



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

**OPTIMALIZACE OPTICKÝCH A TRANSPORTNÍCH
VLASTNOSTÍ HYDROGELŮ NA BÁZI PVA**

OPTIMIZATION OF OPTICAL AND TRANSPORT PROPERTIES OF PVA BASED HYDROGELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jan Zahrádka

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1553/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Jan Zahrádka**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Optimalizace optických a transportních vlastností hydrogelů na bázi PVA

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracovat aktuální literární rešerši se zaměřením na metody přípravy fyzikálně síťovaných hydrogelů na bázi PVA.
2. Na základě rešerše vybrat vhodnou metody přípravy gelů. Navrhnout a experimentálně otestovat úpravy podmínek gelace za účelem zvýšení transparentnosti získaných materiálů.
3. Na finálních hydrogelech připravených optimalizovanou procedurou provést základní fyzikálně–chemickou charakterizaci se zaměřením na mechanické, optické a transportní vlastnosti.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

Jan Zahrádka
student(ka)

Ing. Petr Sedláček, 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

Hlavním cílem této bakalářské práce je navrhnout a optimalizovat vhodnou metodu přípravy transparentních, fyzikálně síťovaných hydrogelů s manipulovatelnými transportními vlastnostmi. Jako modelový gelotvorný materiál byl zvolen polyvinylalkohol (PVA) síťovaný metodou cyklického mražení a rozmrazování. Z původně navržených tří mechanismů ovlivnění optických vlastností takto připravených PVA gelů byl na základě pilotních skriningových experimentů pro hlubší navazující analýzu vybrán vliv rychlosti mražení. Mechanické vlastnosti připravených hydrogelů byly analyzovány prostřednictvím reologie metodou amplitudového (*strain sweep*) testu. Vnitřní struktura byla vizualizována pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Optimalizovaná technika přípravy transparentních PVA gelů byla následně využita pro přípravu gelů s interpenetrovanou polyelektrolytovou komponentou (poly(styren sulfonát)). Metodou difúzního páru s metylenovou modří jako difúzní sondou bylo poté experimentálně ověřeno, že hybridní hydrogelová síť disponuje modifikovanými transportními vlastnostmi.

ABSTRACT

The main goal of this bachelor thesis is to design and optimize a suitable method for preparation of transparent physically crosslinked hydrogels with manipulable transport properties. Polyvinyl alcohol (PVA) crosslinked by cyclic freezing and thawing was chosen as the model gel-forming material. From the originally proposed three mechanisms of influencing optical properties of thus prepared PVA gels, the influence of freezing rate was selected on the basis of pilot screening experiments for a deeper follow-up analysis. The mechanical properties of prepared hydrogels were analyzed by rheology using strain sweep test. The internal structure was visualized by scanning electron microscopy (SEM). The optimized technique for preparation of transparent PVA gels was subsequently used for preparation of gels with an interpenetrated polyelectrolyte component (poly(styrene sulfonate)). It was then experimentally verified by diffusion pair method with methylene blue as diffusion probe that the hybrid hydrogel network has modified transport properties.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hydrogely, polyvinylalkohol, fyzikální síťování, transparentnost, reologie, difúzní pár

KEYWORDS

Hydrogels, polyvinylalcohol, physical crosslinking, transparency, rheology, diffusion couple

ZAHRÁDKA, Jan. *Optimalizace optických a transportních vlastností hydrogelů na bázi PVA*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123422>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Petr Sedláček.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
Jan Zahrádka

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Petru Sedláčkovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, cenné rady, čas a volnost při řešení komplikovaných úkolů počas tvorby této práce.

Dále bych chtěl poděkovat především Ing. Monice Trudičové za její vynaložený čas, ochotu a cenné rady v průběhu řešení experimentální části práce. Taktéž bych chtěl poděkovat paní Leoně Kubíkové a paní Sylvě Mihočové za pohotové řešení problémů spojených s prací v laboratoři. V neposlední řadě bych rád poděkoval celé své rodině za podporu, kterou mi poskytovala během celého studia

OBSAH;

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Gely.....	8
2.1.1	Vznik gelů	8
2.1.2	Klasifikace gelů	10
2.1.3	Vlastnosti gelů	10
2.1.4	Využití gelů	11
2.2	Hydrogely	11
2.2.1	Metody charakterizace optických vlastností hydrogelů	12
2.2.2	Metody charakterizace mechanických vlastností hydrogelů	14
2.2.3	Metody charakterizace reálné struktury hydrogelů	17
2.2.4	Metody charakterizace transportních vlastností hydrogelů	18
2.3	Polyvinylalkohol	21
2.3.1	Struktura	22
2.3.2	Výroba	22
2.3.3	Vlastnosti	23
2.3.4	Použití	24
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	25
3.1	Příprava transparentních hydrogelů na bázi PVA.....	25
3.1.1	Hydrogely připravované s organickými rozpouštědly	25
3.1.2	Hydrogely připravované ve vodném prostředí	27
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1	Použité chemikálie	29
4.2	Použité přístroje a zařízení	29
4.3	Příprava vzorků	29
4.3.1	Podmínky rozpouštění polyvinylalkoholu	29
4.3.2	Podmínky síťování – teplota mražení hydrogelů	29
4.3.3	Zásobní roztoky	30
4.3.4	Polyvinylalkoholové hydrogely s přídavkem DMSO	30
4.3.5	Polyvinylalkoholové hydrogely bez přídavku DMSO	31
4.4	Analýza vzniklých hydrogelů	31
4.4.1	Analýza transparentnosti PVA hydrogelů	31
4.4.2	Reologie – měření mechanických vlastností PVA hydrogelů	32

4.4.3	Strukturní analýza PVA hydrogelů	34
4.4.4	Difúzní experimenty	34
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	36
5.1	Pilotní test navržených metod přípravy transparentních PVA hydrogelů	36
5.1.1	Test PVA hydrogelů s obsahem organického rozpouštědla	36
5.1.2	Test rychlosti mražení na optické vlastnosti PVA hydrogelů	37
5.1.3	Test optických vlastností PVA hydrogelů s přidavkem kryoprotektantů	38
5.2	Vliv rychlosti mražení na charakter fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů	39
5.2.1	Charakterizace mechanické vlastností	39
5.2.2	Charakterizace vnitřní struktury	44
5.3	Ovlivnění transportních vlastností fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů přidavkem reaktivní komponenty	48
5.3.1	Charakterizace transportních vlastností	49
6	ZÁVĚR	52
7	POUŽITÁ LITERATURA	54
8	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	60
8.1	Seznam zkratk	60
8.2	Seznam symbolů	60
9	SEZNAM PŘÍLOH	62
10	PŘÍLOHY	63

1 ÚVOD

Hydrogely jakožto materiály sestávající z trojrozměrné sítě polymerních řetězců, které jsou uvnitř vyplněny vodou, vykazují unikátní vlastnosti nacházející široké aplikační uplatnění v různých odvětvích průmyslu, přičemž jejich materiálové kvality, a tedy i aplikační potenciál se neustále vyvíjí. S tím jsou spojeny stále větší nároky a požadavky kladeb na přípravu hydrogelů a modifikaci jejich neuspokojivých vlastností pro specifické aplikace. Vlastnosti se dají ovlivnit způsobem přípravy nebo inkorporováním další komponenty do struktury základní sítě. Výhodou takovýchto hybridních bikomponentních systémů je možnost zvlášť modifikovat strukturní a zvlášť reaktivní složku.

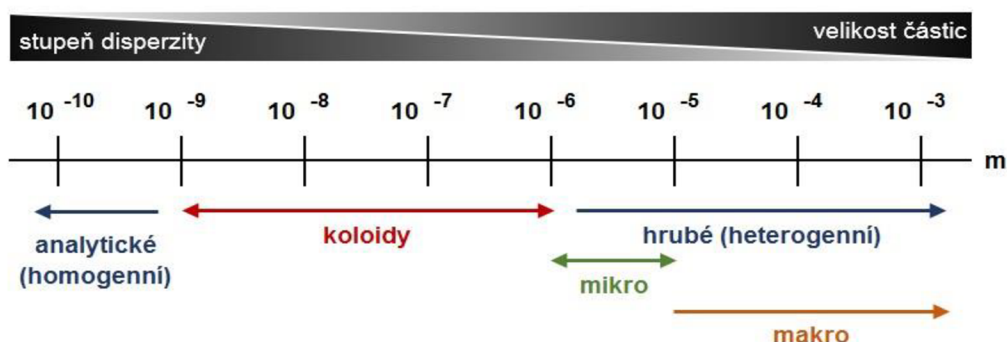
Tato bakalářská práce se zaměřuje na ověření využitelnosti polyvinylalkoholu (PVA) pro přípravu fyzikálně síťovaných hybridních polymerních sítí. Teoretická část bakalářské práce se proto věnuje obecnému přehledu metod fyzikálně-chemické analýzy hydrogelových systémů a také použitému materiálu pro základní polymerní prostorovou síť (polyvinylalkoholu). Polyvinylalkohol (PVA) byl použit jako modelový materiál pro tvorbu hydrogelů především na základě jeho širokému uplatnění v *biofriendly* aplikacích. Motivací pro experimentální část bylo posunout se od transparentních hydrogelů vytvořených chemickými síťovacími činidly (studovaných na pracovišti autora v předchozích absolventských pracích), k transparentním PVA hydrogelům, kterých by bylo docíleno cestou fyzikálního síťování. Proto byla tato bakalářská práce zaměřena na optimalizaci přípravy transparentních fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů, které mají možný aplikační jako hydrogelové základy v semi-interpenetrovaných polymerních sítích (semi-IPN). Proto je k této práci přistupováno ze třech různých materiálových pohledů, kterými jsou mechanické, strukturní a transportní vlastnosti připravených hydrogelů.

Pro zhodnocení mechanických vlastností PVA hydrogelů byla zvolena technika oscilační reologie, kdy je zkoumána deformační odezva materiálů, pokud je na ně působeno vnější mechanickou silou. Tato metoda může poskytnout informaci o viskoelastických vlastnostech, a tedy i o charakteru testované látky. Pro strukturní analýzu gelů byla vybrána metoda skenovací elektronové mikroskopie, kdy vnitřní struktura lyofilizovaných vzorků hydrogelů byla vizualizována a byly sledovány rozdíly v rámci porovnání gelů o různém složení nebo různých parametrech přípravy. Hlavní ambicí této práce bylo navrhnout a optimalizovat přípravu transparentní gelové PVA matrice coby strukturní a gelotvorné komponenty pro vývoj hybridních semi-IPN gelů s manipulovatelnými transportními vlastnostmi. Jako modelová komponenta pro modifikaci transportních vlastností gelů byl v souladu s předchozími experimentálními pracemi v rámci řešeného projektu zvolen poly(styren sulfonát) a coby difúzní sonda metylenová modř. Pro experimentální studium transportních vlastností byla zvolena metoda difúzního páru, při níž dochází k transportu difúzní sondy mezi dvěma gelovými difúzními prostředími, které se mohou lišit svým složením, strukturou příp. bariérovými schopnostmi. Cílem experimentální části práce bylo s využitím takto navržené metodiky ověřit, zda je možné fyzikálně síťované PVA gely využít jako gelotvornou a mechanické vlastnosti řídící komponentu semi-IPN hybridních gelů s manipulovatelnými transportními vlastnostmi.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Gely

Disperzní systémy jsou tvořeny přinejmenším dvěma složkami – disperzní fází (disperzním podílem) a disperzním prostředím. Některé disperzní systémy (klasifikace dle velikosti viz Obr. 1) obsahují částice pevné fáze, jejichž rozměry se pohybují v koloidním rozsahu 1 nm až 1 μm . Ty jsou dispergovány v kapalinách a jsou schopny vytvářet gely procesem gelace. Jedná se o souvislou prostorovou síť prostupující celým disperzním systémem. Disperzní podíl tvoří spojitou fázi stejně jako je tomu u disperzního prostředí. Samostatný pohyb disperzních částic není díky zesíťování možný. Gely díky této struktuře vykazují mechanické vlastnosti, které odpovídají vlastnostem látek v tuhém stavu i přes to, že tyto gely mají kapalně disperzní prostředí. Gelem jsou obvykle označovány systémy, které obsahují disperzní prostředí v kapalně formě a je pro ně možné použít i obecný název – lyogely [1–3].



