasticová mikroreológia	9
2.2.3	Dynamický rozptyl svetla	10
2.3	Výhody a nevýhody DLS mikroreológie	11
2.4	Gély.....	12
2.5	Agaróza	13
2.5.1	Štruktúra.....	13
2.5.2	Vlastnosti.....	14
3	SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	15
4	MATERIÁLY A METÓDY	17
4.1	Materiály	17
4.2	Vybavenie	17
4.3	Výber vzoriek pre mikroreologické meranie	17
4.4	Príprava vzoriek	17
5	MERANIE A VYHODNOTENIE DÁT.....	18
5.1	Meranie zeta potenciálu a veľkosti častíc	18
5.2	Meranie mikroreológie.....	18
6	VÝSLEDKY A DISKUSIE	19
7	ZÁVER.....	31
8	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	32
9	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV	35
9.1	Použité skratky	35
9.2	Použité symboly.....	35

1 ÚVOD

Mikroreológia je termín, ktorý nepopisuje jednu hlavnú techniku, ale skôr súbor prístupov, ktoré sa snažia prekonať niektoré vážne reologické obmedzenia, ktoré nie sme schopný touto metódou prekonať. Mikroreologické techniky sa delia na aktívne metódy a pasívne metódy. Aktívne metódy vyžadujú manipuláciu častíc pôsobením vonkajších síl, čím sa táto technika stáva zložitejšou. Pasívne metódy sú založené na teplotných fluktuáciách vložených častíc, teda na sledovaní ich Brownovho pohybu. Do pasívnych techník sa zaraďuje dynamický rozptyl svetla (DLS), ktorý sa používa nie len na zistenie viskozity, ale aj modulu pružnosti viskoelastických materiálov. Táto metóda vznikla už na začiatku minulého storočia na základe pozorovania významného javu pri styku svetla a nehomogénnej látky, kedy dochádzalo k rozptylu svetla. DLS si získala široké pole pôsobnosti. K najčastejšie študovaným materiálom pomocou DLS mikroreológie patria gély, polymérne zmesi a koloidné suspenzie.

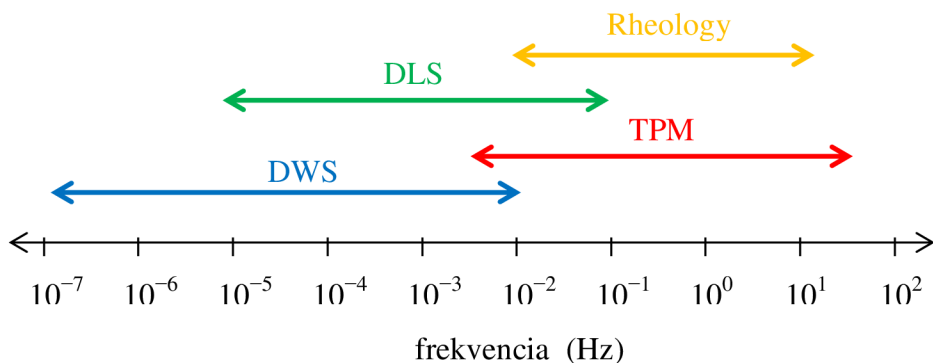
Mikroreológia je obzvlášť atraktívna pre štúdium gelácie, proces, vyznačujúci sa mimoriadne malými počiatočnými modulmi a krehkými štruktúrami, ktoré sa v klasickom reometri ľahko deformujú.

Mikroreológia kombinuje vedomosti a techniky z mnohých vedných odborov, vrátane chémie, fyziky, štatistiky, mikroskopie a analýzy obrazu.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Mikroreológia

Mikroreológia je nová technika, ktorá má potenciál na prekonanie určitých obmedzení klasickej reológie, ako je neschopnosť merania nehomogénnych materiálov a nutnosť merania vzoriek o vyšších objemoch (v ráde mililitrov) s obmedzeným rozsahom frekvencie (do 10 Hz). Skúma javy podieľajúce sa na skladovaní a rozptýlení mechanickej energie v „mäkkých“ materiáloch na úrovni mikrometrov alebo submikrometrov. Používa sa k sondovaniu priestorových mechanických vlastností prostredníctvom vložených častíc v komplexných tekutinách. Pohyb častice, ktorý sa vzťahuje k výslednej deformácii je zaznamenaný pomocou optických techník, ako sú napríklad techniky založené na rozptyle svetla alebo moderná mikroskopia s vysokým rozlíšením. Tento pohyb je kvantitatívne analyzovaný z hľadiska miestnych viskoelastických vlastností okolitého prostredia. Častice môžu byť buď vložené, alebo môžu byť súčasťou skutočného systému. Podľa spôsobu pohybu týchto častíc rozlišujeme pasívnu a aktívnu mikroreológiu. Analýzou pohybu častíc je možné získať kvantitatívne informácie o reologických vlastnostiach komplexných tekutín, ako sú emulzie a gély. Okrem toho sa zistilo, že mikroreologické údaje môžu byť vo výbornej zhode s mechanickými makroreologickými meraniami [1, 2, 3].



Obrázok 1: Rozsah frekvencií vhodných pre niektoré mikroreologické techniky [3].

2.2 Aktívna a pasívna mikroreológia

Mikroreologické techniky sú zvyčajne rozdelené do dvoch hlavných kategórií: aktívnych techník, ktoré vyžadujú manipuláciu s časticami pôsobením vonkajších síl, napríklad magnetické pole, elektrické pole alebo optická pinzeta a pasívnych techník, ktoré sú založené na teplotných fluktuáciách vložených častíc. Pasívne techniky využívajú iba Brownovho pohybu začlenenenej častice a sú zvyčajne vhodnejšie pre meranie vzoriek s nízkou viskozitou, zatiaľ čo aktívne techniky môžu rozšíriť merateľný rozsah pre vzorky obsahujúce značné množstvo flexibility. Medzi najbežnejšie používané pasívne metódy patrí jednočasticová mikroreológia (particle tracking microrheology PTM), ktorá je tiež známa ako videomikroreológia (video based particle tracking microrheology VBPTM), dvojčasticová mikroreológia (two particle tracking microrheology TPM), dynamický rozptyl svetla

(dynamic light scattering DLS) a difúzna vlnová spektrometria (diffusing wave spectroscopy DWS) [1].

2.2.1 Jednočasticová mikroreológia

Hlavnou myšlienkou jednočasticovej mikroreológie je sledovanie trajektórie častíc, využitím Brownovho tepelného pohybu, vložených do systému pomocou videomikroreológie alebo iných optických techník. Môže byť sledovaných až tisíce častíc o rôznych veľkostiach. Trajektórie častíc, ktoré môže byť buď voľné alebo na medzifázovom rozhraní, umožňujú výpočet stredného kvadratického posunu ($MSD = \langle \Delta r^2(\tau) \rangle$), ktorý je definovaný ako:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = \langle (r \cdot (t + \tau) - r \cdot (t))^2 \rangle \quad (1)$$

kde r je d -rozmerná pozícia častice, τ je časový interval a zátvorky znamenajú, že sa jedná o priemernú hodnotu v čase. MSD súvisí s difúznym koeficientom translačného pohybu D :

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 2 \cdot d \cdot D \cdot \tau^\alpha \quad (2)$$

kde α je difúzny koeficient.

V prípade difúzie v čisto viskóznom materiáli (voda, glycerol) sa hodnota $\alpha = 1$. Viskozita okolitého prostredia častice je potom daná Stokes – Einsteinovou rovnicou:

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot a \cdot \eta} \quad (3)$$

kde a je polomer častice, η je koeficient viskozity a k_B je Boltzmannova konštanta.

Pohyb mikročastíc u vysoko viskózných materiáloch nejde jednoducho interpretovať za predpokladu, že $\alpha < 1$. Pokiaľ však vezmeme do úvahy viskoelastický Maxwellov model stredného kvadratického posunu, prijme rovnica tvar:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = \frac{\sigma}{E} + \frac{\sigma \cdot \tau}{\eta} \quad (4)$$

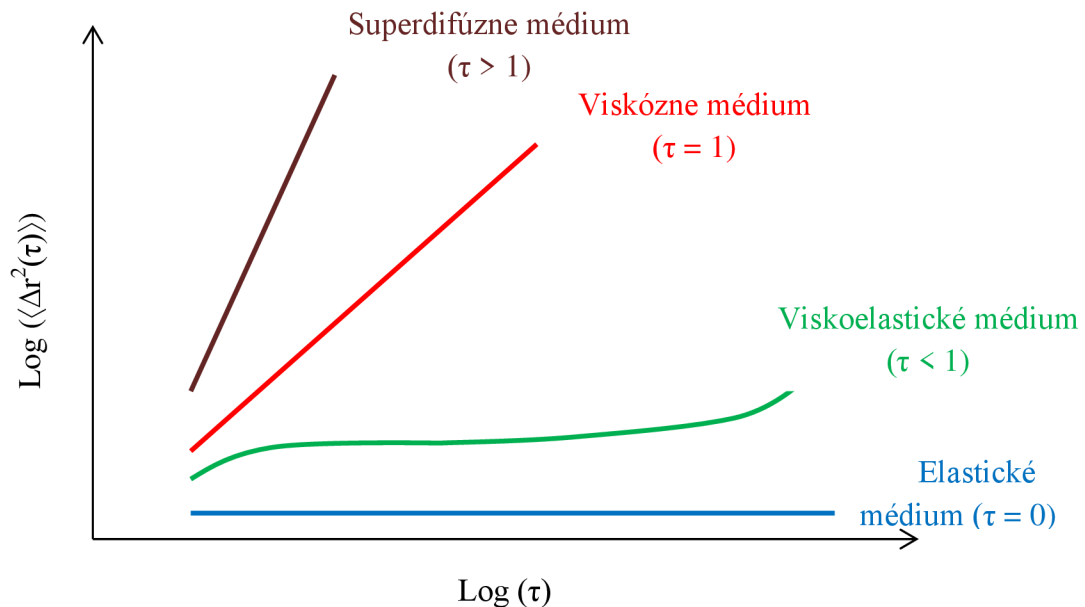
kde σ je napätie, E je modul pružnosti a všetky veličiny sa vzťahujú na čisté šmykové deformácie.

Anomálna difúzia, kedy $\alpha < 1$, bola použitá v mnohých biologických systémoch, v ktorých bol Brownov pohyb častice obmedzený prekážkami alebo dokonca na konkrétne oblasti. Koeficient difúzie súvisí s koeficientom trenia f , Einsteinovým vzťahom:

$$D = \frac{k_B \cdot T}{f} \quad (5)$$

kde v 3-D je f dané Stokesovým zákonom. Pre čisto viskózne tekutiny môže byť šmyková viskozita získaná priamo z difúzneho koeficientu.

Výhodou jednočasticovej mikroreológie v porovnaní s klasickou reológiou je jej väčší frekvenčný rozsah a poskytovanie informácií o nehomogénnych vzorkách, kde častice skúmajú rôzne miestne prostredie. Nevýhodou je, že vyžaduje pracné ladenie parametrov sledovania a spracovanie dát. Priestorové rozlíšenie optického mikroskopu obmedzuje sledovanie vzorku s nízkou viskozitou, to sú materiály, v ktorých sa sledovaná častica môže premiestniť cez veľké vzdialenosti [4, 5].



Obrázok 2: Závislosť MSD na časovom intervale pre rôzne prostredia [1].

2.2.2 Dvojčasticová mikroreológia

Pokiaľ daná častica ovplyvňuje svojím pohybom iba svoje blízke okolie v heterogénnom materiály, potom táto metóda určuje iba štruktúru a vlastnosti najbližšieho okolia častice namiesto reologických vlastností celého materiálu. Dvojčasticová mikroreológia eliminuje lokálne zmeny, vzhľadom k najbližšej štruktúre meraním korelačného pohybu dvojice častíc. Bola vyvinutá k meraniu klasických reologických vlastností heterogénnych vzoriek a k skúmaniu priestorovej nehomogenity. Je to neinvazívna metóda, založená na meraní Brownovho pohybu veľkého množstva začlenených častíc. Pozoruje sa vzájomná vzdialenosť dvojice častíc, ktorá sa pohybuje v rozmedzí 10–100 mikrónov. Pohyb týchto častíc nie je ovplyvnený ich veľkosťou ani tvarom a je nezávislý na špecifickej interakcii povrchu častice s okolitým prostredím. Aby nedochádzalo k vzájomnému prekryvaniu častíc, musí byť vzdialenosť ich stredov väčšia ako ich priemer.