Obr. 1 Přehled disperzních systémů [2]

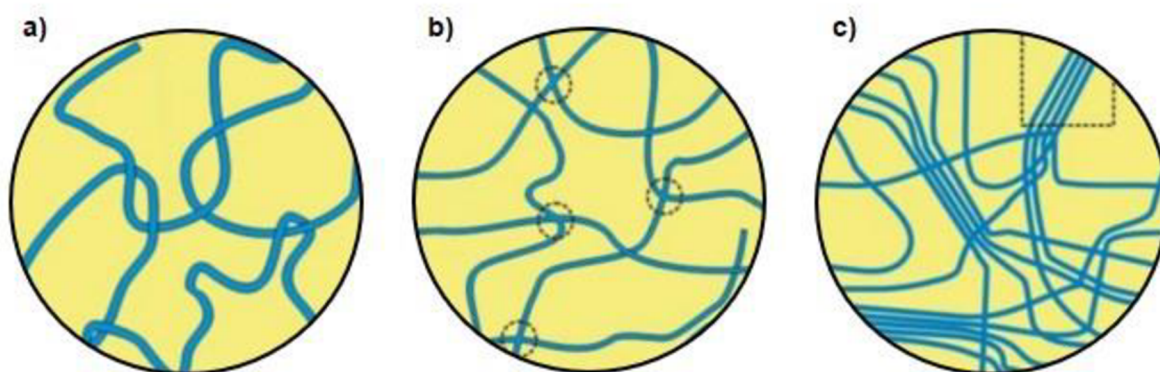
2.1.1 Vznik gelů

Proces, při kterém dochází ke vzniku gelů se nazývá gelace. Struktura gelu může být utvářena několika odlišnými způsoby. Makromolekulární řetězce mohou být spojovány buď fyzikálními interakcemi, chemickými interakcemi, anebo mohou vznikat cestou bobtnání již existujícího xerogelu. Při procesu gelace dochází zpočátku k rozvětvení polydisperzní prostorové sítě polymeru nazývané sol. Pokud rozvětvení polymerní sítě pokračuje, má to za následek postupné snižování rozpustnosti a zvětšování velikosti polymeru. Gelace nastává v momentě, kdy rozvětvený polymer přejde do nerozpustného stavu nekonečně rozvětvené struktury a tento kritický bod se nazývá bod gelace [2, 4, 5]. Gelace základní struktury může být provedena fyzikální nebo chemickou cestou, jak již bylo zmíněno výše. Dále bude rozebrán pouze fyzikální způsob síťování gelů, jelikož je pro tuto práci stěžejní.

2.1.1.1 Fyzikální síťování

Působením fyzikálních interakcí, jako jsou vodíkové můstky, Van der Waalovy a polární síly, dochází ke sdružování úseků polymerních řetězců a následně ke vzniku gel. Asociace se uskutečňuje v různých částech řetězce, ale netvoří se na koncových částech. Spoje těchto řetězců díky svým rozměrům, které jsou větší než u kovalentních vazeb, nesou název *uzlové* nebo *spojné oblasti* (Obr. 2 a). Na jednom řetězci se díky jeho délce může vyskytovat mnoho uzlových oblastí, ve kterých bude řetězec spojen s jiným řetězcem [2, 3, 6]. Tyto uzlové oblasti mohou být pevné i slabé. U pevných uzlů vykazují vzniklé gely vlastnosti podobné gelům, které jsou chemicky síťované. Jsou pevné a mechanicky odolné. Naopak slabé uzlové oblasti jsou

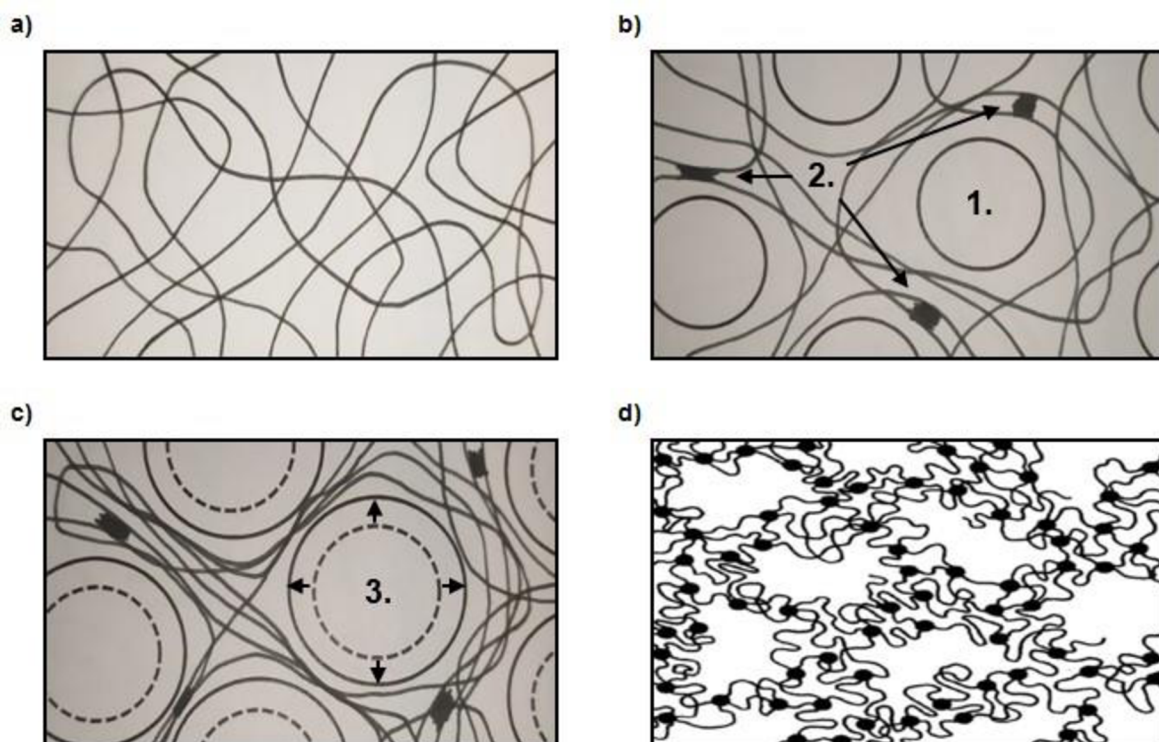
obsaženy v gelech, které mají nízkou mechanickou odolnost a rozpadají se při jejich větším namáhání [7]. Pokud gely vznikají při nepravidelném slučování makromolekul, nazývají se amorfní gely (Obr. 2 b). Pokud se makromolekuly uspořádávají rovnoběžně vedle sebe, dochází ke vzniku gelů s krystalickými oblastmi (Obr. 2 c). V průběhu stárnutí fyzikálně síťovaných gelů dochází v důsledku snižování Gibbsovy energie k reorganizaci struktury. Tento proces se nazývá zrání gelu a bývá doprovázen vylučováním rozpouštědla ze struktury gelu, čemuž se říká synerese [3]. Aby mohlo vůbec dojít ke spojení jednotlivých řetězců, musí dojít ke snížení afinity mezi rozpouštědlem a polymerní látkou. Toho lze docílit změnou fyzikálních podmínek [2]. Mezi tyto změny se řadí změna teploty, pH, iontové síly roztoku, anebo podporou asociace polymerních řetězců metodou cyklického mražení a rozmražení polymerního roztoku (tzv. technika freeze-thaw), jak je tomu také v předložené bakalářské práci.



Obr. 2 Struktura vysokomolekulárních gelů: a) gel s mechanickým propletením, b) amorfní gel, c) gel s krystalickými oblastmi [2]. Uzlové oblasti gelové sítě jsou naznačeny čárkovaně.

2.1.1.2 Metoda cyklického mražení a rozmražení

Gelace probíhající metodou *freeze-thaw* je řízena fázovou separací (Obr. 3 a, b), která nastává při mrznutí roztoku, kdy jsou k sobě jednotlivé polymerní řetězce přitlačovány narůstajícími krystaly pevné fáze rozpouštědla (v případě vodných roztoků krystaly ledu). Velikost krystalů se s navyšujícím počtem cyklů zvětšuje (Obr. 3 c). Vzniklé gely jsou poté složeny z pórů, které jsou obklopeny polymerní kostrou a vyplněny disperzním prostředím (Obr. 3 d). Vznikající struktura je s opakujícími se cykly zdokonalována ve smyslu narůstání počtu fyzikálních interakcí v asociované polymerní fázi. Fyzikální zesíťení ve formě vodíkových vazeb a krystalických polymerních oblastí posiluje stabilitu a mechanickou odolnost gelové struktury [8].



Obr. 3 Schéma gelace metodou freeze/thaw: a) roztok polymeru PVA (0. cyklus), b) fázová separace v průběhu 1. cyklu (1. krystal ledu, 2. krystalická oblast), c) fázová separace při dalších cyklech (3. narůstající krystal ledu), d) finální struktura PVA hydrogelu [9]

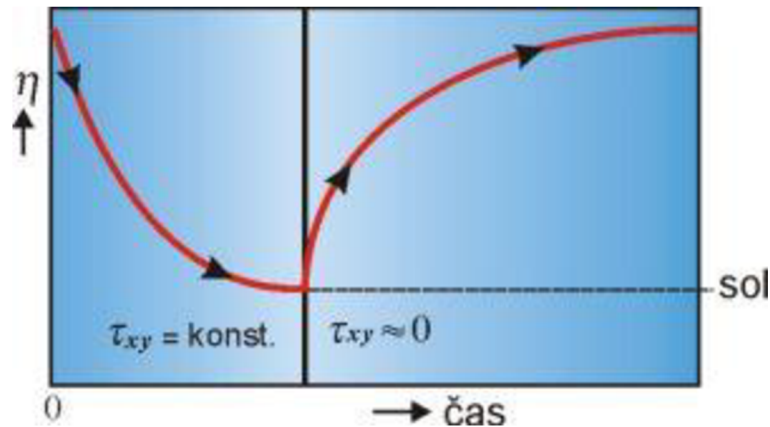
2.1.2 Klasifikace gelů

K dělení gelů může být přistupováno právě podle způsobu síťování (fyzikální vs. chemické gely). Ačkoliv gely, jak již bylo řečeno, většinou z hlediska nejmenšího rozměru disperzního podílu spadají do koloidní oblasti, mohou být taktéž tvořeny i mikroheterogenními systémy, jako je tomu např. u některých silikátů. Z tohoto pohledu lze poté gely klasifikovat dle velikosti disperzního podílu. Podobných způsobů, jak gely dělit je celá řada. Například se gely mohou klasifikovat dle polymerní složky, která je v nich obsažena, nebo podle rozpouštědla, ve kterém gelace probíhá. Organické polymery, které jsou buďto syntetického nebo přírodního charakteru. Nejčastěji se však dělí podle toho, jak se chovají ve stavu xerogelu. V tomto stavu, kdy jim bylo odstraněno disperzní prostředí, se tyto gely chovají reverzibilně nebo ireverzibilně. Gely reverzibilní, nebo jinak řečeno vratné, dokážou botnáním přecházet z xerogelu zpět do formy lyogelu. Při vysoušení do formy xerogelu ztrácejí disperzní prostředí a zmenšují svůj objem. Naopak gely ireverzibilní mají po vyušení téměř stejný objem jako původní lyogely, ale do původního stavu se nevrací ani při opětovném kontaktu s disperzním prostředím [2].

2.1.3 Vlastnosti gelů

Vlastnosti gelů, zejména ty mechanické, závisí na způsobu síťování a od toho se odvíjející pevnosti uzlů. Gelové systémy, ačkoliv je majorita jejich hmotnosti tvořena kapalným disperzním prostředím, vykazují, alespoň do určitých mezí, chování tuhých těles. Hranici tohoto chování reprezentuje hodnota tečného napětí tzv. kritické napětí. Pokud se gel deformuje pod touto hodnotou kritického napětí, vykazuje ony mechanické vlastnosti elasticky tuhého tělesa. Jakmile je ale namáhán napětím nad touto hodnotou, začne se chovat jako viskózní kapalina a ve vnitřní struktuře dochází k nevratnému poškození. Gelová síť v takovém prostředí ztrácí své elastické vlastnosti. [6, 2]. Některé gely, které jsou fyzikálně síťované

mohou vykazovat unikátní regenerační schopnosti. Při aplikaci síly v podobě prudkého třepání jsou narušeny slabé vazby mezi polymery a původní gel se převede do stavu solu. Pokud je však tento sol ponechán v klidu, pak se vazby po určité době začnou opět regenerovat a dochází k opětovné gelaci. Tomuto jevu se říká tixotropie (Obr. 4). Mohou také vznikat gely, jež nemají stejnou strukturu a vlastnosti, jako měly gely původní. To je způsobeno různou pevností uzlů, které jsou obsaženy uvnitř systému. Při namáhání se naruší pouze ty slabé vazby a systém se rozpadne na velké kusy [2].