Dvojčasticová mikroreológia vyžaduje rozsiahlejšie množstvo dát pre mnoho párov častíc v rôznych vzdialenostiach, ktoré musia byť zaznamenané a analyzované k vytvoreniu dobrej štatistiky. Ďalšou nevýhodou tejto metódy je vysoké percento šumu, ktorý je súčasťou signálu pri meraní korelačných pohybov [2, 3].

2.2.3 Dynamický rozptyl svetla

Meranie rozptýleného svetla je časovo-korelačná funkcia, ktorá môže byť použitá k získaniu nielen viskozity, ale aj modulu pružnosti viskoelastických materiálov. Rozptylové techniky v oblasti mikroreológie využívajú koherentné monochromatické žiarenie, ktoré dopadá na vzorku, kde je rozptýlené množstvom prítomných častíc a zachytené optickými prvkami k meraniu intenzity rozptýleného svetla. Tradičná DLS mikroreológia je obmedzená na pomerne zriedené a transparentné vzorky aby sa zabránilo komplikáciám viacnásobného rozptylu a predpokladá výskyt náhodných trajektórií, ktoré sú spôsobené Brownovým pohybom častíc. V ideálnom prípade je každý fotón rozptýlený iba raz a ihneď je nasmerovaný priamo k detektoru. DLS mikroreológia umožňuje pracovať s oveľa menším objemom vzorku, ako je obvykle nutné pre mechanický rotačný rheometer. Výsledkom použitia tejto metódy je priemerná hodnota MSD všetkých častíc ako funkcia času a hodnoty modulov ako funkcia frekvencie.

Pre častice pohybujúce sa voľne v dôsledku okolitej teploty v čisto viskóznej (Newtonovskej) kvapaline sa MSD zvyšuje lineárne s časom. Sklon tohto nárastu je priamo závislý na difúznom koeficiente D častice:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 2 \cdot d \cdot D \cdot \tau^\alpha \quad (6)$$

kde d pre DLS mikroreológiu je rovné 3, difúzny koeficient α je rovný 1 a $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ je MSD častice. Po dosadení týchto hodnôt do rovnice (6) získame rovnicu:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 6 \cdot D \cdot \tau \quad (7)$$

Pre čisto viskózne (Newtonovské) kvapaliny potom Stokes – Einsteinov vzťah poskytuje difúzny koeficient v závislosti na veľkosti častíc, viskozity kontinuálneho média a teplote:

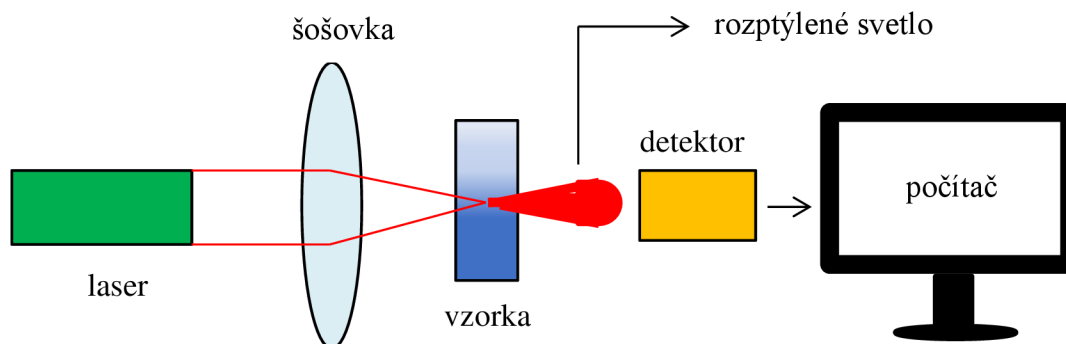
$$D = \frac{k_B \cdot T}{3 \cdot \pi \cdot a \cdot \eta} \quad (8)$$

kde a je hydrodynamický priemer častice, η je viskozita tekutého média, T je teplota a k_B je Boltzmannova konštanta.

DLS mikroreológia má významný potenciál pre meranie slabo štruktúrovaných vzoriek, pretože umožňuje prístup k veľmi vysokej frekvencii, ktorá je potrebná k meraniu dynamiky týchto systémov v kriticky krátkej dobe. Sú to napríklad polymérne a proteínové roztoky, emulzie, koloidné suspenzie a gély. K stanoveniu reologických vlastností vzoriek použitím DLS mikroreológie musí byť známa veľkosť použitých častíc. Komplexné tekutiny vykazujú takmer výhradne viskoelastické (Nenewtonovské) chovanie. Pretože pružnosť suspendujúceho prostredia sa stáva významnou, pohyb častíc sa stáva sub-difúznym a chovanie sa výrazne odchyľuje od linearitu v čisto viskóznej kvapaline.

Obmedzenie DLS mikroreológie využíva DWS, ktorá umožňuje štúdium dynamiky v koloidných pastách a pene. DWS má schopnosť študovať dynamiku a kinetiku agregátnych systémov bez potreby rozsiahlej numerickej analýzy. Vlastný súbor priemerovania odstraňuje

priestorové informácie, a tak nie je tento spôsob možné použiť vo viacfázových médiách [1, 3, 5, 6].



Obrázok 3: Princíp DLS [7].

2.3 Výhody a nevýhody DLS mikroreológie

Výhody DLS mikroreológie:

- Schopnosť dostať sa do vyšších frekvencií než klasická reológia: Laserovo založená DLS mikroreológia skúma širší frekvenčný rozsah ako je prístupný pri klasickej reológii, pretože má schopnosť zachytiť dynamické chovanie vo veľmi krátkych časoch. To je oblasť, v ktorej sa meranie zotrvačnosti mechanickej inštrumentácie stane silno obmedzujúcim.
- Malé objemy vzoriek: Objemy vzoriek potrebných pre DLS mikroreológiu sú zvyčajne vo veľkosti mikrolitra. To umožňuje reologickú charakterizáciu materiálu, ktorý nie je k dispozícii vo väčších objemoch.
- Rýchle meranie: Pri meraní súboru štatistík vyplývajúcich z tepelného (Brownovho) pohybu sondovanej častice skúma DLS mikroreológia kompletný rozsah frekvencií merania súčasne. To robí túto techniku relatívne rýchlou.
- Meranie pri veľmi nízkom aplikovanom napätí: Brownov pohyb sledovanej častice sa využíva k určeniu lineárnej dynamiky vzorku. Technika sa dobre hodí pre systémy vysoko citlivé na tlak.
- Použitie systému s vysokým jediným detekčným rozptylom: Mikroreologické merania sú možné pri nižších koncentráciách pridanej sledovanej častice. To môže mať zásadný vplyv na niektoré biologické systémy, kde minimalizácia interakcií sondy so vzorkou môže byť komplikovanejšia [6].

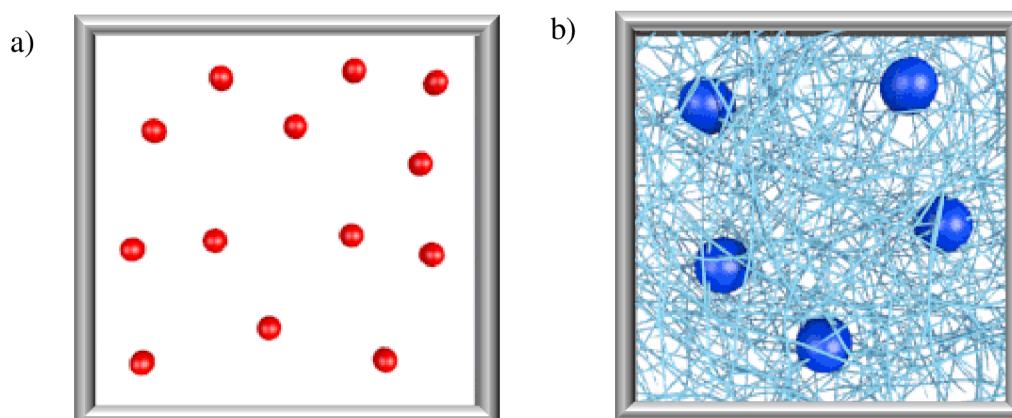
Nevýhody DLS mikroreológie:

- DLS nie je schopná presne rozpoznať nami začlenenú časticu od prítomnej nečistoty (napríklad prachová častica) a práve preto môže byť MSD tejto nečistoty pridané do celkového priemeru hodnoty MSD, čím dôjde ku skresleniu výsledku.

- DLS je do istej miery obmedzená viacnásobným rozptylom svetla, čo je pre meranie nežiaduce [3].
- Pri vysokých frekvenciách DLS je obmedzená citlivosť korelátora. Toto obmedzenie je možné prekonať pridaním mnohých rozptyľujúcich látok do vzorku [8].

2.4 Gély

Gély sú disperzné koloidné systémy, v ktorých sú disperzné častice spojené do trojrozmernej siete, ktorá prestupuje disperzným prostredím. Spojité je nielen disperzné prostredie, ale aj disperzný podiel. Po spojení do sieťovej štruktúry sa častice nemôžu nezávisle pohybovať disperzným prostredím, môžu vykonávať iba vibračný pohyb. Sily pútajúce disperzné častice medzi molekulami disperzného prostredia sa nazývajú adhézne sily a môžu byť buď chemického alebo fyzikálneho charakteru. Odstránením disperzného prostredia (vysušením gélu) vzniká systém obsahujúci iba disperzný podiel a nazýva sa xerogel. Pôvodný rôsolovitý gél je označovaný aj ako lyogel, pokiaľ ho chceme odlišiť od xerogelu. Gél a proces gelácie ma veľký význam v lekárstve, biológii, priemysle i v potravinárstve [9].



Obrázok 4: a) Častice voľne rozptýlené v čisto viskóznej kvapaline pohybujúce sa v celom vzorku.
b) Častice chytené v gélovej sieti [10].

Gély vznikajú procesom zvaným gelácia. Gelácia je pomalý proces, pri ktorom sa spájaním koloidných častíc disperzného podielu v súvislú štruktúru vytvára a postupne spevňuje priestorová sieť – vzniká gél. Okamžik prvého objavenia neprerušovanej siete polymérneho reťazca rozprestierajúcej sa v celom objeme reakčnej nádoby sa nazýva bod gelácie. Do tohto momentu tvorí zmes kvapalina, v ktorej sú rozptýlené izolované častice rôznej veľkosti. Proces gelácie môže byť spôsobený jedným z nasledujúcich procesov:

- Zmenou fyzikálneho stavu roztoku – Vznik fyzikálne sieťovaných gélov.
- Chemickou reakciou – Možnosť prípravy kovalentných gélov.
- Napučaním xerogelu – Možnosť realizácie iba u reverzibilných hydrogélův pridaním disperzného prostredia, napríklad vody [11, 12, 13, 14].

Gél môžeme pripraviť rôznymi spôsobmi:

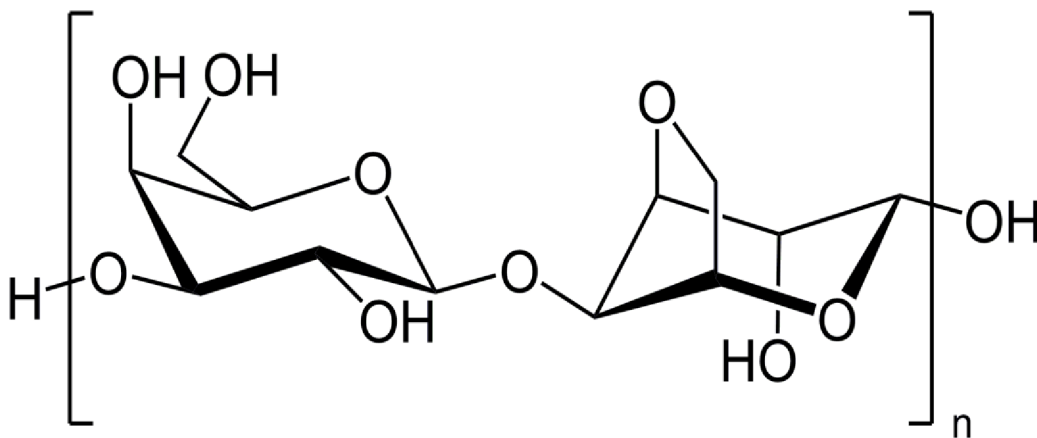
- Sieťovaním lineárneho polyméru – Najznámejším prípadom je vulkanizácia kaučuku. Čím rozsiahlejšia je vetvená štruktúra, tým pravdepodobnejšie je jej spojenie s inou veľkou makromolekulou pomocou mostíku. Najväčšie vetvené makromolekuly rastú najrýchlejšie a vďaka tomu sa pri dosiahnutí určitého stupňa reakčnej premeny objaví nekonečná trojrozmerná sieť.
- Sieťovacie polymerizácie – Jedná sa o kopolymerizáciu dvojfunkčného monoméru s viacfunkčným. Monomér je n -funkčný, ak sa do makromolekuly zapája n väzbami [15].

2.5 Agaróza

Agaróza je svojou schopnosťou gelovania známa už od začiatku 17 storočia. Získava sa z červenej morskej riasy typu Agarophyte, ktorá vytvára vo svojej bunkovej stene hydrokoloidnú formu agaru. Je k dispozícii vo forme bieleho prášku, ktorý sa rozpúšťa vo vode pri cca 85 °C a keď sa ochladí, tvorí gél. Agaróza sa často používa v molekulárnej biológii pre separáciu veľkých molekúl, najmä DNA elektroforézou. Čím väčšia je koncentrácia agarózy, tým je menšia veľkosť pórov vnútri gélu a elektroforéza prebieha pomalšie. Agaróza sa taktiež využíva ako stacionárna fáza v gélovej permeačnej chromatografii, ako živné médium pri kultivácii mikroorganizmov, vo farmácii, potravinárstve a v biomedicínskych aplikáciách [14, 16, 17].

2.5.1 Štruktúra

Agaróza je lineárny polysacharid tvorený striedajúcimi sa galaktózovými a 3,6-anhydrogalaktózovými podjednotkami – agarobiózy. Jedná sa o nenabitý polysacharid, avšak niektoré D-galaktózové a L-galaktózové jednotky môžu byť metylované a môžu obsahovať v malých množstvách i pyruvát a sulfát. Každý reťazec agarózy obsahuje asi 800 molekúl galaktózy a agarózové polymérne reťazce tvoria helikálne štruktúry, ktoré agregujú do nadšroubovicovej štruktúry. 3-D štruktúra je držaná pomocou vodíkových väzieb, a preto môže byť narušená zahriatím späť do kvapalného stavu [14, 16, 17].



Obrázok 5: Štruktúrny vzorec agarózy [17]

2.5.2 Vlastnosti

Agaróza vykazuje zaujímavé vlastnosti. Z termického hľadiska je to predovšetkým jav nazývaný tepelná hysterézia. Znamená to, že výstupná veličina nezávisí len na vstupujúcej veličine, ale aj na predchádzajúcom stave systému. Pri ochladení zahriateho roztoku agarózy na teplotu približne 30–40 °C dochádza k vytváraniu gélovej hmoty, ktorá opätovným zahriatím prechádza do roztoku. Jedná sa teda o termoreverzibilný polysacharid. Ďalej vykazujú agarózové gély vlastnosť synereze. Termín synereze je spojený so samovoľným vytlačovaním nadbytočnej kvapaliny (disperzného prostredia) na povrch gélu. Tento jav sa často vyskytuje u novo vytvorených systémov, ktoré nie sú v termodynamickej rovnováhe. Synereze je podporovaná zvýšením teploty či prídavkom elektrolytu. Agaróza je veľmi dobre rozpustná vo vodnom prostredí pri teplote nad 85 °C a naopak nerozpustná v studenej vode [16, 17].

3 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Reológia je špeciálna oblasť mechaniky, ktorá sa zaoberá štúdiom toku hmoty alebo kvapaliny, vzťahmi medzi napätiami a deformáciami látok. *Sutton S. a spol.* použili klasickú reológiu k skúmaniu závislosti mikroštruktúr gélov vytvorených z Fmoc-tyrosine vo väčších dĺžkach. Predchádzajúce štúdia s využitím zafarbenej difúzie ukázali, že Fmoc-tyrosine je schopný tvoriť gély, ktoré môžu zachytávať molekuly, ak sú dostatočne veľké, na rozdiel od gélov tvorených Fmoc-phenylalanine. Tento výsledok sa však zdal byť v rozpore s mikroskopickými štúdiami gélu. Vyšetrovanie však ukázalo, že existuje dostatočné množstvo dôkazov o väčšom meradle štruktúr prítomných v gélu čo ukazuje na prítomnosť štruktúrnych prvkov [18, 19].

Smilek J. zisťoval a porovnával viskoelastické vlastnosti agarózových hydrogélom pomocou jednoduchých oscilačných testov. Jednalo sa o testy s konštantnou frekvenčnou osciláciou a menenou amplitúdou napätia. Bolo zistené, že hydrogél s vyššou koncentráciou agarózy disponoval vyššími hodnotami viskoelastických modulov. Z toho bolo možné usúdiť, že gél s vyššou koncentráciou agarózy v gélu mal rigidnejšiu štruktúru. Ďalším testom, ktorému bol podrobený agarózový gél bez prídavku biopolyméru, bol oscilačný test s rôznou frekvenciou oscilácie a vhodnou konštantnou amplitúdou napätia. Zistilo sa, že aj napriek vysokému obsahu vody majú všetky hydrogély, obsahujúce rôznu koncentráciu agarózy, plne sieťovanú štruktúru, čo bolo možné usudzovať z toho, že elastický modul výrazne prevyšoval viskóznym [14].

Avšak reologické merania popisujú celkovú mechanickú odozvu materiálu na makroskopickú úroveň a z tohto dôvodu neposkytujú bližšie informácie o miestnych zmenách v mikroštruktúre a ich príspevok do celkovej mechanickej odozvy materiálu. Aby bolo možné pochopiť pôvod celkovej reakcie, je nutné skúmať reológiu cez kratšie dĺžkové meradla. Preto sa dosiahol významný pokrok v štúdiu štruktúr a dynamiky komplexných tekutín na mikroskopickú úroveň. Tieto techniky sú známe ako mikrореológia. *Moschakis T. a spol.* použili klasickú reológiu a mikrореológiu pri sledovaní kinetiky gelovania roztoku kaseinátu sodného, spôsobenú acidifikáciou. Z mikrореologických techník bolo použité mikrореologické sledovanie častíc pomocou konfokálneho mikroskopu. Cieľom tejto štúdie bolo porovnanie mikrореologických výsledkov s makroskopickými viskoelastickými vlastnosťami, meranými rheometrom. Porovnávali sa hodnoty kaseinátu sodného v sóle a v gélu. Aj napriek tomu, že mikrореologické hodnoty boli mierne nižšie ako makroskopické, body gelácie sa veľmi dobre zhodovali u oboch techník [1, 20].

Mahaffy R. E. a spol. používali nové skenovacie sondy na báze mikrореologických prístupov pre kvantifikáciu frekvenčne závislého viskoelastického správania fibroplastov a polymérnych gélov. Tvar skenovacej sondy bol upravený použitím polystyrénových častíc na definovanej ploche. Mikrореologické merania týchto polyakrylamidových gélov sú porovnateľné s bežnými reologickými dátami. Zistilo sa, že bunky vykazujú viskoelastický popis podobný in vitro aktínovým gélom [21].

Heinemann C. a spol. sa zaoberali sledovaním reologických vlastností zemiakového škrobu v prítomnosti zlúčeniny vyvolávajúcej geláciu γ -dodecalactone. Použitou metódou

bola pasívna mikrereológia, konkrétne difúzna vlnová spektroskopia (DWS). Základným princípom bolo sledovanie Brownovho pohybu umelo vložených polystyrénových častíc, ktorých úlohou bolo rozrušovanie štruktúry. Sledovaná bola korelačná funkcia, ktorá je známa ako MSD rozptylu polystyrénovej častice, po 5, 15, 70 minútach a 23 hodinách. Zistilo sa, že najdôležitejšie zmeny v MSD sa objavili v priebehu prvých 70 minút. Bol pozorovaný bod gelovania [22].

Dasgupta B.R. skúmal miestne viskoelastické vlastnosti jednoduchého, nezosieťovaného, pružného polyméru polyetylenoxidu (PEO), tiež známeho ako polyethylenglykol (PEG). K štúdiu boli použité dve rôzne techniky rozptylu svetla, a to DWS a kvázi- elastický rozptyl svetla (QELS). MSD pre rôzne veľkosti častíc ukazovali rovnaký trend: väčšie z nich sa pohybovali v menších vzdialenostiach, ako tie menšie. Údaje o MSD s vyššou molekulovou hmotnostnou koncentráciou polyméru mali menší logaritmický sklon pre kratšiu dobu oneskorenia, signalizujúcu pružnejšiu odozvu materiálu. Dlhšia doba oneskorenia pre rovnaký druh polyméru ukazuje viskóznejšie chovanie. Naopak krivky MSD pre nižšiu molekulovú hmotnosť vykazujú väčšie viskózne chovanie. Dasgupta B.R. sa v rovnakej práci zaoberal aj sól – gél prechodom polymérneho roztoku pomocou DLS. Zaznamenávala sa závislosť vlnového vektoru na relaxačnej dynamike pri dvoch teplotách vo vnútri gélu a dvoch teplotách v stave sólu. Bola nájdená silná závislosť rozptylu vlnového vektoru na korelačnej funkcii v sóle, v ktorom bolo meranie urobené pri väčšom rozptyle vektoru, čo má za následok rýchlejšiu de-koreláciu autokorelačnej funkcie. V celom skúmanom rozsahu rozptylu vlnových vektorov bol vidieť dvojstupňový pokles korelačnej funkcie, rýchly rozpad v časovom meradle 10^{-4} s a pomalý rozpad za dlhšiu dobu, až niekoľko sekúnd pre najnižšie hodnoty vlnového rozptylu vektoru [23].

Pretože je mikrereológia pomerne nová metóda, existuje iba málo výskumov, ktoré používajú mikrereológiu dynamického rozptylu svetla (DLS) k pozorovaniu priebehu gelácie. **Oppong F. a spol.** použili DLS a mikrereologické sledovanie častíc pre stanovenie stredného kvadrátu posunutia fluorescenčných častíc, suspendovaných vo vzorkách polyméru Carbopol ETD 2050. Všetky merania prebehli pri teplote 25 °C. Z výsledkov boli vypočítané mikroskopické viskoelastické moduly pružnosti. V kratších časoch sa častice pohybovali prevažne vo viskóznom médiu, zatiaľ čo pri dlhších časoch je viac zrejмый elastický modul, ktorý prevažuje nad viskóznym modulom pri vysokých koncentráciách Carbopolu. Viskózne a elastické moduly merané pomocou šmykového rheometru sú o niekoľko rádov väčšie ako mikrereologické dáta [24].

4 MATERIÁLY A METÓDY

4.1 Materiály

Agaróza	Sigma Aldrich, Co., for routine use, číslo šarže 9012-26-6
Častice	Polystyrénové častice, veľkosť 0,5 μm , Sigma – Aldrich, číslo šarže 95585-5ML-F
	Polystyrénové častice, veľkosť 1,0 μm , Sigma – Aldrich, číslo šarže 729Z8-5ML-F
	Polystyrénové častice, veľkosť 0,1 μm , Sigma – Aldrich, číslo šarže 90517-5ML-F
Rozpúšťadlo	Mili-Q voda (Milipore Academic)

4.2 Vybavenie

Prístroj	ZetaSizer Nano ZS
Program	ZetaSizer Software, MS Excel

4.3 Výber vzoriek pre mikrореologické meranie

Do kadičiek boli pripravené roztoky agarózy o hmotnostnej koncentrácii 0,01 %; 0,05 %; 0,1 %; 0,5 %; 0,75 % a 1,0 % o celkovom objeme 7 ml. Roztoky boli zahriate na 85 °C a ihneď boli preliate do pripravených Petriho misiek. Na základe rýchlosti vytvorenia gélu a jeho tuhosti bol z nasledujúcich meraní vylúčený roztok agarózy o hmotnostnej koncentrácii 0,75 %, pretože sa svojím správaním výrazne podobal správaniu 1,0% roztoku agarózy.

4.4 Príprava vzoriek

Vzorky pre mikrореológiu o hmotnostnej koncentrácii 0,01 %; 0,05 %; 0,5 %; a 1,0 % boli pripravené vždy tesne pred meraním do vialiek. Ku každému roztoku bolo napipetovaných 10 μl polystyrénových častíc o veľkosti 0,5 μm . K 0,05% roztoku agarózy bolo pridávaných namiesto 0,5 μm častíc aj 10 μl 0,1 μm alebo 10 μl 1,0 μm polystyrénových častíc. Vzorky boli ponechané na ultrazvuku po dobu 15 minút pri teplote 70 °C aby došlo k rozpusteniu agarózy.

Pre meranie zeta potenciálu, veľkosti častíc ale aj mikrореologie bola pripravená kontrolná vzorka obsahujúca 7 ml milli-Q vody a 10 μl polystyrénových častíc o veľkosti 0,5 μm .