Obr. 4 Časová závislost zdánlivé viskozity při tixotropním chování [2]

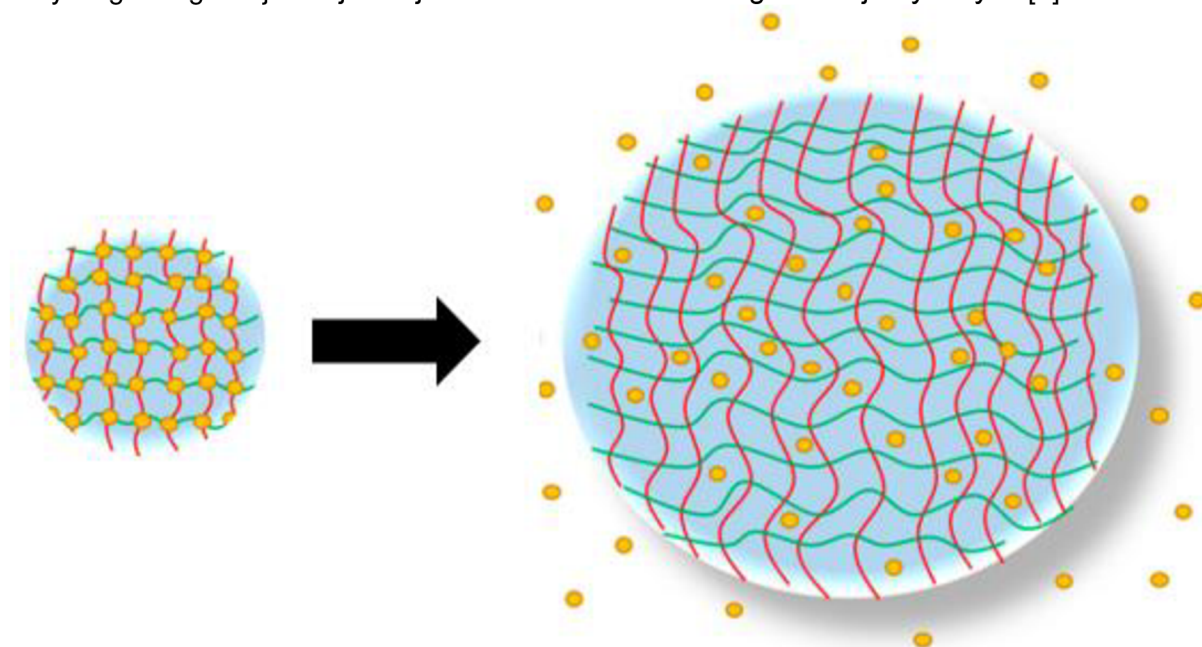
2.1.4 Využití gelů

Praktické využití specifických vlastností gelů, popřípadě samotného procesu gelace je velice široké. Gely jsou široce využívány v potravinářství, farmacii, lékařství, biologii a v mnoha dalších průmyslových odvětvích [2]. Během posledních let se dostávají do popředí tzv. inteligentní gely, konkrétně tedy hydrogely, které jsou schopné na změnu základního stavu adekvátně reagovat. Mohou být použity jako scaffoldy pro řízenou dopravu léčiv, nebo například jako čočky s řízeným zatemňováním podle intenzity světla [10, 11].

2.2 Hydrogely

Hydrogely bychom mohli charakterizovat jako gely, ve kterých se nachází voda jako disperzní prostředí. Mají úžasnou schopnost zadržovat velké množství vody a jsou dobře propustným materiálem. Autoři Khare a Peppas navrhli strukturální model, ve kterém naznačili přítomnost vody, která se nachází v jakémkoli hydrogelu, ve třech možných třídách. Pokud suchý hydrogel začne absorbovat vodu, první molekuly vody vstupující do sítě polymeru hydratují nejpolarnější hydrofilní skupiny, a to vede k tvorbě primárně vázané vody. Tato skutečnost vede k tomu, že celá struktura začne bobtnat a dochází k tomu, že hydrofobní struktury se také dostanou do kontaktu s vodou a začnou s ní interagovat. To vede k tvorbě hydrofobně vázané vody, která se nazývá jako sekundárně vázaná voda. Takto navázané množství vody se někdy nazývá jako celkově vázaná voda. Hydrogel je následně schopný přijmout další vodu, a to díky osmotické síle, která směřuje k nekonečnému ředění. Proti tomuto dodatečnému bobtnání působí samotné zesíťování, což se projevuje elastickou retrakční silou. Takto dosáhne hydrogel rovnovážného stavu nabobtnání. Přídavná bobtnací voda, která je pohlcena po iontových, polárních a hydrofobních skupinách, se nazývá jako voda volná nebo objemová. Předpokládá se, že tato voda vyplňuje prostor mezi řetězci, nebo je uvězněna uvnitř velkých pórů, makropórů či dutin. Hydrogely mohou být připraveny z polymerů přírodních nebo syntetických, a podle toho vykazují charakteristické vlastnosti.

Mezi důležité vlastnosti hydrogelů se řadí jejich také schopnost podléhat resp. odolávat dezintegraci a rozpouštění. Ta se odvíjí od povahy a složení hydrogelu. Biodegradabilní hydrogely obsahují biochemicky labilní vazby, díky čemuž nacházejí uplatnění v aplikacích, jako jsou tkáňové inženýrství, hojení ran nebo inkapsulace léčiv (Obr. 5). Tyto labilní vazby mohou být obsaženy přímo v samotném polymeru, nebo ve vazbách použitých k zesíťování. Tyto vazby se za fyziologických podmínek mohou enzymaticky nebo chemicky narušit, a hydrogel degraduje. Nejčastějším mechanismem biodegradace je hydrolýza [4].



Obr. 5 Bobtnání hydrogelu s následným uvolněním inkorporovaného léčiva [12]

Dalším důležitým charakteristickým znakem hydrogelů je jejich biokompatibilita. Hydrogel samotný a produkty, které vznikají při jeho degradaci, by neměly být toxické. Zároveň se vyžaduje, aby byly kompatibilní s imunitním systémem. V ideálním případě by se vzniklé degradační produkty měly metabolizovat na neškodné metabolity, nebo by je mělo být možné vyloučit filtrací přes ledviny. Díky hydrofilnímu povrchu jsou hydrogely obecně dobře biokompatibilní. Jejich povrch má při kontaktu s tělními tekutinami nízkou volnou mezifázovou energii, a to má za následek téměř nulovou tendenci přilnutí proteinů a buněk na tento povrch. Kromě toho hydrogely pro svou měkkou strukturu nedráždí okolní tkáň. Biokompatibilita je charakteristická pro přírodní polymery a většinou schází polymerům, které mají syntetický charakter [4, 13].

2.2.1 Metody charakterizace optických vlastností hydrogelů

Mezi základní metody, které slouží k charakterizaci hydrogelových systémů, se řadí optické metody. Jedná se o fyzikální metody, které jsou založeny na interakci hmoty s elektromagnetickým zářením, konkrétně na analýze elektromagnetického záření, jenž je vzorkem absorbováno nebo emitováno, případně jeho hmotou prochází [14]. Název optické metody má svůj původ v historii, kdy pro analytické potřeby byla využívána pouze viditelná (VIS) složka elektromagnetického záření [15].

2.2.1.1 UV-VIS spektrofotometrie

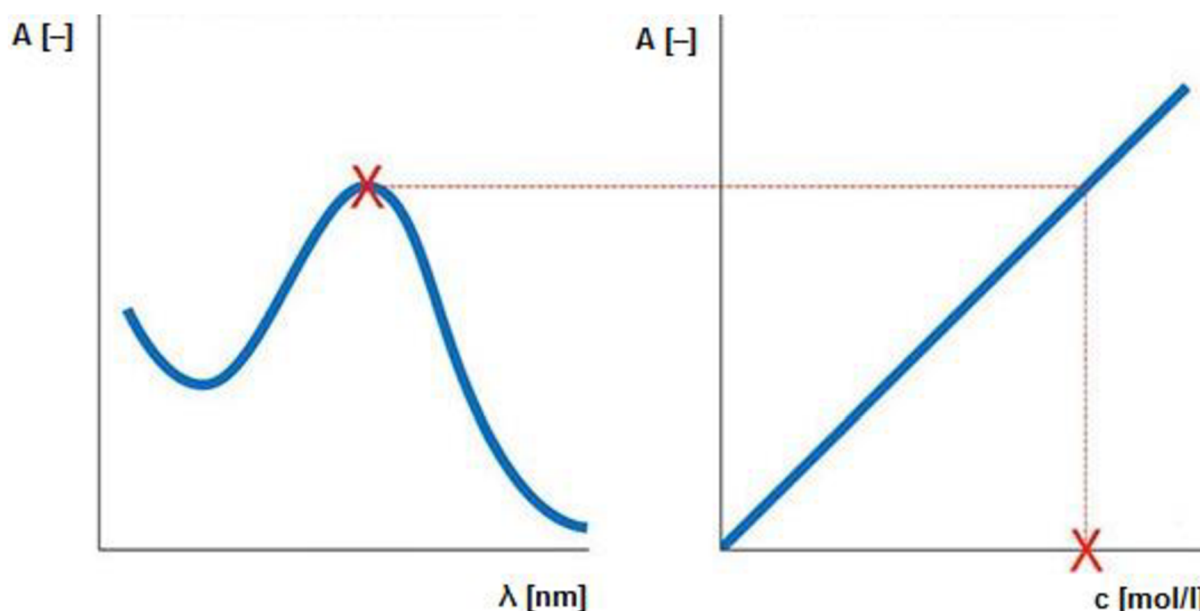
UV-VIS spektrofotometrie se řadí mezi fyzikálně-chemické metody. Konkrétně spadá pod molekulovou absorpční spektrometrii. Základem UV/VIS spektrofotometrie je absorpce

elektromagnetického záření v rozsahu ultrafialové (190–400 nm) a viditelné oblasti (400–780 nm) zředěnými roztoky molekul. Principem metody je měření energie, kterou vzorek při průchodu záření absorbuje, přičemž absorpce zapříčiní změnu elektronového stavu dané molekuly. Absorbance A [–] je charakterizována jako záporný dekadický logaritmus hodnoty transmittance T [–], což je vlastně propustnost dané látky pro záření. Pokud necháme na vzorek dopadat monochromatické záření, tak v důsledku absorpce poklesne původní zářivý tok dopadajícího paprsku ϕ_0 [W] na nižší hodnotu ϕ [W]. Tento vztah je vyjádřen rovnicí (1).

$$A = -\log T = -\log\left(\frac{\phi}{\phi_0}\right) \quad (1)$$

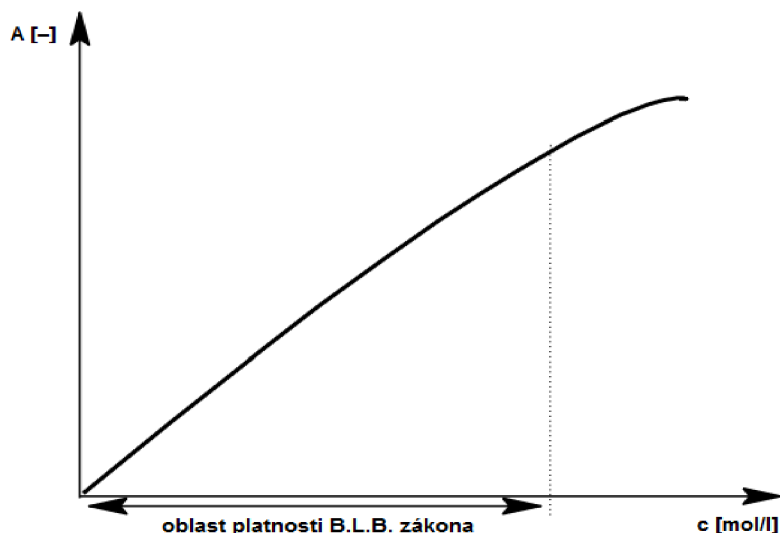
Závislost absorbance na molárním extinkčním koeficientu ε_λ [$\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] dané látky, tloušťce květy l [cm] a koncentraci c [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] je matematicky vyjádřena Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem, který je vyjádřen rovnicí (2) (zkráceně Lambert-Beerovým zákonem či B.L.B. zákonem). Této závislosti se využívá ve většině experimentů a obvykle se využívá metoda kalibrační křivky (Obr. 6) [15 – 17].

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l \quad (2)$$



Obr. 6 Graf závislosti absorbance na vlnové délce a graf kalibrační křivky, v kterých jsou znázorněny závislosti v B.L.B. zákoně [18]

Výsledkem měření jsou získána spektra, jež jsou analyzovaná při vzbrané vhodné vlnové délce nebo v celém snímaném rozsahu. Jedná se o absorpční spektra, nebo spektra závislosti transmittance na vlnové délce. Použití B.L.B. zákona je omezeno pouze na zředěné roztoky, u nichž je koncentrace nižší než $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, protože u vyšších koncentrací se začíná měnit extinkční koeficient dané látky (graf není lineární; Obr. 7), a tudíž se nedá použít jako konstantní materiálový koeficient [17].



Obr. 7 Graf závislosti absorpance na koncentraci znázorňující lineární oblast použitelnou pro měření [15]

2.2.2 Metody charakterizace mechanických vlastností hydrogelů

Jak už bylo zmíněno, navzdory vysokému relativnímu obsahu kapalného disperzního prostředí hydrogely vykazují mechanické vlastnosti blízké pevným látkám. Další klíčový pohled charakterizaci hydrogelů tudíž představuje analýza jejich mechanických vlastností. Ty mohou být ovlivněny metodou síťování, koncentrací polymerní sítě v roztoku nebo koncentrací síťovacího činidla. Mechanické vlastnosti samy o sobě úzce souvisí s ostatními užitnými vlastnostmi gelů, protože koncentrace polymeru a hustota síťování ovlivňuje nejen deformační charakter, ale například také rychlost difúze v gelech. Proto se v této práci separátně věnujeme nejen mechanické, ale také transportní charakterizaci studovaných gelů [19].

2.2.2.1 Reologie

Reologie je samostatný vědní obor zabývající se studiem mechanických vlastností materiálů (pevných i kapalných) a to konkrétně jejich odezvou, pokud je na ně působeno vnější mechanickou silou. Název reologie pochází ze dvou řeckých slov – *rheos* (tok nebo také řeka) a *logos* (věda) [20]. Mezi hlavní postavy, jež stály u zrodu tohoto vědního oboru jsou Markus Reiner, který se jako první zabýval touto tematikou a Eugene C. Bingham, který roku 1929 založil reologickou společnost „The Society of Reology“ [21].

Na těleso může být nahlíženo jako na ideální (newtonskou) kapalinu, jejíž deformační chování můžeme vyjádřit vztahem pro Newtonův zákon viskozity, nebo pružné (hookovské) těleso, které se řídí Hookovým zákonem, což nám určuje limitní charakter chování reálných těles [22, 23].

Ideální (newtonská) kapalina – Newtonův zákon

Tento zákon je pojmenován podle anglického fyzika (matematika, astronoma, ...) sira Issaca Newtona a popisuje jednoduchý lineární vztah chování toku tekutin, který je popsán v rovnici (3).

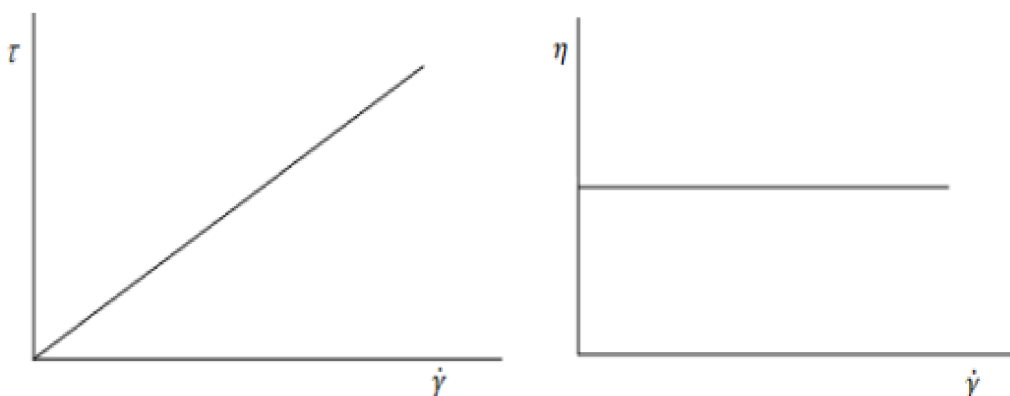
$$\tau = \eta \cdot \frac{dv}{dx}, \quad (3)$$

kde je vyjádřeno smykové napětí τ [Pa]. To je závislé na dynamické viskozitě η [Pa·s; starší označení Poise (1 P = 0,1 Pa·s)] a gradientu rychlosti [s^{-1}], který je kolmý ve směru na rychlost. Dynamická viskozita je pro newtonské kapaliny konstantou pro zvolenou teplotu, a proto je

smykové napětí přímo úměrné smykové rychlosti [24]. Kromě dynamické viskozity se u ideálních kapalin vyskytuje také kinematická viskozita ν [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$] a je vyjádřena pomocí rovnice (4).

$$\nu = \frac{\eta}{\rho}, \quad (4)$$

kde je podíl dynamické viskozity η a hustoty kapaliny ρ [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$]. Viskozita je pro ideální kapaliny při dané teplotě a tlaku konstantou a popisuje její vnitřní tření (Obr. 8) [25, 26].



Obr. 8 Newtonská kapalina – toková křivka (vlevo) a viskozitní křivka (vpravo) [25]

Pokud viskozita není konstantní, mluvíme o tzv. neneutronských kapalinách a ty se neřídí podle Newtonova viskozitního zákona. Viskozita se mění v závislosti na použitém smykovém napětí, smykové rychlosti a čase [25].

Pružné (hookovské) těleso – Hookův zákon

Tento zákon byl popsán anglickým fyzikem Robertem Hookem. Popisuje ideálně pevné látky, které se působením sil (tahem, tlakem) ideálně pružně deformují. Platí pro ně vztah popsany v rovnici (5).

$$\sigma_n = E \cdot \varepsilon, \quad (5)$$

kde je vyjádřeno normálové napětí σ_n [Pa]. To je závislé na konstantě úměrnosti, nazvané jako Yongův modul pružnosti (modul pružnosti v tahu; materiálová konstanta) E [Pa] a relativní prodloužení ε [-]. Pro pružnou deformaci tahem je normálové napětí přímo úměrné relativnímu prodloužení. Při relativním prodloužení délky dochází zároveň k relativnímu zkrácení [27].

2.2.2.2 Viskoelastické látky

Většina reálných materiálů nevykazuje ideální chování, takže je nemůžeme přímo popsat Newtonovým nebo Hookovým zákonem. Mluvíme tedy o viskoelastických látkách. Pokud na ně budeme působit silou, budou částečně vykazovat obojetný charakter – kombinací chování ideální kapaliny a ideální pevné látky současně, a proto se dají popsat viskózními i elastickými parametry [23]. Pokud aplikujeme napětí na elastické materiály, je deformace závislá pouze na velikosti použitého napětí. U viskózních látek se při působení napětí deformace lineárně zvyšuje, a to s určitou specifickou rychlostí [6]. Jelikož se některé materiály deformují velice pomalu, používá se tzv. Debořino číslo, které nám vyjadřuje, že některé materiály se mohou chovat jako kapaliny, pokud na ně nahlížíme dostatečně dlouhou dobu.

$$D_e = \frac{\lambda}{\theta}, \quad (6)$$

Debořino číslo D_e vyjadřuje podíl charakteristického času materiálu λ (relaxační čas; vyjadřuje určitou tvarovou paměť materiálu) a času pozorování θ , během kterého působíme na materiál silou. Toto číslo nabývá hodnot od nuly do nekonečna. Materiály s hodnotou okolo nuly se jeví jako dokonale tekoucí kapaliny, a naopak pro hodnoty blízké nekonečnu se materiály jeví jako dokonale tuhá tělesa [6, 28].

Mezi viskoelastické látky můžeme zařadit v podstatě všechny látky, ale typické jsou především polymery a jejich různé disperzní formy, například polymerní roztoky a gely. Pro měření viskoelastických vlastností těchto materiálů se často používají oscilační testy a měření se provádí na přístrojích zvaných reometry [28, 29].

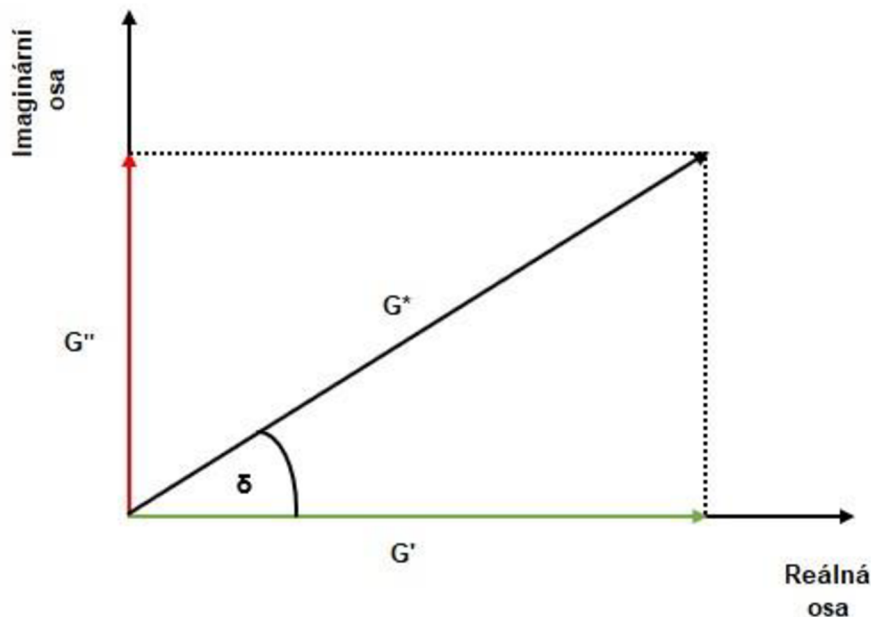
2.2.2.3 Reologické parametry – komplexní modul a ztrátový úhel

Vyhodnocením oscilačních měření jsou získány parametry jako jsou komplexní modul G^* [Pa] a ztrátový (fázový) úhel δ [°]. Obě tyto veličiny spolu popisují viskózní a elastické chování látek a jsou závislé na aplikované frekvenci a teplotě [30]. Komplexní modul, popsáný rovnicí (7), je komplexní číslo, které se skládá ze složky reálné (vratné) a složky imaginární (nevratné), a udává informaci o rigiditě vzorku, tj. celkové odolnosti vůči deformaci bez ohledu na její charakter (elastická vs. viskózní). Elastická složka (paměťový modul) G' [Pa] je reálnou složkou, naproti tomu viskózní složka (ztrátový modul) G'' [Pa] je reprezentována složkou imaginární (Obr. 9). Vztah mezi nimi se dá vyjádřit pomocí rovnice (8).

$$G^* = G' + i \cdot G'', \quad (7)$$

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'}, \quad (8)$$

kde i značí imaginární jednotku. Ztrátový úhel může nabývat hodnot od 0°, což je charakteristické pro ideální pevné látky až po 90°, kdy se látky chovají jako ideální kapaliny. Oblast mezi těmito hodnotami je charakteristická pro viskoelastické látky a hranice 45° nám tuto oblast dělí na tělesa s převahou elastické složky (tzv. *solid-like*, hodnoty od 0° do 45°) a na tělesa s převahou viskózní složky (tzv. *liquid-like*, hodnoty od 45° do 90°) [30, 31].



Obr. 9 Zobrazení složek viskoelastických modulů [32]

2.2.3 Metody charakterizace reálné struktury hydrogelů

Abychom mohli hydrogely charakterizovat z hlediska vnitřní struktury, případně realizovat strukturní mapování jejich fyzikálních vlastností, je vhodné využít mikroskopické techniky. Vzhledem k reálné velikosti těchto systémů je vhodné použít skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) nebo transmisní elektronovou mikroskopii (TEM). Ovšem před použitím těchto technik musíme vzorek zbavit rozpouštědla, a to například lyofilizací [4, 33].

2.2.3.1 Elektronová mikroskopie

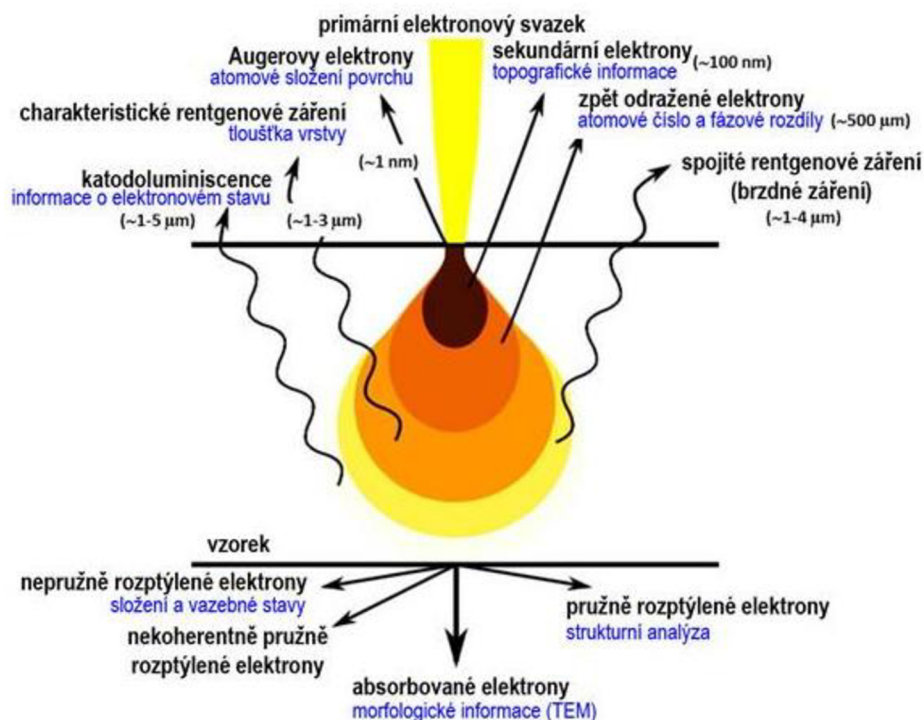
Elektronová mikroskopie je klíčová technika ultrastrukturní analýzy, která se v současnosti hojně využívá v různých vědeckých i průmyslových odvětvích. Od klasické světelné mikroskopie se liší použitým zobrazovacím médiem. Světelný mikroskop využívá fotony, naopak elektronový mikroskop využívá urychlené elektrony. Ty mají oproti fotonům mnohem menší vlnovou délku, což zvyšuje rozlišení metody. Elektrony vznikají na katodě a ve směru k anodě jsou urychlovány urychlovacím napětím díky čemuž nabydou velkého množství kinetické energie [34]. Celé měření musí probíhat ve vakuu, aby elektrony neinteragovaly s jinými molekulami nebo sami se sebou. Optické čočky jsou nahrazeny elektromagnetickými čočkami, které fokusují svazek elektronů na určité místo se zkoumaným vzorkem. Při interakci elektron-vzorek dochází ke vzniku signálu, který je počítačem vyhodnocen a výsledný obraz je zobrazen prostřednictvím obrazovky. S dobře korigovaným vyhodnocovacím systémem elektronového mikroskopu a dobrými vstupními podmínkami může být dosaženo rozlišení až 50 pm [35, 36].