5 MERANIE A VYHODNOTENIE DÁT

5.1 Meranie zeta potenciálu a veľkosti častíc

Pre meranie zeta potenciálu bol použitý prístroj ZetaSizer Nano ZS, na ktorom bol nastavený merací modul Zeta – Potencial. Pripravený 0,05% roztok agarózy obsahujúci mikrorheologické PS častice o veľkosti 0,5 μm a kontrolná vzorka pozostávajúca zo 7 ml milli-Q vody a 10 μl mikrorheologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm boli naliate do sklenenej kyvety a zmerané. K meraniu zeta potenciálu bola použitá špeciálna dip cela pre zeta potenciál. Meranie prebehlo trikrát pri teplote 60 °C. Táto teplota bola zvolená z toho dôvodu, že čiastočky agarózy nachádzajúce sa v roztoku museli byť rozpustené a zároveň nemohlo dôjsť ku gelácii roztoku.

Pre zistenie veľkosti častíc bol použitý prístroj ZetaSizer Nano ZS s meracím modulom Size. 0,05% roztok agarózy obsahujúci 0,5 μm mikrorheologické PS častice bol preliaty do sklenej kyvety, ktorá bola vložená do prístroja. Meranie bolo uskutočnené trikrát pri teplote 60 °C. Rovnakým spôsobom bola zmeraná i kontrolná vzorka.

Zeta potenciál a veľkosť častíc boli zmerané z dôvodu vylúčenia možnosti interakcií mikrorheologických častíc s agarózou a zhlukovania samotných častíc po pridaní do roztoku agarózy.

5.2 Meranie mikrorheológie

Meranie mikrorheológie pomocou DLS bolo uskutočnené použitím prístroja ZetaSizer Nano ZS a modulu Microrheology. Pred samotným meraním bola pomocou digitálneho teplomeru a stopiek sledovaná teplota prístroja na požadovanú teplotu, na základe čoho boli určené časové intervaly, pri ktorých meranie prebiehalo. Aby sme mali istotu, že prístroj dosiahol počiatkovej teploty 85 °C, bol ZetaSizer Nano ZS vyhrievaný a temperovaný po dobu 20 minút. Nasledujúce merania pri nižších teplotách boli uskutočnené už po 7 minútach, počas ktorých stihol prístroj schladnúť a dosiahnuť požadovanej teploty.

Pripravené roztoky agarózy obsahujúce 10 μl mikrorheologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm ; 1,0 μm alebo 0,1 μm a kontrolná vzorka pozostávajúca zo 7 ml milli-Q vody a 10 μl mikrorheologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm boli naliate do sklenej kyvety a bola zmeraná mikrorheológia vzoriek pri teplote 85 °C, 75 °C, 65 °C, 55 °C, 45 °C, 35 °C a 25 °C. Meranie prebehlo vždy trikrát.



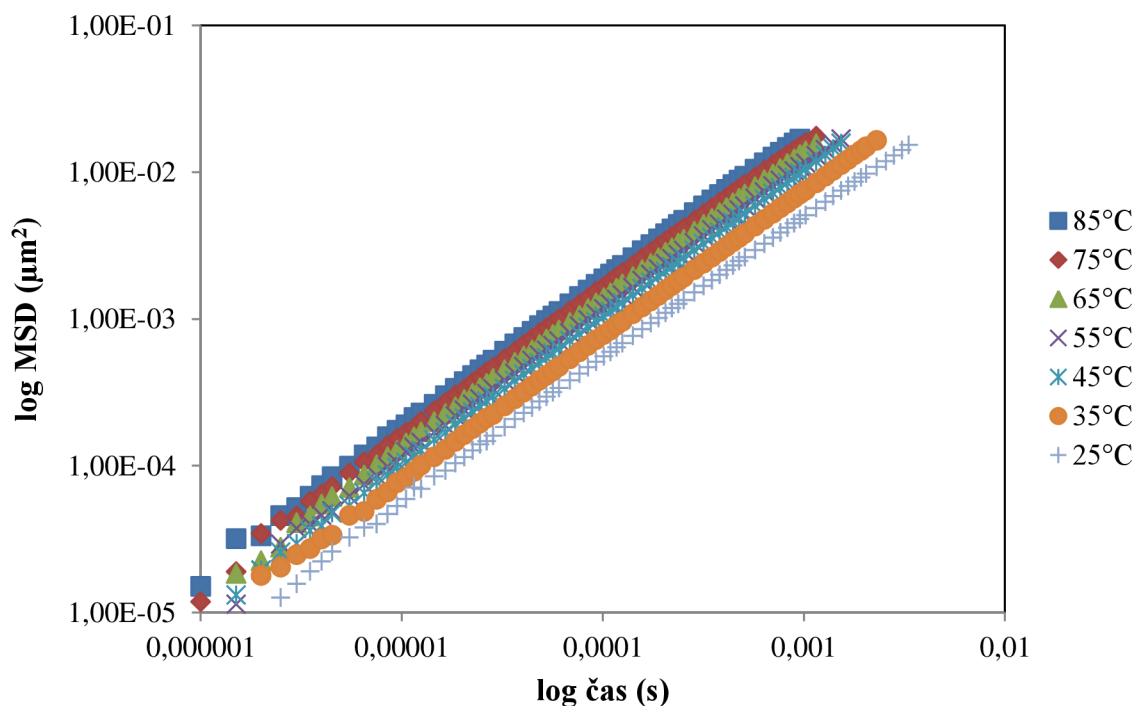
Obrázok 6: Reometr ARG2 a ZetaSizer Nano ZS [25]

6 VÝSLEDKY A DISKUSIE

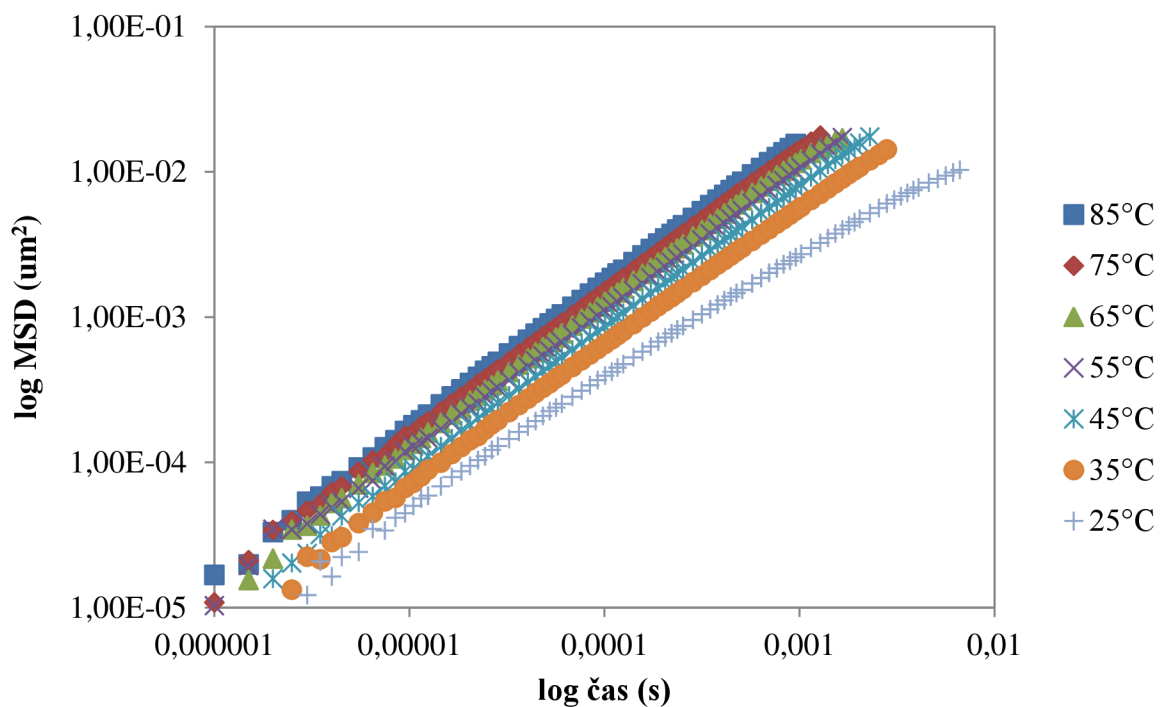
Namerané dáta boli exportované z programu ZetaSizer Software do programu Microsoft Excel. Všetky merania prebehli trikrát a práve preto boli namerané hodnoty spriemerované, bola vypočítaná smerodajná odchýlka a difúzne koeficienty. Výsledné dáta boli vynesené do grafov ako závislosť MSD na čase alebo zhrnuté do tabuľky.

Aby sme mohli porovnať, ktorý posun kriviek je spôsobený zmenou teploty, čiže zmenou Brownovho pohybu a ktorý zmenou viskozity spôsobenú procesom gelácie, bola zmeraná mikroreológia kontrolnej vzorky, pretože MSD častíc nezávisí iba na viskozite, ale hlavne na teplote. Následne boli z lineárnej smernice vody určené difúzne koeficienty pre samotnú vodu i pre všetky merané roztoky agarózy pri každej teplote.

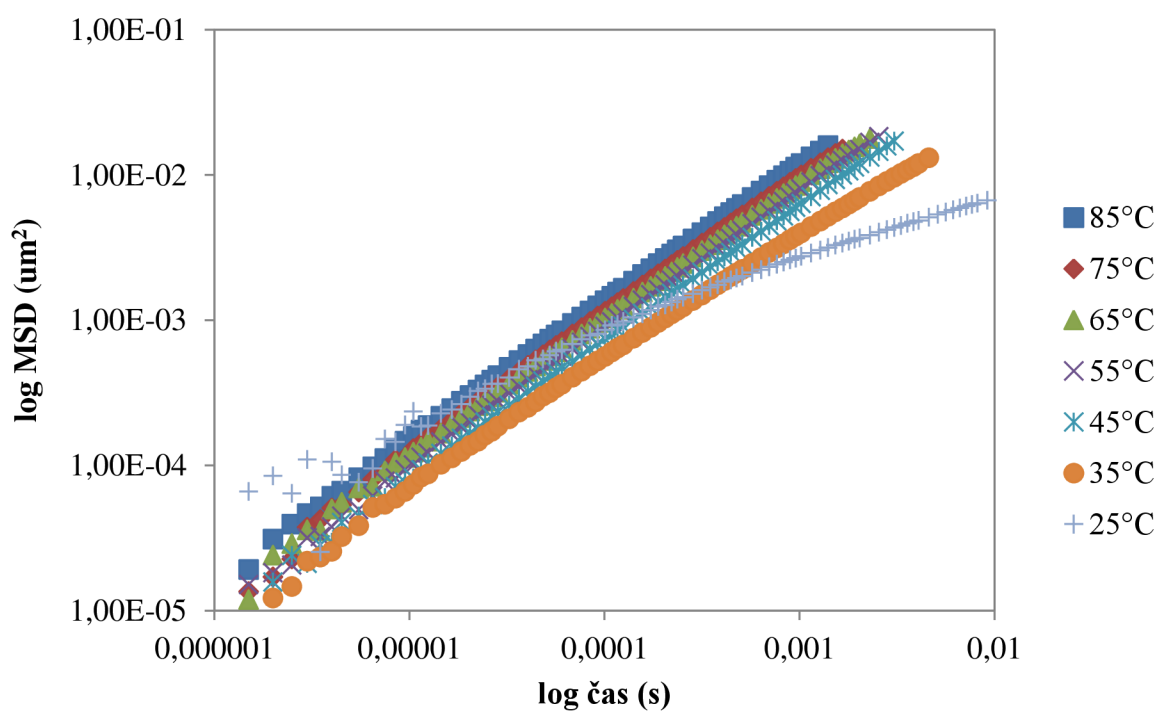
V grafoch 1–8 nie sú zaznamenané chybové úsečky priamo do grafu z dôvodu lepšej prehľadnosti, ale sú komentované na konci kapitoly v grafoch 9–15.