2.2.3.2 Skenovací elektronová mikroskopie

Roku 1931 spatřil světlo světa první elektronový mikroskop. Jednalo se o transmisní elektronový mikroskop. Na ten skenovací (skenovací elektronová mikroskopie, SEM) bylo nutné vyčkat až do roku 1938. V tomto roce se povedlo německému fyzikovi Manfredovi von Ardenne popsat (jak teoreticky, tak prakticky) princip SEM a je považován za jeho vynálezce i přes fakt, že ho fyzicky nesetřil. To se povedlo v roce 1942 americkému vědci V. K. Zworykinemovi. Ten vynalezl detektor sekundárních elektronů (fotonásobič), který byl pro tuto analýzu stěžejní [37].

Princip metody SEM spočívá v zobrazování povrchových struktur poté, co vzorek interaguje s primárním svazkem elektronů, který ze vzorku vyrazí elektrony o různých hodnotách energií (Obr. 10). Ty jsou detekovány na fotonásobiči, kde je intenzita signálu kaskádovitě zesílena a následně převedena do viditelného obrazu na monitoru. Fokusovaný primární svazek elektronů skenuje vzorek bod po bodu v síťovitém systému – rastru. Takto můžeme získat informace o jeho povrchové vrstvě, nebo řezu ve vzorku. Mezi další možné využití SEM patří zjištění rozměrů částic či pórů, prvková analýza nebo elektrická vodivost [38 – 40].

Hydrogely nemohou být díky svému vysokému obsahu vody měřeny pomocí SEM v nativním stavu, musí se vysušit. Pokud se to udělá klasickou cestou, může docházet k narušování vnitřní struktury hydrogelu, popřípadě změně vlastností, které nativní hydrogel má. Pro měření v hydratovaném stavu se používají kryoSEM techniky. Odstranění vody je však pouze jedna z úprav, které vzorek čekají. Před samotným měřením musí dále projít například fixací, čištěním a většina vzorků hlavně pokovením, kvůli zajištění vodivosti nezbytné pro požadovaný kontrast [37].

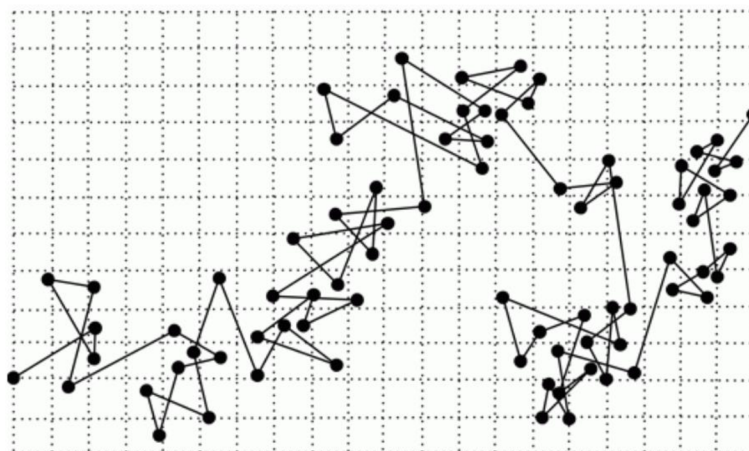


Obr. 10 Schéma interakce primárního elektronového svazku se vzorkem s následným uvolněním elektronů/zářením o různých signálech, které nesou informace o vzorku. Pokud je vzorek dostatečně tenký, některé elektrony projdou (typické pro STEM) [41]

2.2.4 Metody charakterizace transportních vlastností hydrogelů

2.2.4.1 Difúze

Difúze je projevem Brownova pohybu (Obr. 11), kdy se v navenek nehybné soustavě přesouvají částice, které se snaží přesunout z oblasti koncentrovanější do oblasti s nižší koncentrací. Celý proces se uskutečňuje bez přesně daných prostorových drah, a právě tento náhodný proces přispívá v důsledku k vyrovnání koncentrace v systému. Tudíž v konečném – rovnovážném – stavu jsou částice rozptýleny v celém objemu a nedochází k jejich častému shlukování [42].



Obr. 11 Schéma Brownova pohybu – děj probíhající v prostoru, zde však zachycený průmět do jedné roviny [43]

Rychlost samotné difúze může být ovlivněna změnou počátečních podmínek, které jsou pro ni stěžejní. Jedná se o velikost částic, teplotu a vlastnosti prostředí, v němž má být difúze uskutečněna. Difúze může probíhat ve všech prostředích (kapaliny, plyny a pevné látky), ale bude se u nich výrazně měnit právě zmíněná rychlost šíření částic. V plynech, kde částicím nebrání nic v pohybu se rychlost difúze uskutečňuje řádově $10 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. V kapalinách se rychlost difúze pohybuje řádově kolem $0,05 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$ a u pevných látek jsou projevy tohoto pohybu minimální, s rychlostí pouze okolo $10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$, protože částice jsou pevně vázané v krystalové mřížce a mohou se pohybovat („přeskakovat“) pouze na vedlejší volná místa [44]. Rychlost difúze v roztocích polymerů se pohybuje mezi rychlostmi v kapalinách a rychlostmi v pevných látkách. Samotná rychlost může být hodně ovlivněna nehomogenitou systému, kdy je rychlost ovlivněna především velikostí koncentračního gradientu. Hnací silou difúze v nehybné fázi je rozdíl chemického potenciálu, potažmo koncentrace složky ve dvou místech systému, mezi kterými tento děj probíhá. Při konstantní teplotě a tlaku se obecně uvádí, že maximální práce dw , která musí být jiná než objemová, je rovna změně chemického potenciálu $d\mu$. Uskutečňuje se to při transportu jednoho molu látky z místa o chemickém potenciálu μ na místo s chemickým potenciálem, jehož hodnota je rovna $\mu + d\mu$. V systému, kde je chemický potenciál funkcí prostorové souřadnice x , dostáváme rovnici (9).

$$dw = \left(\frac{\partial\mu}{\partial x}\right)_{p,T} dx, \quad (9)$$

pokud ovšem dosadíme tento vztah do obecného vyjádření práce, dostaneme rovnici (10).

$$dw = -Fdx, \quad (10)$$

tento vztah lze interpretovat jako sílu, která působí na 1 mol částic. Tato síla F působí v opačném směru, než je tomu u gradientu chemického potenciálu.

$$F = -\left(\frac{\partial\mu}{\partial x}\right)_{p,T} \quad (11)$$

Síla vyjadřuje pouze tendenci částic se spontánně rozptýlovat což je následkem druhého termodynamického zákona a systém se tím pádem snaží dostat do stavu s nejvyšší entropií, čímž dospěje do stavu, ve kterém bude mít nejmenší vnitřní energii [45].

2.2.4.2 Fickovy zákony

V roce 1855 se německému lékaři a fyziologovi Adolfu E. Fickovi povedlo formulovat matematický aparát difúze, dnes na jeho počest označované jako tzv. Fickovy zákony. Zjistil, že pohyby, které se uplatňují při difúzi (neuspořádaný pohyb molekul) jsou analogické pohybu molekul při vedení tepla. První Fickův zákon představuje rychlost přenosu látky difúzí, která je úměrná gradientu koncentrace v určitém místě. Dle druhého Fickova zákona je změna koncentrace v určitém místě a její rychlost, způsobena difúzí, a ta je úměrná koncentračním gradientem v tomto místě. Konstanta úměrnosti je označována jako difúzní koeficient D [$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$] a vyjadřuje počet molů dané složky, která projde jednotkovou plochou za jednotku času při jednotkovém gradientu koncentrace složky [46].

První Fickův zákon

Pokud se soustava nachází ve stavu, kdy je konstantní koncentrační gradient, poté v ní probíhá tzv. stacionární difúze, pro kterou byl odvozen první Fickův zákon. V tomto případě je koncentrace funkcí prostorové orientace, času a difúzní tok \vec{J} [$\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$] je úměrný koncentračnímu gradientu $\text{grad } c$ [$\text{mol}\cdot\text{m}^{-4}$].

$$\vec{J} = -D \cdot \text{grad } c = -D \cdot \nabla c \quad (12)$$

Difúzní tok má zde charakter vektorové veličiny a odpovídá množství látky, které je přeneseno přes jednotkovou plochu za jednotku času. Stacionární difúze je poháněna koncentračním gradientem, ale samotná difúze probíhá proti tomuto gradientu [47]. Molekuly se během samotného difúzního transportu pohybují z místa s vyšší koncentrací do místa s nižší koncentrací, a proto se v rovnici objevuje záporné znaménko.

Pokud by stacionární difúze probíhala ve směru jedné z os (např. osy x), lze předešlou rovnici (12) upravit na tvar, který bude vhodnější [46]:

$$\vec{J}_x = -D \cdot \left(\frac{\partial c}{\partial x} \right). \quad (13)$$

Druhý Fickův zákon

Druhý Fickův zákon platí pro nestacionární difúzi a vyjadřuje změnu koncentrace látky, která difunduje systémem, v čase. Obecné vyjádření druhého Fickova zákona je popsáno rovnicí (14).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \text{div}(D \cdot \text{grad } c) = D \cdot \text{div grad } c \quad (14)$$

pokud $D \neq D(c)$, tak platí druhá část rovnice (14).

Rovnice (14) není závislá na přesně zvoleném souřadnicovém systému, tudíž může být vyjádřena v různých podobách. Pokud však transformujeme souřadnicový systém, můžeme tím docílit zjednodušení celého matematického popisu soustavy. Například, pokud bude nestacionární difúze probíhat ve směru osy x , lze rovnici (14) upravit na tvar:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{1}{A} \frac{\partial A}{\partial x} \frac{\partial c}{\partial x} \right), \quad (15)$$

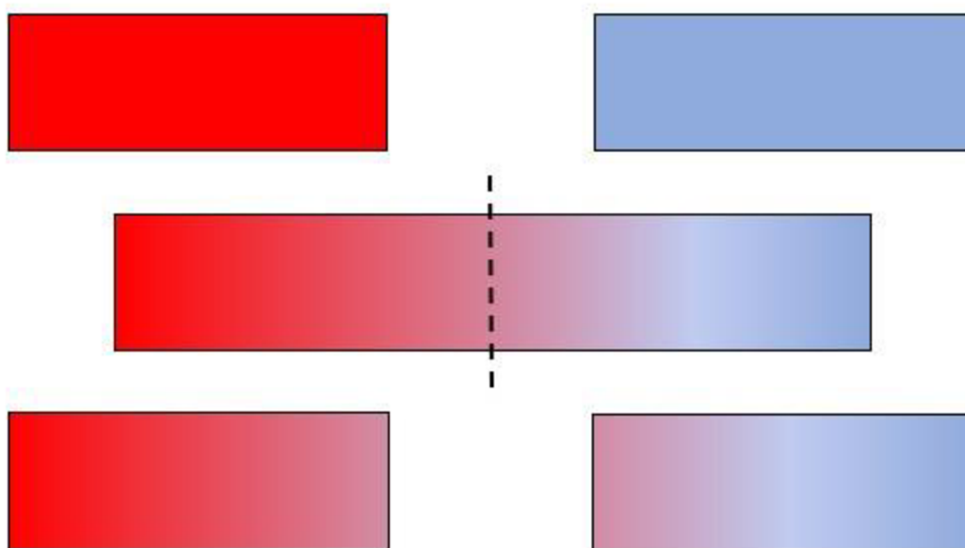
kteří, pokud je plocha A konstantní, je možné dále upravovat na tvar [32]:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right) \quad (16)$$

Tato rovnice je ve své podobě stejná jako rovnice pro vedení tepla, a proto je možné při podobně zadaných počátečních a okrajových podmínkách převádět jednotlivé úlohy z oblasti transportu tepla, resp. Hmoty mezi sebou [45, 46].

2.2.4.3 Metoda difúzního páru

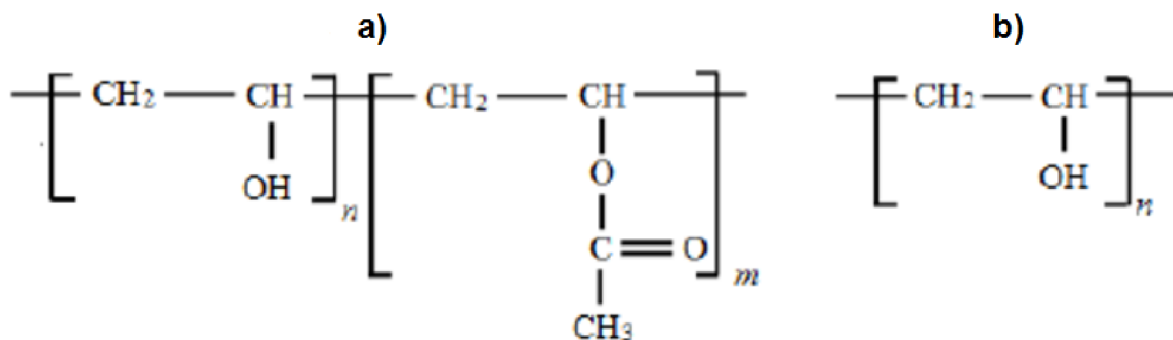
V metodě difúzních párů (Obr. 12) se sleduje transport difundující látky mezi dvěma difúzními prostředími. Jedno difúzní prostředí se nazývá jako zdrojová část (v případě analýzy gelových systémů zdrojový gel), ve které je obsažena nenulová koncentrace difundující látky (difúzní sondy). Druhé difúzní prostředí se označuje jako přijímací část (přijímací gel) a obsahuje menší (případně nulovou) koncentraci difúzní sondy. Na počátku experimentu jsou obě části spojeny a probíhá mezi nimi transport sledované látky, například barviva jako je ilustrováno na Obr. 12. V přesně stanovených intervalech jsou obě části rozděleny a probíhá měření prostupu sledované látky v různých polohách [48].



Obr. 12 Ilustrace principu metody difúzního páru

2.3 Polyvinylalkohol

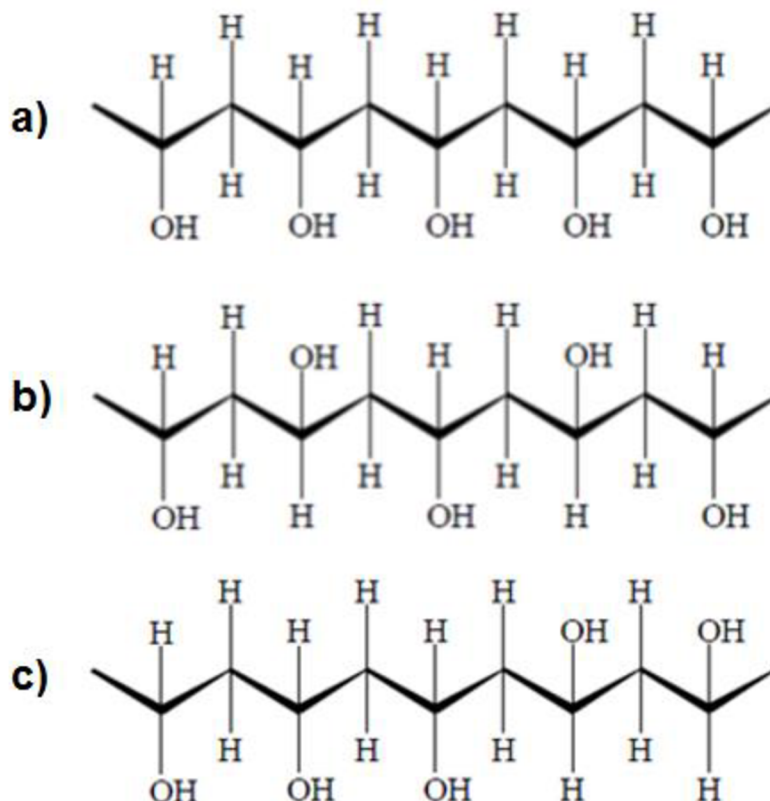
Polyvinylalkohol (PVA) byl poprvé syntetizován hydrolyzou polyvinylacetátu v ethanolu s přidavkem silné zásady v podobě hydroxidu draselného. Povedlo se to německým organickým chemikům W.O. Hermannovi a W. Haehnelovi v roce 1924. Komerčně se PVA nejčastěji vyrábí kontinuálním procesem z polyvinylacetátu, při kterém jsou acetátové skupiny hydrolyzovány esterovou záměnou s methanolem. Vše probíhá za přítomnosti bezvodého methoxidu sodného nebo vodného hydroxidu sodného. Jedná se o translucenční bílou nebo krémově zbarvenou práškovitou látku krystalického charakteru bez zápachu a chuti. Fyzikální vlastnosti PVA úzce souvisí s polymerizačním stupněm a také se stupněm hydrolyzy (podle toho ho lze rozdělit do dvou skupin – částečně hydrolyzovaný a plně hydrolyzovaný; Obr. 13). Například polymerizační stupeň ovlivňuje jeho rozpustnost; PVA se tím hůře rozpouští, čím je jeho polymerizační stupeň vyšší. Rozpustnost je částečně ovlivněna také stupněm hydrolyzy, ten ale především ovlivňuje viskozitu vzniklého roztoku. Úplně hydrolyzovaný PVA vykazuje viskoznější charakter, než je tomu u vzorku se stejným polymerizačním, ale nižším hydrolyzačním stupněm. Pro stupeň hydrolyzy nižší než cca 88% je PVA lépe rozpustný za nižších teplot než při teplotách zvýšených [49; 50].



Obr. 13 Částečně (a) a plně (b) hydrolyzované PVA [49]

2.3.1 Struktura

PVA se vyskytuje v podobě lineárního polymerního řetězce tvořeného uhlíkovými atomy, které jsou k sobě vázány jednoduchými vazbami s hydroxylovou skupinou, která je navázána na každém druhém uhlíku a stupeň polymerizace určuje, kolik základních jednotek je v molekule PVA obsaženo [49]. Toto uspořádání platí pro ideální molekulu PVA. Bohužel při syntéze se vytvářejí molekuly PVA o různých prostorových modifikacích. Pokud se hydroxylové skupiny seřadí na jedné straně řetězce, jedná se o tzv. izotaktickou modifikaci (Obr. 14 a). Jestliže se jednotlivé skupiny pravidelně střídají z jedné strany na druhou, mluvíme o syndiotaktické modifikaci (Obr. 14 b). A nakonec, pokud jsou hydroxylové skupiny rozházeny v různém, nepravidelném uspořádání, jedná se o ataktickou modifikaci (Obr. 14 c) [49 – 52].



Obr. 14 Prostorová modifikace PVA: a) izotaktická, b) syndiotaktická, c) ataktická [53]

Důležitý je také pohled na strukturu z hlediska přítomnosti 1,2 glykolových struktur. Pokud by měl vzniknout řetězec s ideálním rozložením, bude obsahovat molekuly v poloze hlava-pata, což odpovídá 1,3 glykolové struktuře. Někdy ovšem během spojování jednotlivých molekul dojde ke spojení v poloze hlava-hlava, a toto uspořádání odpovídá zmíněným 1,2 glykolovým strukturám.

Jak již bylo řečeno, důležitá je také hydrolyza jednotlivých acetátových skupin, protože podle těchto zbylých skupin určujeme hydrolyzovanost dané molekuly a od toho se odvíjejí její vlastnosti [50; 51].

2.3.2 Výroba

PVA nelze syntetizovat z monomerní jednotky vinylakoholu, jelikož se nejedná o stabilní sloučeninu [49]. Na první pohled by se mohlo zdát, že možnou cestou pro syntézu PVA je acetaldehyd. Nastává zde problém, při kterém hydroxylová skupina, která se nachází na stejném atomu uhlíku jako dvojná vazba, podléhá přesmyku na aldehyd. Proto se PVA musí

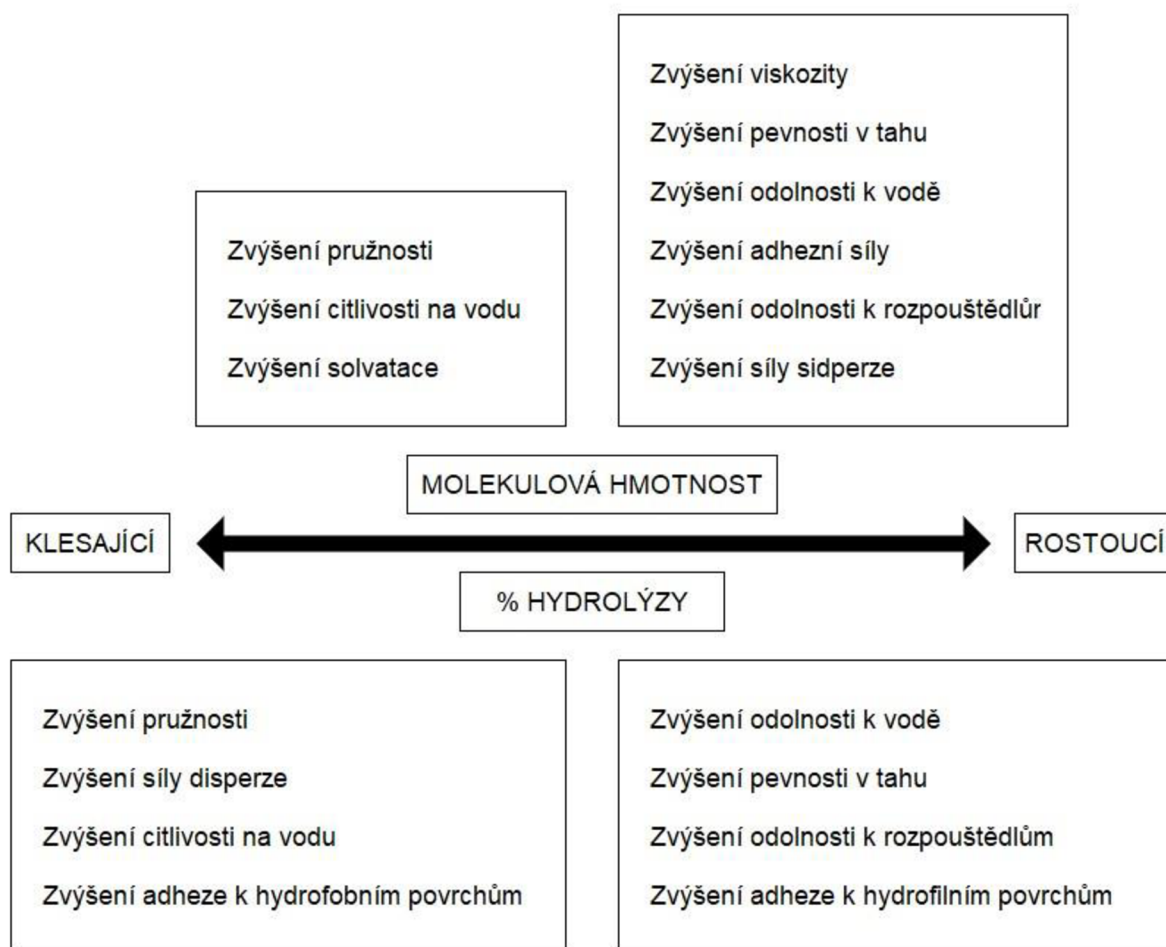
syntetizovat hydrolyzou polyvinylacetátu. A to je důvod, proč PVA obsahuje vždy určité množství zbytkových polyvinylacetátových skupin [54].

Polyvinylacetát se připravuje polymerací z monomeru vinylacetátu a při procesu přípravy je rozpuštěn v methanolu, ve kterém bude probíhat hydrolytická reakce za přítomnosti katalyzátoru. Jako katalyzátor jsou nejčastěji používány silné báze, jako například hydroxid draselný nebo sodný. Změnou reakčních podmínek může být ovlivněna konečná struktura vznikajícího polymeru. Reakčními podmínkami, jako je reakční teplota, koncentrace katalyzátoru, čas reakce nebo charakter rozpouštědla, je ovlivněno finální množství a rozložení zbytkových acetátových skupin v řetězci [55].

2.3.3 Vlastnosti

2.3.3.1 Fyzikální vlastnosti

Dle stupně hydrolyzy a průměrné molekulové hmotnosti polymeru se mění stupeň krystalinity. Tento fakt ovlivňuje řadu fyzikálních vlastností jako například pevnost, rozpustnost nebo permeabilitu pevného PVA. Už počáteční podmínky při syntéze z polyvinylacetátu ovlivňují výsledné vlastnosti. Jak ovlivňuje hydrolyza a molekulová hmotnost výsledné vlastnosti je interpretováno na Obr. 15. PVA obsahující částečně hydrolyzované řetězce obsahuje zbytkové acetátové skupiny a ty následně snižují krystalinitu. To má za následek nižší pevnost a vyšší rozpustnost výsledného materiálu, než je tomu u plně hydrolyzovaných systémů. Částečně hydrolyzované PVA se dají považovat za kopolymery a plně hydrolyzované PVA, lze považovat za homopolymery [56].