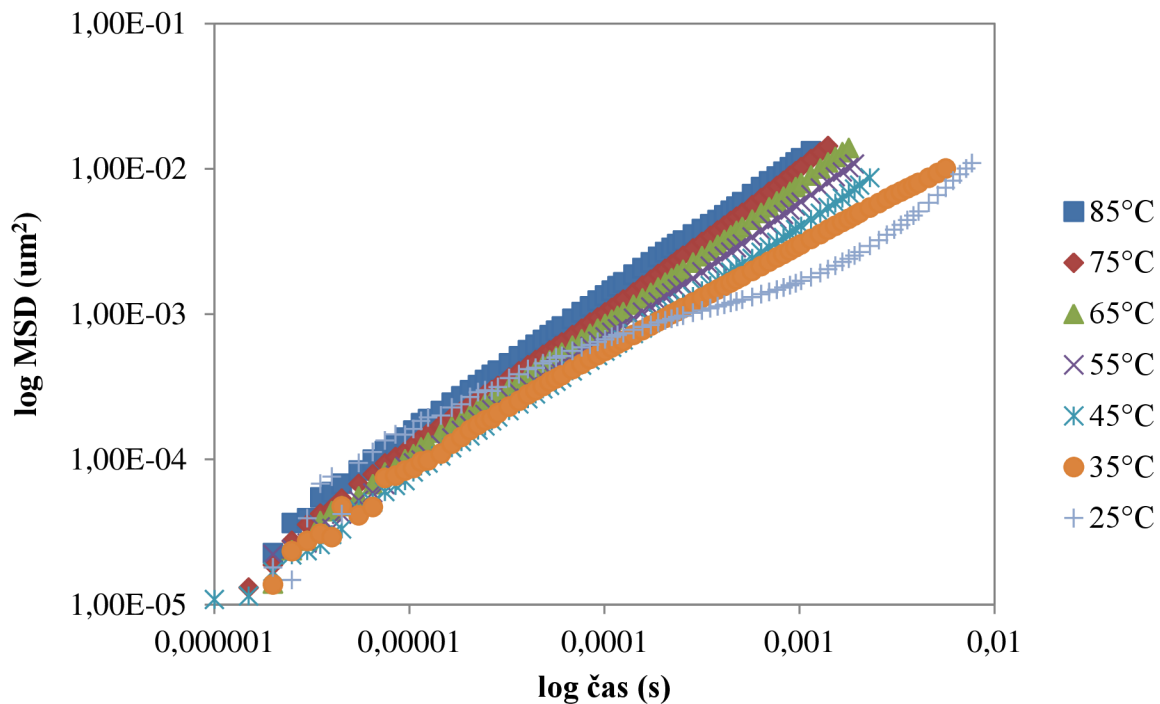
Graf 1: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,01% roztok agarózy za použitia mikroreologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm.



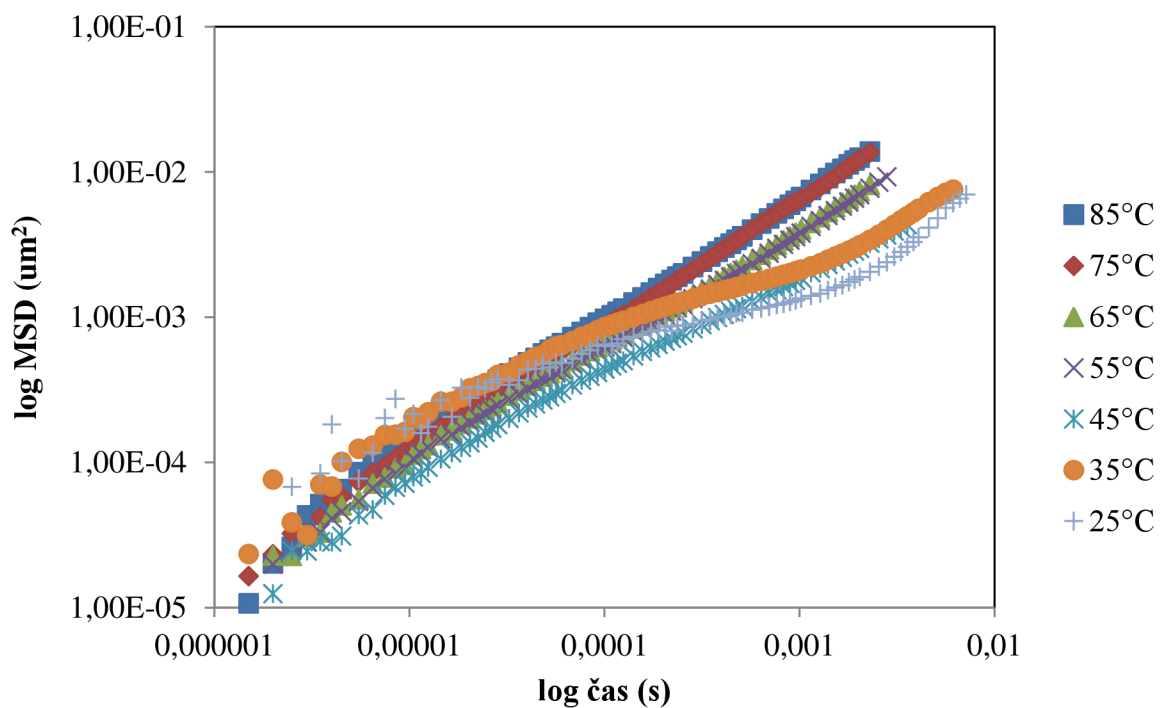
Graf 2: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm .



Graf 3: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,1% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm .



Graf 4: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,5% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm .



Graf 5: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 1,0% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm .

V grafoch 1–5 môžeme vidieť logaritmickú závislosť MSD na čase pre všetky pripravené roztoky agarózy, o nami vybraných hmotnostných koncentráciách, pre všetky merané teploty. Pre tieto merania boli použité mikroreologické PS častice o veľkosti 0,5 μm .

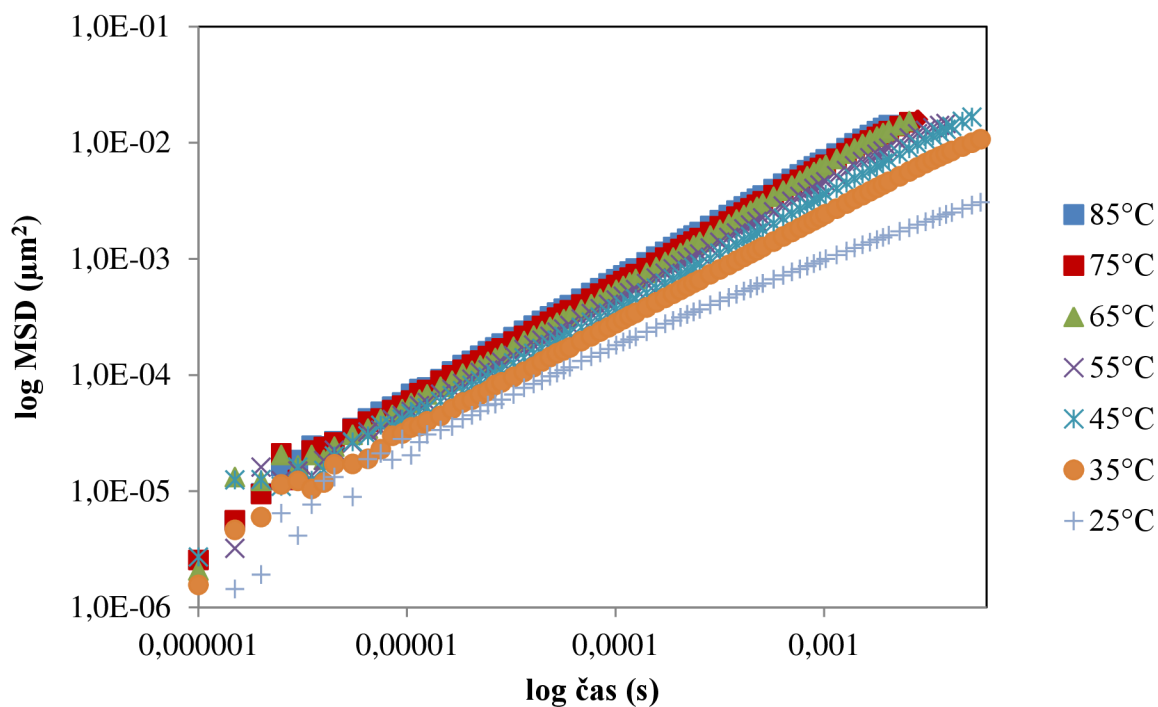
V grafoch 1–3 si môžeme spočiatku všimnúť približne rovnomerné klesanie MSD kriviek až po teplotu 45 °C. Pri teplote 35 °C je pozorovateľný väčší odklon MSD krivky od predošlých kriviek čo značí, že v roztoku sa reťazce agarózy spájali do sieťovitej štruktúry a vytvárali gélový systém. Rovnako veľký odklon MSD krivky môžeme sledovať aj pri teplote 25 °C. Po vybratí kvety z prístroja viditeľne prevládala kvapalná fáza roztoku nad gélom, z dôvodu nízkych hmotnostných koncentrácií meraných roztokov agarózy.

Z grafu 4 je badateľné, že gelácia roztoku je najviac pozorovateľná pri teplote 45 °C, z dôvodu vyššej hmotnostnej koncentrácie roztoku. Pri teplote 25 °C bola väčšina objemu skúmaného roztoku už vo forme gélu, stále však bola znateľná i agaróza vo forme kvapalného roztoku.

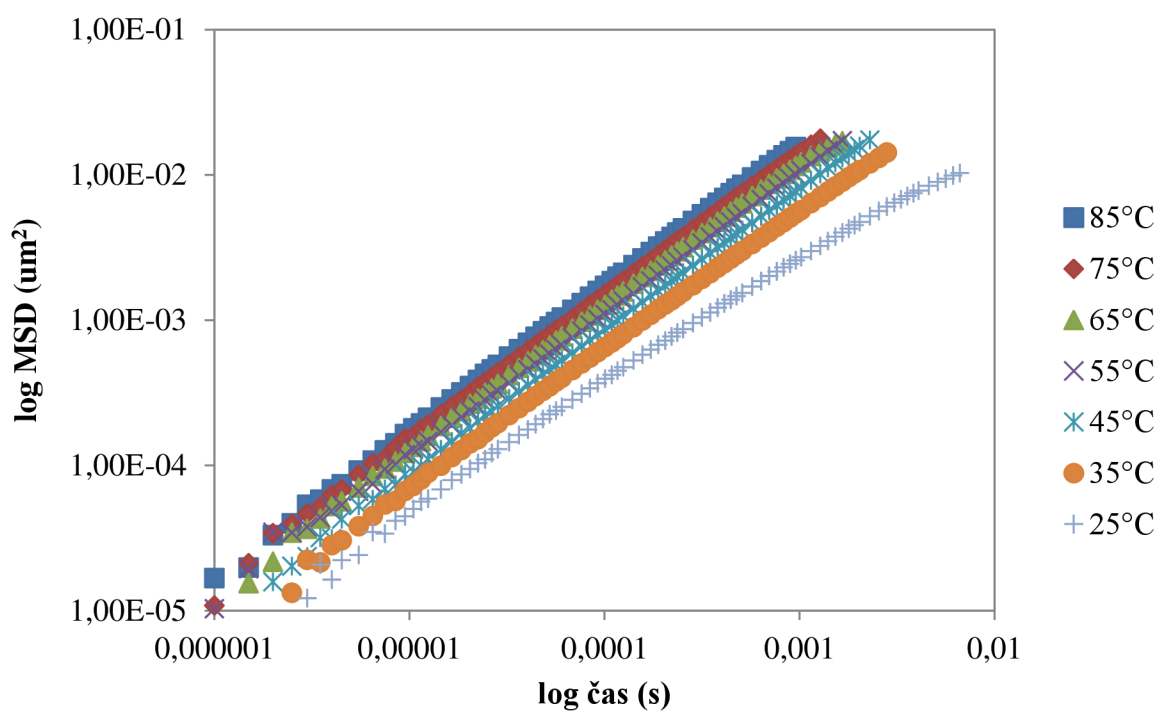
V grafe 5 je zreteľné zaujímavé chovanie skúmaného roztoku, v ktorom vzorka začala intenzívne gelovať už pri teplote 65 °C. Pri teplote 45 °C je vidieť ďalší väčší odklon MSD krivky od predchádzajúcej teploty čo značí, že väčšia časť skúmaného agarózového roztoku bola už vo forme gélu. Pri teplote 25 °C bol celý objem roztoku v kvete premenený v gélovú hmotu.

V grafoch 4 a 5 môžeme ďalej vidieť, že MSD krivky pri nižších teplotách, ako je 35 °C a 25 °C, už nemajú lineárny tvar, ktorý odpovedá viskóznemu médiu. Tieto MSD krivky sú zakrivené, čím naznačujú prítomnosť elastickej zložky materiálu.