Obr. 15 Charakteristické vlastnosti PVA v závislosti na molekulové hmotnosti a stupni hydrolyzy [57]

Velikost vzniklých krystalů ovlivňuje bod tání, který se u plně hydrolyzovaného PVA pohybuje v rozmezí od 220 do 267 °C a skelný přechod se objevuje kolem 85 °C [56; 57]. Rozpustnost PVA ve vodě je ovlivněna hydrolyzou daného vzorku. Hydrolyza způsobí navýšení hydroxylových skupin, které podporují tvorbu vodíkových můstků, které následně snižují rozpustnost ve vodě. Ačkoliv se částečně hydrolyzované PVA rozpouští již při nižších teplotách, tak plně hydrolyzované PVA pro kompletní rozpuštění potřebuje teploty vyšší než 90 °C. Mezi další vysoce polární rozpouštědla vhodná pro rozpouštění PVA se řadí například dimethylsulfoxid (DMSO), acetamid a dimethylformamid. Viskozita je vlastnost, která vzrůstá se zvyšujícím se stupněm hydrolyzy, ale zároveň klesá, pokud se zvyšuje teplota. Pokud má PVA vysoký stupeň hydrolyzy, tak viskozita vzrůstá i pokud je materiál v klidu a může docházet ke gelaci. Tomu se dá zabránit přidáním malého množství nízkomolekulárních alifatických alkoholů nebo močoviny. Tím se viskozita stabilizuje. Částečně hydrolyzované roztoky PVA vykazují vyšší stabilitu viskozity samy o sobě [56].

2.3.3.2 Chemické vlastnosti

Samotná struktura PVA vykazuje podobnou reaktivitu jako je tomu u vícesytných alkoholů a díky tomu může reagovat s různými polárními látkami. Nejčastější reakce, které na PVA řetězci probíhají jsou reakce, při kterých vznikají acetaly (reakce hydroxylových skupin s aldehydy), nebo esterifikační reakce (hydroxylové skupiny reagují s organickými kyselinami). PVA se dá velice jednoduše zesítovat síťovacími činidly jako jsou kyselina boritá, nebo například glyoxal [56].

2.3.3.3 Biodegradace

Hlavní řetězec PVA je tvořen vazbami uhlík-uhlík, a přesto může být biologicky odbourán za vzniku vody a oxidu uhličitého. Tato raritní vlastnost je možná i přes skutečnost, že se jedná o syntetický polymer [58]. Pevná struktura PVA je velice odolná, ale hydrogely na této bázi jsou degradovatelné desítkami mikroorganismů [56]. V průběhu degradace dochází za pomoci oxidáz k oxidaci 1,3 hydroxylových skupin na 3-hydroxyketony a 1,3-diketony. Ty následně dále štěpí vazby uhlík-uhlík a vznikají řetězce s karboxylovými a methylenovými skupinami na koncích [59].

2.3.4 Použití

PVA díky svým vlastnostem nachází využití v mnoha odlišných průmyslových odvětvích. Kvůli biokompatibilitě, nízké mezifázové energii, která má za následek nízké sorbní tendence vůči proteinům a tělním derivátům, se hojně využívá v medicíně a farmacii. Hydrogely PVA se mohou používat jako membrány, hydrofilní povlaky pro urychlení a zlepšení regenerace poranění, kontaktní čočky, nebo jako nosiče léčiv pro řízené uvolňování aktivní složky [60]. Další využití nachází například v potravinářském průmyslu, kde se díky svým vlastnostem, které vykazují podobné chování jako želatina, používá jako jedlé zahušťovadlo. Jako modulátor viskozity může být ovšem použit i při výrobě inkoustů, lepidel, nebo pro impregnaci papíru proti tukům a rozpouštědlům [49, 54]. PVA se díky své dobré rozpustnosti ve vodě používá jako koloid, který stéricky stabilizuje polymerní disperze. Z PVA se dají připravit ve vodě rozpustné fólie, které se mohou použít jako obalový materiál. Dalším možným využitím pro PVA je výroba syntetických textilních vláken [49].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Příprava transparentních hydrogelů na bázi PVA

3.1.1 Hydrogely připravované s organickými rozpouštědly

Přípravě hydrogelů na bázi PVA s vysokou transparentností a mechanismu, jak této vysoké transparentnosti dosáhnout se věnovali autoři studie [61]. Samotná metoda síťování *freeze-thaw*, která byla v tomto experimentu použita je založena na přesném střídání cyklů mražení a následného tání vzorku polymeru, kdy již po několika málo cyklech vzniká požadovaná polymerní síť. Obecný mechanismus použité fyzikální síťovací metody byl popsán v podkapitole 2.1.1. Autoři citované studie připravovali hydrogely rozpouštěním 16,7 hm. % PVA ve vodných roztocích dimethylsulfoxidu (DMSO) o různých koncentracích (od 0 až do 100 %). Rozpouštění probíhalo ve vodní lázni při teplotě 90 °C a roztoky byly po celou dobu míchány. Následně byly nality do forem, ve kterých byly podrobeny cyklování, což znamená, že byly nejprve při -18 °C po dobu 7 hodin mraženy a následně 3 hodiny ponechány při pokojové teplotě. Počet cyklů byl stanoven na 7. V tomto experimentu byly testovány různé vlastnosti, například právě transparentnost, krystalinita, mechanická pevnost anebo složení jednotlivých hydrogelů. Pro zkoumání optických vlastností, které jsou pro nás v této práci stěžejní, použili metodu zkoumání světelné transmitance. Pro její měření používali 754UV-VIS spektrofotometr (Shanghai Spectrum Instruments). Vzorky byly proměřeny při sedmi různých vlnových délkách ve spektrálním rozsahu 425–700 nm a následně porovnány s propustností umělé rohovky nebo kontaktní čočky. Bylo zjištěno, že čím vyšší byla vlnová délka dopadajícího záření, tím se také zvyšovala propustnost PVA hydrogelů síťovaných metodou *freeze-thaw*. Právě mechanismus vzniku polymerní sítě je stěžejní pro finální vlastnosti. Krystalické domény PVA, které během tohoto cyklu vznikají ovlivňují směr, intenzitu světla a ovlivňují fyzikální vlastnosti jako jsou rozptyl světla, refrakce a odraz světla, které ovlivňují transparentnost vzniklého PVA hydrogelu. Bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací DMSO ve vzorku se zvyšuje jejich transparentnost. To vše platí pro vzorky ve vodných roztocích obsahujících až 80 hm. % DMSO, kdy je dosaženo maxima a následně při dalším navyšování koncentrace DMSO transparentnost začíná klesat. Zmíněný vzorek s 80 hm. % vodného roztoku DMSO vykazuje nejvyšší propustnost, která se pohybuje přibližně okolo 99,8±0,2 %, což je hodnota, která je téměř totožná s hodnotou přirozené lidské rohovky, která se pohybuje v rozmezí 99,7–99,9 %. Vzorky připravené v této studii mají veliký aplikační potenciál v oblasti umělých rohovek a kontaktních čoček. Stále by však měl být brán zřetel na přítomnost zbytkové DMSO v gelu.

Ve studii [62] se autoři zabývali vývojem vysoce transparentního makroporézního hydrogelu s obsahem vody vyšším než 90 % a kombinací PVA s nanocelulosou. Studie a následný vývoj započaly z důvodu vnějších požadavků výrobců měkkých kontaktních čoček na vhodný materiál. Existuje několik hydrogelů s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi pro toto využití. Hydrogely jsou obecně příliš měkké a je zapotřebí je vystužit vhodným materiálem, abychom dosáhli vysokého obsahu vody bez zhoršení mechanických vlastností. V tomto výzkumném týmu se povedlo dokázat, že kompozitní hydrogel má index lomu blízký indexu lomu vody a velmi dobré vlastnosti blokující UV záření. V tomto kontextu se průhledný PVA hydrogel jeví jako vhodný a velice zajímavý kandidát na cenově dostupný, biokompatibilní a mechanicky silný materiál pro kontaktní čočky s vysokým obsahem vody. Myšlenka použití PVA hydrogelů pro kontaktní čočky a keratoprostetické aplikace byla poprvé objevena japonskými vědci z Kjótské univerzity na konci 80. a začátkem 90. let. Hyon a jeho spolupracovníci [63] vyvinuli metodu pro vytvoření průhledného PVA hydrogelu za použití

směsného rozpouštědla, které obsahovalo vodu a několik organických rozpouštědel jako je ethanol, glycerin, ethylenglykol a dimethylsulfoxid, k rozpouštění PVA. Hydrogely byly následně připravovány metodou *freeze-thaw*. Optimálních mechanických a optických vlastností bylo dosaženo pomocí systému rozpouštědla DMSO/voda a zejména pro poměr 80/20. Abychom pochopili vliv rozpouštědla na průhlednost PVA hydrogelů, je důležité pochopit princip gelace. Když je homogenní roztok PVA zchlazen z vysoké teploty na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, dochází ke gelaci fyzikální cestou. DMSO je lepší rozpouštědlo pro PVA než voda a jejich směsné roztoky. PVA řetězce jsou ve vodných roztocích více svinuté, než je tomu v čistém roztoku DMSO, tam jsou protažené. Po ochlazení PVA ve smíšeném rozpouštědle dochází ke snížení rozpustnosti PVA, což vede k postupnému oddělení fází a případnému místnímu zesíťování formou vzniku krystalů PVA. Faktory jako je koncentrace PVA, stupeň deacetylace, molekulová hmotnost a složení rozpouštědla jsou proto důležité pro gelaci. Mechanické vlastnosti závisí především na molekulové hmotnosti PVA a koncentraci. Lze připravit silné hydrogely o vysoké molekulové hmotnosti, ale příprava je poměrně náročná, jsou drahé a následné zpracování je díky vysoké viskozitě téměř nemožné. Jednou z možných alternativ, jak vyřešit vnitřní obsah vody a zajistit požadované mechanické vlastnosti je přidání (vyztužení) jiného materiálu, který zajistí i požadované optické vlastnosti. Nalézt takovýto materiál je ovšem poměrně náročné. Předchozí studie ukazují, že nativní celulóza je vynikající složkou pro zpevnění PVA matrice, ovšem její přídavek vede ke snížení transparentnosti. Na druhou stranu, optické vlastnosti celulózy mohou být vylepšeny, pokud bude celulóza použita ve formě nanocelulózy. Zejména nanocelulóza vyrobená za přítomnosti 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl radikálu (TEMPO) je průhledná a má vysokou kapacitu zadržování vody. Samotná příprava hydrogelu probíhala smíšením 3 g PVA a různých koncentrací celulózy se směsným rozpouštědlem DMSO/MQ (Super čistá voda, Milli-Q), aby se dosáhlo koncentrace 10 hm. % PVA. Poměry složení rozpouštědel se měnily v návaznosti na požadavcích. Samotné roztoky byly připravovány v olejové lázni zahříváním při $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a za stálého míchání po dobu 2 hodin. Následně byly vzorky odlity do příslušných polypropylenových forem, ve kterých byly gelovány při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin. Vytvořené gely byly vyjmuty z forem a následně dialyzovány po dobu alespoň 48 hodin ve vodě pro odstranění DMSO. V této studii bylo zjištěno, že zavedením modifikované celulózy do PVA hydrogelu umožňuje vyrábět sady s vysokým obsahem vody s výjimečnými optickými vlastnostmi, jako je index lomu podobný vodě, vysoká transparentnost pro viditelné světlo a blokáce pro UV záření. Kromě toho má hydrogel makroporézní strukturu naplněnou vodou, což je důležité pro pohodlí při nošení kontaktních čoček, vysokou propustnost pro kyslík, nízkou adsorpci proteinů a biokompatibilitu.

Ve studii [64] se autoři zabývali vývojem optimálního materiálu pro design umělé rohovky, tak aby napodoboval důležité vlastnosti lidské rohovky. Optimalizace náhrady rohovky by měla směřovat k napodobení především jejich fyzikálně-chemických vlastností. Výzkum je založený na faktu, že onemocnění rohovky je podle WHO (Světová zdravotnická organizace) jednou z největších příčin slepoty po celém světě. Ačkoli je transplantace rohovky nejčastějším způsobem léčby rohovky, omezení v podobě skladování rohovkové tkáně, kulturních či náboženských bariér stále představuje celosvětový problém. Proto se vývoj umělých rohovek stává slibnou alternativou pro transplantaci rohovky. V této studii byly připraveny tři typy hydrogelů PVA s různým stupněm polymerace (PVA1799, PVA2499 a PVA2699) pomocí metody *freeze-thaw*. Umělá rohovka vyrobená z čistého PVA hydrogelu má však vysoce hydrofilní povrch, což stěžuje její ukotvení epitelovou tkání rohovky. Zlepšení těchto vlastností se nejčastěji provádí smícháním nebo roubováním PVA s jiným polymerem, jako je chitosan, kolagen, celulóza. Tato modifikace ale vždy vede ke snížení propustnosti světla a zvýšení adsorpcí proteinů. Optimální náhrada rohovky by měla být opticky čirá, mechanicky pevná, odolná vůči adsorpci proteinů a měla by podporovat integraci s okolními tkáněmi. Předchozí

výzkum [63] naznačil, že mechanické vlastnosti a optická propustnost hydrogelů PVA maxima při koncentraci 20 hm. % PVA a koncentraci organického rozpouštědla (DMSO) 80 obj. %. V této studii byly tedy za těchto podmínek připraveny všechny vzorky PVA hydrogelů pouze s různým stupněm polymerace. Směsi byly připravovány při teplotě 95 °C po dobu 4 hodin za stálého míchání, poté byly ponechány 1 hodinu odstát, aby se docílilo zredukování pěny a následně byla takto připravená polymerní směs nalita do ploché formy, ve které byla ochlazená na -20 °C a ponechána tak po dobu 8 hodin. Po uplynutí této doby byl vzorek vyndán a ponechán 4 hodiny při laboratorní teplotě. Cyklus zmrazení a tání byl opakován osmkrát. Po ukončení posledního cyklu byly takto připravené hydrogely promývány deionizovanou vodou kvůli výměně DMSO v gelu za vodu. Následně byly vzorky testovány různými metodami, aby se povedlo zjistit, který vzorek PVA bude pro danou aplikaci nejvhodnější. Po následném posouzení z hlediska transparentnosti, obsahu vody, kontaktních úhlů vody, mechanických vlastností a adsorpce proteinů byl jako nejvhodnější vybrán PVA2499. Jeho fyzikálně-chemické vlastnosti se nejvíce blíží vlastnostem přirozené rohovky. Průhledné optické jádro může poskytovat podobné mikroprostředí jako přirozená rohovka.