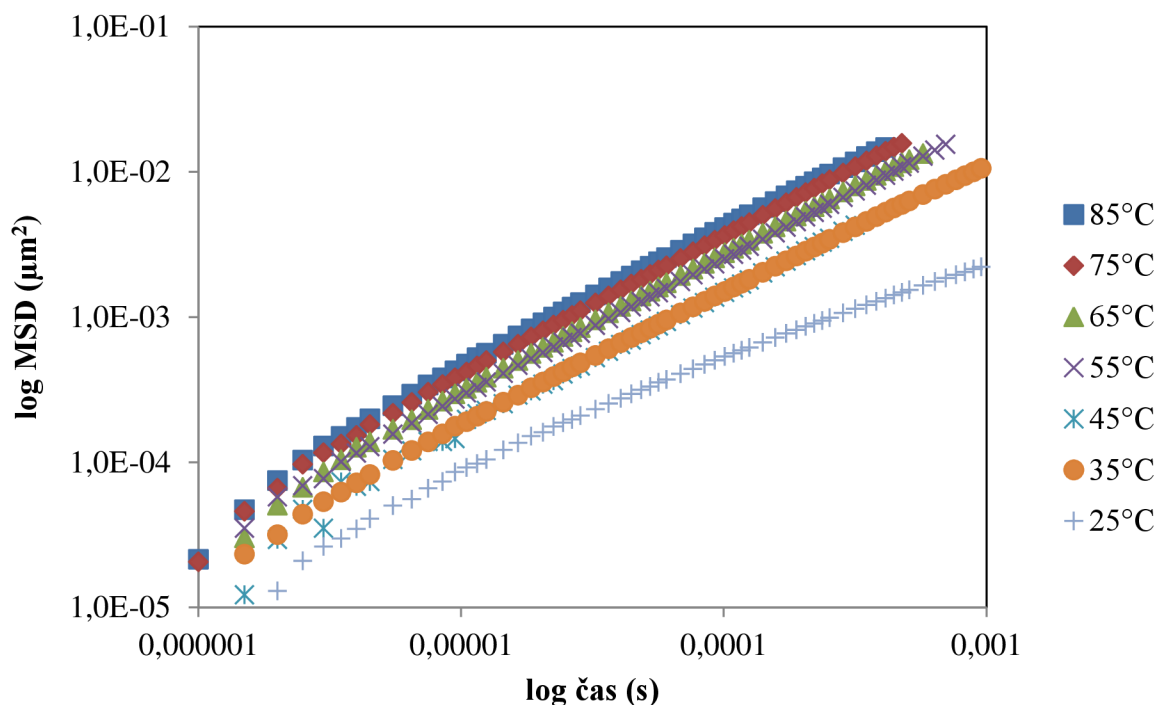
Z priložených grafov môžeme konštatovať, že čím väčší bol zaznamenaný odklon dát od osy y , tým viac gélovej siete bolo vytvorenej v skúmanej vzorke.



Graf 6: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 1,0 μm .



Graf 7: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm .



Graf 8: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy za použitia mikrereologických PS častíc o veľkosti 0,1 µm.

Zo všetkých skúmaných koncentrácií bola vybratá práve jedna, na ktorej bolo uskutočnené mikrereologické meranie za použitia častíc o troch veľkostiach, a to konkrétne o veľkosti 1,0 µm; 0,5 µm a 0,1 µm. Výsledky tohto merania sú vynesené do grafov 5–8, v ktorých si môžeme všimnúť, že 0,05% roztok agarózy sa mení v gél vždy rovnakým spôsobom. Najintenzívnejšia gelácia roztoku je pozorovateľná opäť pri teplote 35 °C. Použitím častíc o rôznych veľkostiach nastáva len iná detekcia, kedy dochádza k posunu hodnôt MSD v čase. Na základe týchto grafov sa dá konštatovať, že veľkosť použitých častíc nemá moc veľký vplyv na štúdium priebehu polymerácie agarózy pomocou metódy DLS mikrereológie.

Tabuľka 1: Stanovené hodnoty difúzných koeficientov pre roztoky s mikrereologickými PS časticami o veľkosti 0,5 µm.

<i>t</i> (°C)	Milli-Q	0,01% roztok	0,05% roztok	0,1% roztok	0,5% roztok	1,0% roztok
85	3,000	3,000	2,617	2,250	2,083	2,067
75	2,500	2,617	2,500	1,917	1,717	2,033
65	2,083	2,167	2,000	1,700	1,500	1,733
55	1,917	2,000	1,833	1,583	1,367	1,600
45	1,542	1,667	1,417	1,300	1,300	1,250
35	1,250	1,250	1,000	1,000	1,267	2,917
25	1,000	0,867	0,717	2,333	2,167	3,000

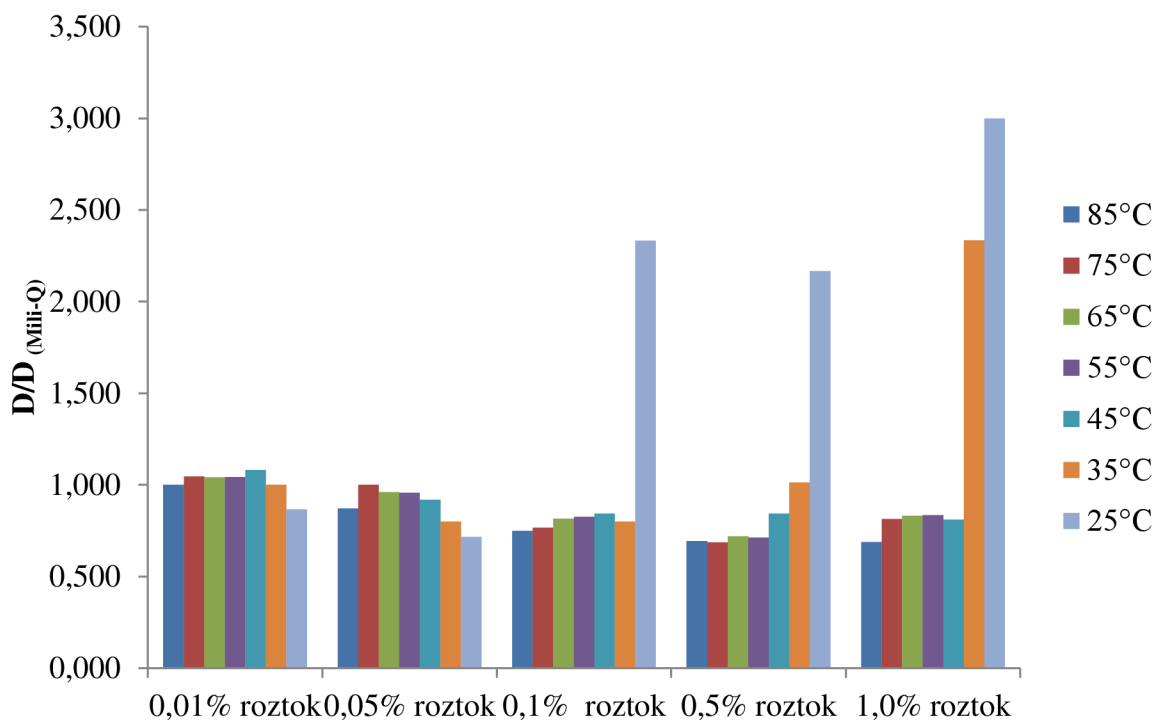
V tabuľke 1 sú zhrnuté stanovené difúzne koeficienty pre všetky vzorky obsahujúce 0,5 µm PS častice pri každej meranej teplote. Môžeme vidieť, že pri nízkych koncentráciách roztoku ako 0,01 % a 0,05 % klesá difúzny koeficient so znižujúcou sa teplotou. Pri vyšších koncentráciách ako 0,1 % a 0,5 % môžeme sledovať klesanie difúzneho koeficientu až po teplotu 35 °C. Pri teplote 25 °C je hodnota difúzneho koeficientu vyššia ako pri predošlej teplote. U najkoncentrovanejšieho 1,0 % roztoku agarózy je vidieť klesanie difúzneho koeficientu po teplotu 45 °C.

Tieto anomálne hodnoty difúzných koeficientov za nízkych teplôt sú spôsobené tým, že pri týchto teplotách je badateľný vplyv nárastu elastickej zložky. V tomto prípade už nie je možné jednoznačne preložiť krivku lineárne a vypočítať tak jednoznačný difúzny koeficient. MSD krivka nadobúda pri teplote 25 °C viskoelastický tvar a nie viskózný, ako tomu bolo pri vyšších teplotách.

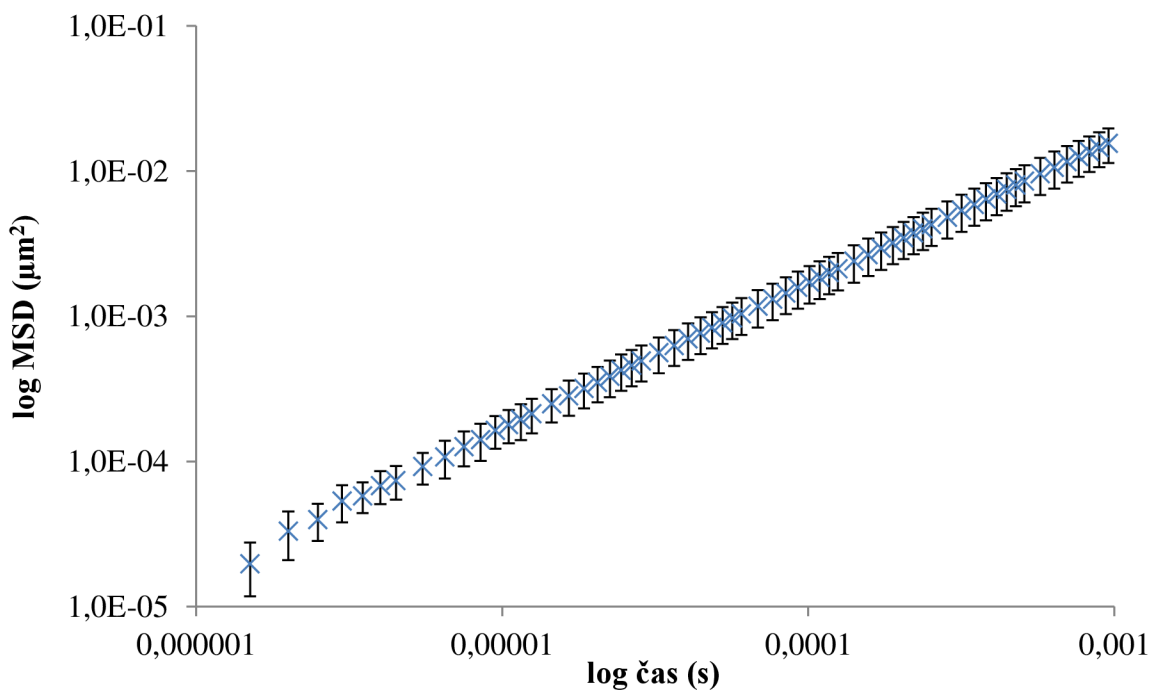
Aby sme oddelili zmenu určených difúzných koeficientov sledovaných agarózových roztokov s mikrereologickými PS časticami o veľkosti 0,5 µm vplyvom teploty, boli tieto hodnoty vzťahované k difúznemu koeficientu vody. Týmto bol získaný pomer, ktorého výrazne zmeny naznačujú vplyv gelácie, ktorá je najviac pozorovaná pri najnižších teplotách ako ukazuje graf 9.

Tabuľka 2: Hodnoty difúzných koeficientov sledovaných agarózových roztokov s mikrereologickými PS časticami o veľkosti 0,5 µm vzťahované k difúznemu koeficientu vody.

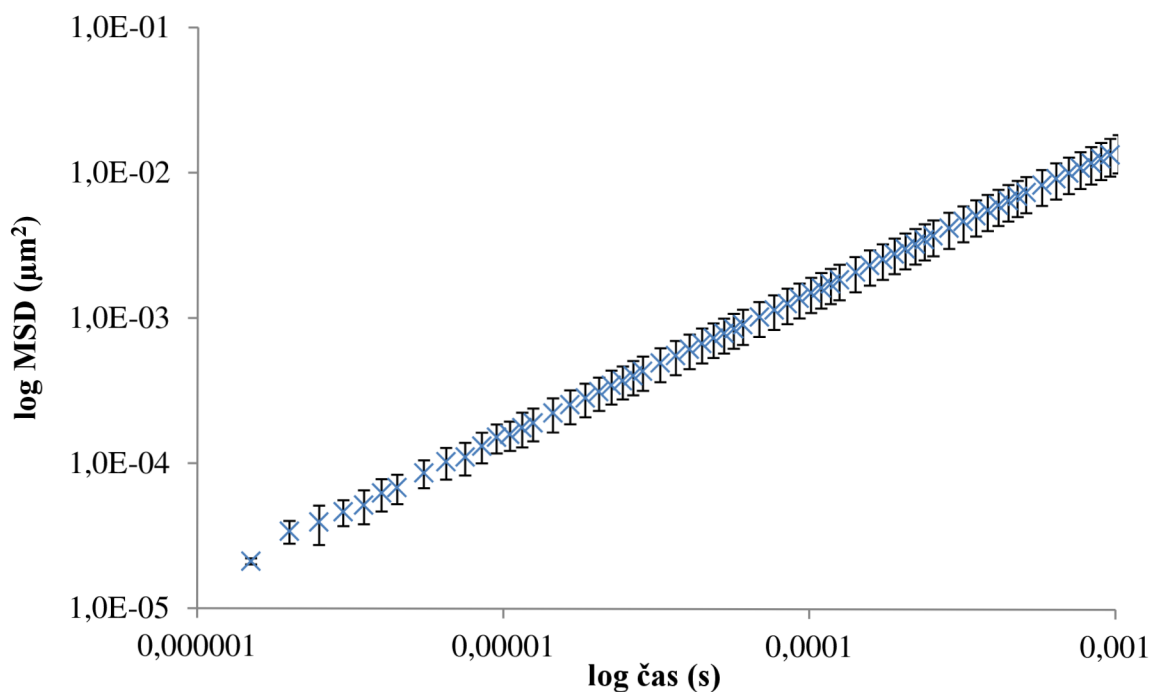
<i>t</i> (°C)	0,01% roztok k vode	0,05% roztok k vode	0,1% k roztok vode	0,5% roztok k vode	1,0% roztok k vode
85	1,000	0,872	0,750	0,694	0,689
75	1,047	1,000	0,767	0,687	0,813
65	1,040	0,960	0,816	0,720	0,832
55	1,043	0,956	0,826	0,713	0,835
45	1,081	0,919	0,843	0,843	0,811
35	1,000	0,800	0,800	1,014	2,334
25	0,867	0,717	2,333	2,167	3,000



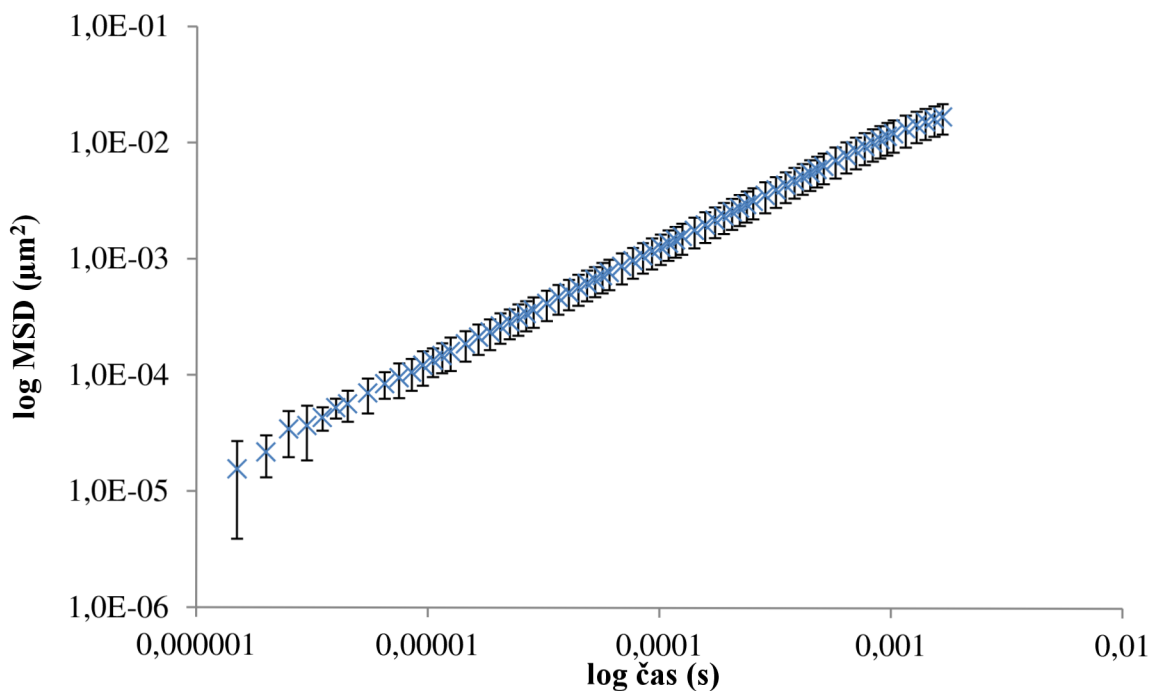
Graf 9: Graf ukazujúci pomer difúzných koeficientov sledovaných roztokov s mikreologickými PS časticami o veľkosti 0,5 μm a vody.



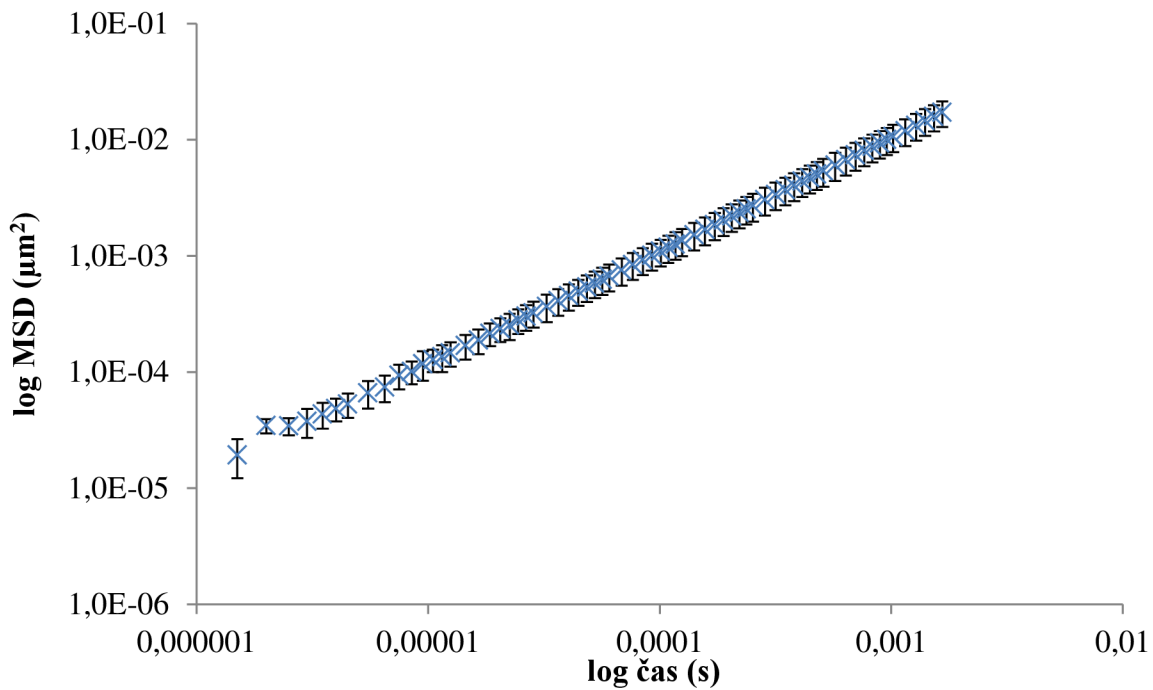
Graf 10: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikreologických PS častic o veľkosti 0,5 μm pre teplotu 85 °C.



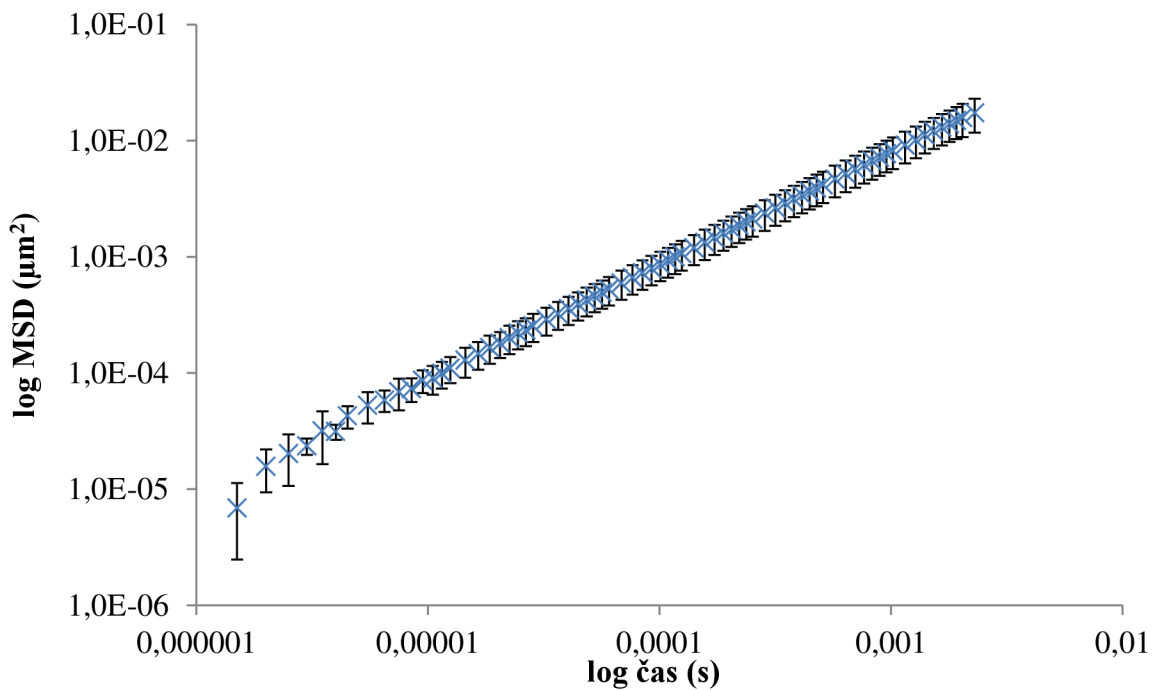
Graf 11: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikroeologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm pre teplotu 75 °C.



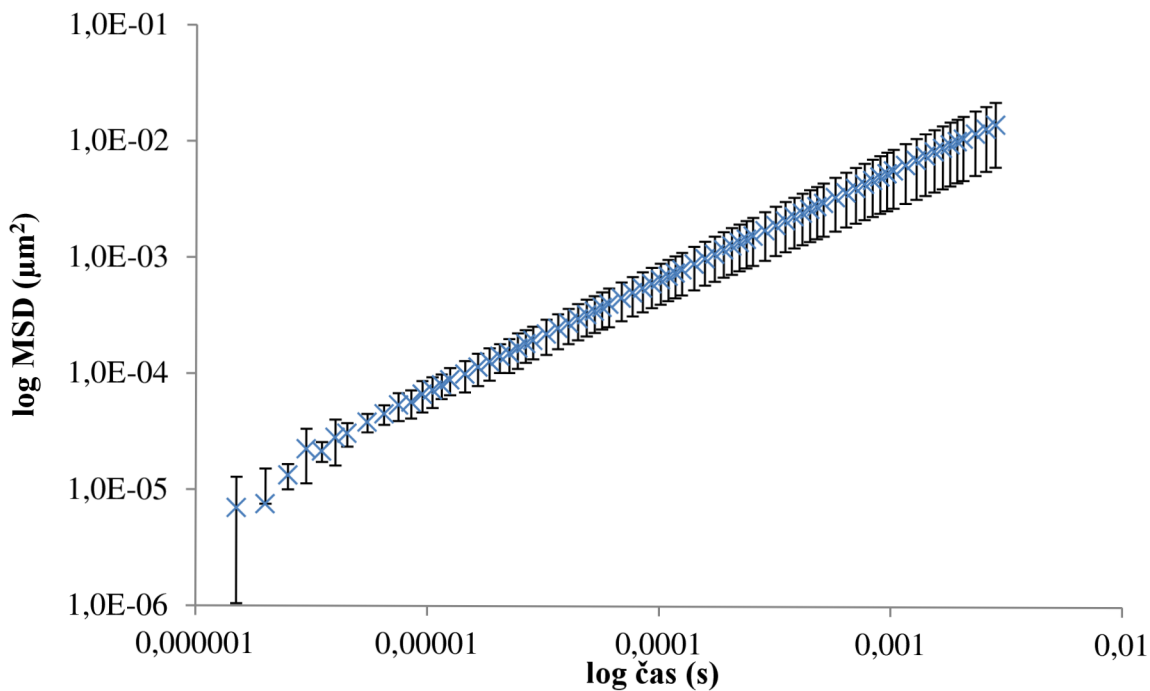
Graf 12: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikroeologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm pre teplotu 65 °C.



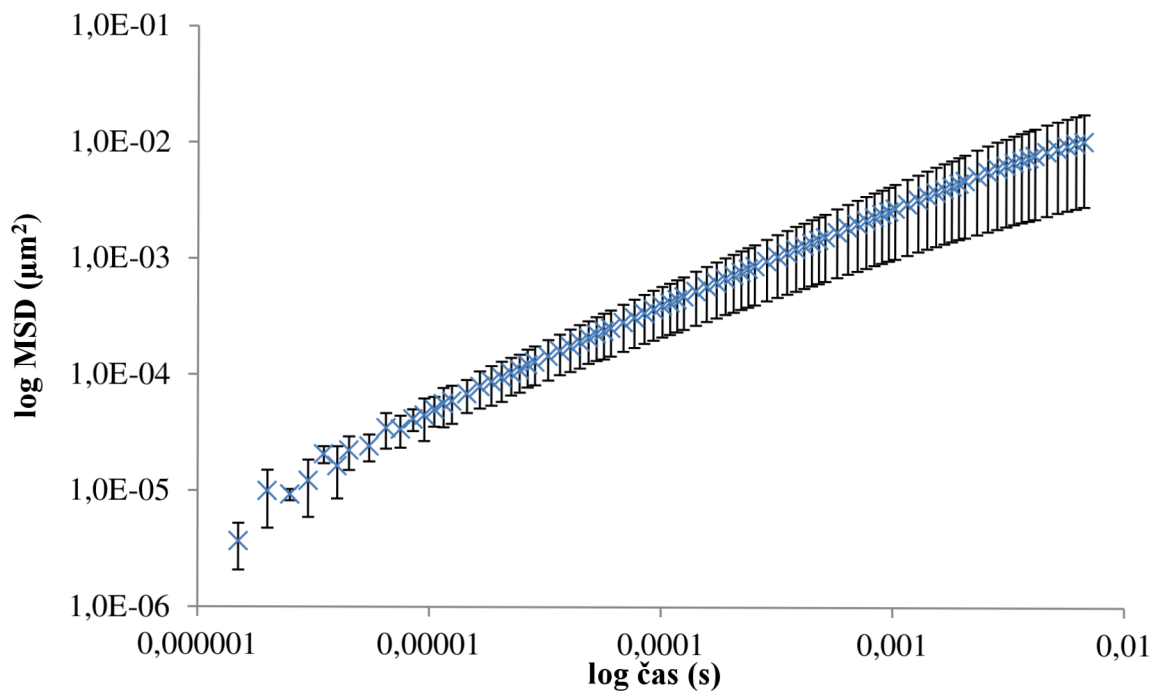
Graf 13: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikroeologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm pre teplotu 55 °C.



Graf 14: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikroeologických PS častíc o veľkosti 0,5 μm pre teplotu 45 °C.



Graf 15: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikreoreologických PS častíc o veľkosti $0,5 \mu\text{m}$ pre teplotu $35 \text{ }^\circ\text{C}$.



Graf 16: Graf znázorňujúci závislosť MSD na čase pre 0,05% roztok agarózy pri použití mikreoreologických PS častíc o veľkosti $0,5 \mu\text{m}$ pre teplotu $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Pre znázornenie priebehu gelácie i pomocou chybových úsečiek bol zvolený 0,05% roztok agarózy. Tento roztok bol vybratý náhodne, pretože pri zvyšných hmotnostných koncentráciách prebieha proces gelácie prakticky úplne rovnako. Na grafoch 9–15 môžeme pozorovať zväčšovanie chybových úsečiek v čase. Pre 0,05 % roztok sú badateľné veľké chybové úsečky v grafe 14, opäť pre teplotu 35 °C. Je to z toho dôvodu, že meraný roztok vytvoril pri tejto teplote veľmi heterogénny systém. Na týchto grafoch si môžeme ešte všimnúť, že jednotlivé grafy majú vždy iný rozsah hodnôt na ose x . Dá sa to odôvodniť tým, že znižovaním teploty dochádza k zvyšovaniu viskozity roztokov a mikrореologická PS častica, nachádzajúca sa v roztoku, sa dlhšie pohybuje v trajektórii svetelného lúča, na základe ktorého prebieha meranie.

7 ZÁVER

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo experimentálne stanovenie procesu gelácie na modelovom polymére pomocou DLS. Ako modelový polymér bola zvolená agaróza a používané boli polystyrénové častice.

Najskôr boli pripravené agarózové roztoky o rôznych hmotnostných koncentráciách a na základe rýchlosti vytvorenia gélu a jeho tuhosti boli vybrané konečné koncentrácie, ktoré boli podrobené mikroeologickému meraniu. Z týchto koncentrácií bola zvolená práve jedna, na ktorej bola premeraná nie len mikroeológia vzorku, ale aj zeta potenciál a veľkosť častíc. Pred tým však musela byť nájdená správna teplota, pri ktorej meranie prebehlo, pretože bolo nutné rozpustiť čiastočky agarózy a zároveň zabrániť gelácii študovaného roztoku.

Namerané hodnoty boli exportované do Excelu, boli spriemerované, vypočítané boli smerodajné odchýlky a difúzne koeficienty. Z týchto hodnôt boli zostrojené grafy závislosti MSD na čase, v ktorých je badateľný pokles MSD kriviek so znižujúcou sa teplotou. MSD krivky nám ukazujú intenzitu gelácie daného roztoku pri danej teplote. Pre 0,05% roztok agarózy bolo mikroeologické meranie vykonané za použitia mikroeologických PS častíc o troch veľkostiach. Bolo zistené, že veľkosť častíc nemá vplyv na priebeh gelácie. Roztok sa mení v gél vždy rovnako, dochádza iba k posunu MSD a tým k inej detekcii.

Okrem agarózových roztokov bola premeraná aj vzorka vody s mikroeologickými PS časticami. Vďaka tomuto meraniu boli vypočítané difúzne koeficienty pre všetky vzorky pri každej skúmanej teplote. Pri nízkych hmotnostných koncentráciách agarózy ako je 0,01% a 0,05% roztok je pozorovaný pokles difúzneho koeficientu so znižujúcou sa teplotou. Pri vyšších hmotnostných koncentráciách agarózy, a to 0,10 %; 0,05 % a 1,00 % je sledovaný pokles difúzneho koeficientu iba po určitú nízku teplotu a potom je zaznamenaný jeho nárast.

Táto práca obsahuje aj grafy závislosti MSD na čase s vynesými chybovými úsečkami. Z týchto grafov je badateľné, že so zvyšujúcim sa časom dochádza k zväčšovaniu chybových úsečiek, pretože znižovaním teploty sa roztok mení v heterogénny systém a dochádza k zvyšovaniu viskozity.

8 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

1. MOSCHAKIS, Thomas, Eric DICKINSON, Brent S. MURRAY a Thomas MOSCHAKIS. Microrheology and particle tracking in food gels and emulsions. *Current Opinion in Colloid* [online]. 2013, vol. 18, issue 4, s. 305-318 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1039/9781847557698-00303.
2. WAIGH, T A. Microrheology of complex fluids. *Reports on Progress in Physics* [online]. 2005-03-01, vol. 68, issue 3, s. 685-742 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1088/0034-4885/68/3/R04. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/003448-85/68/i=3/a=R04?key=crossref.13db41e971bf049d3528e867f566ccd9>
3. HNYLUCHOVÁ, Zuzana. *Mikroreologie ve studiu biopolymerních koloidů*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2012. 59 l. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
4. ORTEGA, Francisco, Hernán RITACCO a Ramón G. RUBIO. Interfacial microrheology: Particle tracking and related techniques. *Current Opinion in Colloid* [online]. 2010, vol. 15, issue 4, s. 237-245 [cit. 2014-11-16]. DOI: 10.1016/j.cocis.2010.03.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029410000300>
5. CICUTA, Pietro a Athene M. DONALD. Microrheology: a review of the method and applications. *Soft Matter* [online]. 2007, vol. 3, issue 12, s. 1449- [cit. 2014-11-16]. DOI: 10.1039/b706004c. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b706004c>
6. CARRINGTON, Steve. Dynamic Light Scattering (DLS) Microrheology: Taking Rheological Characterization to Extremes. *American Laboratory* [online]. 2013 [cit. 2014-11-22]. Dostupné z: <http://www.americanlaboratory.com/914-Application-Notes/144247-Dynamic-Light-Scattering-DLS-Microrheology-Taking-Rheological-Characterization-to-Extremes/>
7. Dynamic Light Scattering: Measuring the Particle Size Distribution. *LS instruments* [online]. 2014 [cit. 2014-11-22]. Dostupné z: http://www.lsinstruments.ch/technology/dynamic_light_scattering_dls/
8. BRADLEY, W., Stephen KEEN, Philipus J., Yacine HEMAR a Martin A.K. A Practical Review of Microrheological Techniques. In: *Rheology - New Concepts, Applications and Methods* [online]. InTech, 2013-02-13 [cit. 2014-11-24]. ISBN 978-953-51-0953-2. DOI: 10.5772/53639. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/rheology-new-concepts-applications-and-methods/a-practical-review-of-microrheological-techniques>
9. NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-675-3
10. Microrheology. *LS instrument* [online]. 2014 [cit. 2014-11-29]. Dostupné z: http://www.lsinstruments.ch/technology/diffusing_wave_spectroscopy_dws/microrheology/

11. JESENÁK, Karol. *Sól-gélové metody* [online]. 2005 [cit. 2014-11-24]. ISBN 80-223-2071-4. Dostupné z: <http://www.fns.uniba.sk/index.php?id=jesenak2005>
12. HUDÁK, Igor. *Vlastnosti gelů používaných ve fluidním inženýrství*. Brno, 2010. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=284-89. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství.
13. <http://vydavatelstvi.vscht.cz>. Vydavatelství VŠCHT [online]. [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/gelace.html
14. SMILEK, Jiří. *Studium reaktivity biopolymerů v gelové fázi*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2012. 94 l. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
15. POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 2001, 198 s. ISBN 80-708-0422-X.
16. KOLESA, Pavel. *Vliv polyelektrolytových biopolymerů na transport iontů* [online]. Brno, 2013 [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=817-77. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
17. HERZOG, Milan. *Vliv huminových kyselin na mobilitu iontových sloučenin*. Brno, 2013 [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: https://dspace.vutbr.cz/bitstream/handle/11012/31090/vliv_huminovych_kyselin_na_mobilitu_iontovych_sloucenin_Bc.Milan_Herzog.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
18. SCHOWALTER, William Raymond. *Mechanics of non-Newtonian fluids*. 1st ed. New York: Pergamon Press, 1978. ISBN 0080217788.
19. SUTTON, Sam, Neil L. CAMPBELL, Andrew I. COOPER, Mark KIRKLAND, William J. FRITH a Dave J. ADAMS. Controlled Release from Modified Amino Acid Hydrogels Governed by Molecular Size or Network Dynamics. *Langmuir* [online]. 2009, vol. 25, issue 17, s. 10285-10291 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1021/la9011058. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la9011058>
20. MOSCHAKIS, Thomas, Brent S. MURRAY a Eric DICKINSON. On the kinetics of acid sodium caseinate gelation using particle tracking to probe the microrheology. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2010, vol. 345, issue 2, s. 278-285 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.02.005. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979710001633>
21. MAHAFFY, R., C. SHIH, F. MACKINTOSH a J. KÄS. Scanning Probe-Based Frequency-Dependent Microrheology of Polymer Gels and Biological Cells. *Physical Review Letters* [online]. 2000, vol. 85, issue 4, s. 880-883 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1103/PhysRevLett.85.880. Dostupné z: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.85.880>

22. HEINEMANN, C. Tracer microrheology of γ -dodecalactone induced gelation of aqueous starch dispersions. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2004-01-22, vol. 55, issue 2, s. 155-161 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2003.09.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861703002686>
23. DASGUPTA, Bivash Ranjan. *Microrheology and Dynamic Light Scattering Studies of Polymer Solutions*. Massachusetts, 2004. Dissertation thesis. Harvard University.
24. OPPONG, Felix, Laurent RUBATAT, Barbara FRISKEN, Arthur BAILEY a John DE BRUYN. Microrheology and structure of a yield-stress polymer gel. *Physical Review E* [online]. 2006, vol. 73, issue 4, s. - [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1103/PhysRevE.73.041405. Dostupné z: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.73.041405>
25. Centrum materiálového výzkumu, [online], [cit. 28. 1. 2014], dostupné z <http://www.materials-research.eu/cz/laboratore/laborator-biokoloidu/stanovenivelikosti-a-naboje-casti>

9 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

9.1 Použité skratky

PTM	jednočasticová mikroreológia
VBPTM	videomikroreológia
TPM	dvojčasticová mikroreológia
DLS	dynamický rozptyl svetla
DWS	difúzna vlnová spektrometria
MSD	stredný kvadratický posun

9.2 Použité symboly

D	difúzny koeficient
r	d-rozmerná pozícia častice
τ	časový interval
a	polomer častice
η	viskozita
k_B	Boltzmannova konštanta
σ	napätie
E	modul pružnosti
T	teplota