3.1.2 Hydrogely připravované ve vodném prostředí

Přípravou vysoce opticky čirých hydrogelů z polymerního vodného roztoku bez použití organického ko-rozpouštědla, jako je například DMSO, se zabývali autoři studie [65]. Jako metoda síťování byla opět použita metoda *freeze-thaw*, která se osvědčila při tvorbě fyzikálně síťovaných hydrogelů. Ovšem mražení a tání indukuje náhodně distribuovanou heterogenitu ve struktuře hydrogelu, která vede k zakalenosti PVA hydrogelů. Podle dostupné literatury lze transparentní PVA hydrogely syntetizovat pouze s pomocí směsného rozpouštědla obsahujícího vodu a DMSO. Tento proces zahrnuje dvě poměrně kritické podmínky. Zaprvé je zde používán organosolv v podobě DMSO, a zadruhé teplotní krok při mražení, který se pohybuje okolo hranice -20 °C, což je nevyhovující podmínka, pokud by se inkorporovaly biologické materiály. Skupina autorů této studie proto v tomto článku demonstruje, že lze vyrobit průhledné PVA hydrogely i z čistého vodného roztoku PVA provedením gelace metodou *freeze-thaw* v teplotním rozmezí od 0 °C až po laboratorní teplotu. Dále určili, že udržování všech konstantních parametrů procesu a systematická změna koncentrace polymeru má klíčový vliv na krystalinitu, porozitu, teplotu skelného přechodu a botnání hydrogelů. V experimentu byly vodné roztoky PVA (8, 10, 12 a 14 hm %) připraveny rozpuštěním PVA v destilované vodě za stálého míchání a zahřívání na 80 °C. Následně byly ponechány při laboratorní teplotě, dokud nevymizely bubliny. Roztoky byly posléze nality do forem o průměru 27,31 mm a tloušťce 2,17 mm. Následně byly vystaveny cyklům mražení a tání, které sestávaly z 8 hodin mražení při 0 °C a následných 16 hodin tání při laboratorní teplotě (37±2 °C). Všechny vzorky podstoupily 15 cyklů. Charakterizace byla provedena ihned po posledním cyklu, aby se zabránilo účinkům stárnutí způsobených následným skladováním. Tato studie je prvním úspěšným pokusem připravit průhledné PVA hydrogely bez použití organického ko-rozpouštědla jako je DMSO. Studie kromě toho úspěšně prokazuje, že cyklus *freeze-thaw* okolo 0 °C je dostatečný na výrobu stabilních hydrogelů a člověk nemusí snižovat teplotu pod -20 °C, která není vhodná pro buňky. Rovněž by mohla být stanovena korelace mezi krystalinitou, koncentrací polymeru a porozitou pomocí XRD, DSC a studiem botnání, které uvádějí, že se zvyšuje krystalinita a porozita, pokud se zvyšuje koncentrace PVA.

Ve studii [66] se autoři zabývají fyzikálně síťovanými PVA hydrogely díky jejich vynikajícím a tkáni podobným vlastnostem. Díky těmto vlastnostem jsou PVA hydrogely vhodné pro různé biomedicínské a inženýrské aplikace včetně tkáňového inženýrství, řízeného uvolňování léčiv, vývoje biosenzorů nebo umělých svalů. Samozřejmě bylo doposud zkoumáno pro biomedicínské aplikace mnoho polymerů a jejich zesíťováním připravených gelů. Nicméně

omezení, která s sebou obecně tyto materiály přináší, zahrnují buď vlastní toxicitu způsobenou použitým chemickým síťovacím činidlem nebo limitovanou mechanickou stabilitu, pokud se jedná o fyzikálně síťované hydrogely. Předpokládá se, že to hraje hlavní roli v pooperačních komplikacích a následném selhání štěpu. S cílem vyvinout rohovkové scaffolds na bázi hydrogelu bylo dle nedávné studie [65] dokázáno, že k vytvoření vysoce transparentního PVA hydrogelu stačí pouze mražení při teplotě okolo 0 °C a následné tání jeho vodného roztoku bez použití organického rozpouštědla. Stupeň krystalinity transparentních PVA hydrogelů je funkcí koncentrace za předpokladu, že další parametry zůstávají konstantní. Navíc také řídí jeho mechanické vlastnosti. Mechanicky stabilní a zároveň transparentní PVA hydrogely byly zkoumány pozoruhodně velkým množstvím výzkumných pracovníků, ale podle všeho k dosažení stability používali převážně chemická síťovací činidla. Takto zesíťované hydrogely by mohly dosáhnout skvělých mechanických vlastností v širokém rozsahu deformací. Tento článek však uvádí proces, který nezahrnuje žádné chemické síťovací činidlo ani kryoexperimentování a má za následek hydrogely s mnohem lepšími vlastnostmi. Vysoce elastické PVA hydrogely byly získány fyzikálním síťováním a jejich hodnoty pevnosti se pohybovaly v rozmezí 30–90 MPa s Youngovým modulem v rozmezí 40–80 MPa. Hydrogely s různými koncentracemi PVA byly podrobeny 15 *freeze-thaw* cyklům a nejvyšší síla byla získána v hydrogelu s 16 hm. % PVA. Toto pozorování je docela zajímavé. Stálo by za zvážení prozkoumat strukturu a mechanické vlastnosti průhledných PVA hydrogelů v závislosti na počtu *freeze-thaw* cyklů. Stupeň krystalinity byl korelován s výsledky tahu a botnání. Porozita klesala se zvyšující se koncentrací PVA v gelu.

Ve studii [67] se autoři zabývali transparentními PVA hydrogely, které se ve tkáňové inženýrství používají jako scaffolds, pokud mají vhodnou topografickou drsnost a povrchovou energii pro uvažované biomedicínské aplikace. Byl studován vliv parametrů zpracování, tj. koncentrace polymeru a počet cyklů *freeze-thaw* na výslednou topografii. Studium korelací mezi strukturou a vlastnostmi má zásadní význam v materiálovém inženýrství, kde kromě makroskopické struktury a ultrastruktury materiálu hrají důležitou roli i další fyzikální vlastnosti a mechanické vlastnosti. V citované referenci byly vodné roztoky PVA připraveny rozpuštěním odpovídajícího množství PVA v destilované vodě za nepřetržité míchání a zahřívání při asi 92 °C na požadované hmotnostní koncentrace PVA gelu (6, 8, 10, 12 a 14 hm. %). Roztoky byly udržovány při pokojové teplotě, dokud bubliny nezmizely. Bylo zajištěno, že roztoky neželovatí a zůstávají průhledné, pokud jsou ponechány při pokojové teplotě v uzavřené lahvičce. Poté byly roztoky PVA nality do forem o průměru 18 cm a tloušťce 1,5 cm a byly podrobeny opakovaným cyklům mražení a tání, které sestávaly z 6 hodin mrazení okolo 0 °C, následovaného 18 hodin tání při laboratorní teplotě. Všechny vzorky absolvovaly 15, 30 a 45 cyklů mražení a následného tání. Byly získány vysoce elastické fyzikální PVA hydrogelfilmy. Tloušťka filmů byla přibližně 1–1,5 mm a pro charakterizaci byly vzorky vyříznuty z okraje a středu filmu. Morfologie povrchu hydrogelů byla silně ovlivněna složením a počtem cyklů *freeze-thaw*. Přibližná velikost krystalitů byla ve všech vzorcích hydrogelu v submikronovém nebo nanorozsahu. Takováto topografie s nanomateriálem proto poskytne větší povrch pro interakce buňka-substrát a průměrná drsnost 85 nm zvyšuje pravděpodobnost, že se v budoucnu použije jako povrch vhodný pro buňky. Parametry jako počet cyklů a koncentrace polymeru, zjevně ovlivňují krystalinitu a drsnost povrchu transparentních PVA hydrogelů.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

- Polyvinylalkohol (PVA), Sigma Aldrich
- Dimethylsulfoxid (DMSO), PENTA s.r.o.
- Trehalosa, Sigma Aldrich
- Sacharosa, PENTA s.r.o.
- Močovina, Lach:ner
- Glycerol, Sigma Aldrich
- Polystyrensulfonyl sodný (PSS), Sigma Aldrich
- Methylenová modř, Lachema
- Chlorid sodný (NaCl), Praktikum z fyzikální chemie (Fakulta chemická VUT v Brně; chladič směs)
- Superčistá voda (Milli-Q, MQ)
- Kapalný dusík

4.2 Použité přístroje a zařízení

- Magnetická míchačka
- Magnetická míchačka s ohřevem
- Analytické váhy
- UV-VIS Spektrofotometr, Varian Cary 50 (Fakulta chemická VUT v Brně)
- Reometr, Anton Paar MCR 72 (Fakulta chemická VUT v Brně)
- Skenovací elektronový mikroskop, ZEISS EVO LS 10 (Fakulta chemická VUT v Brně)
- Lyofilizátor, VirTis BenchTop K (Biotrade; Fakulta chemická VUT v Brně)
- Přenosný teploměr
- Výrobník ledu
- Hlubokomrazicí box
- Laboratorní mraznička
- Aparatura pro pomalé mražení

4.3 Příprava vzorků

4.3.1 Podmínky rozpouštění polyvinylalkoholu

Směsi připravené dle následujících postupů byly převedeny do uzavřených skleněných nádob a následně míchány při laboratorní teplotě na magnetické míchačce, a to po dobu 30 minut. Poté byly víálky převedeny do vodní lázně umístěné na magnetické míchačce s ohřevem, kde byly po dobu 3 hodin míchány při teplotě 90 až 95 °C. Následně byly takto připravené vzorky nality do forem vybraných podle chystaného měření (Petriho misky, kyvety, ...) a podrobeny požadovanému teplotnímu programu pro síťování metodou freeze-thaw.

4.3.2 Podmínky síťování – teplota mražení hydrogelů

Pro gelaci metodou *freeze-thaw* byly připraveny čtyři prostředí o různé teplotě, díky nimž bude docíleno různých rychlostí mražení. Jako hraniční prostředí byly vybrány kapalný dusík (nejvyšší rychlost mražení) a ledová tříšť se solí (nejnižší rychlost mražení).

Tab. 1 Podmínky pro tvorbu hydrogelů metodou freeze/thaw

	Kapalný dusík	Hlubokomrazicí box	Laboratorní mraznička	Ledová tříšť se solí
Teplota [°C]	-196	-65 až -75	-15 až -20	-2 až 0
Čas mražení [min]	~0,2–0,3	~30	~135	~315
Čas tání [min]	~15 až 30			

4.3.3 Zásobní roztoky

4.3.3.1 Zásobní roztok kryoprotektantů

Zásobní roztoky kryoprotektantů, přesněji trehalosy, sacharosy, močoviny a glycerolu byly připraveny o koncentraci $0,2 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Přesné množství chemikálií bylo naváženo a tyto navážky byly rozpuštěny v daném množství ultračisté vody. Takto připravené zásobní roztoky kryoprotektantů byly dále používány, popřípadě před použitím skladovány v laboratorní chladničce (při teplotě cca $7 \text{ }^\circ\text{C}$).

4.3.3.2 Zásobní roztok polystyrensulfonátu sodného

Zásobní roztoky polystyrensulfonátu sodného byly připraveny o koncentracích 0,002; 0,0005 a $0,01 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Přesné množství chemikálie bylo naváženo a tato navážka byla rozpuštěna v daném množství superčisté vody. Takto připravené zásobní roztoky polyelektrolytů byly dále používány, popřípadě skladovány v laboratorní chladničce.

4.3.3.3 Zásobní roztok polyvinylalkoholu s přídavkem DMSO

Zásobní roztok PVA byl připraven o koncentraci PVA 10 hm. %. Navážka PVA byla převedena do láhve s požadovaným objemem směsi rozpouštědel ultračistá voda : DMSO a finální koncentrací DMSO v gelu 50 hm. %. Tato směs byla rozpouštěna podle podkapitoly 4.3.1. Finální směs byla dále používána, popřípadě skladována v laboratorní chladničce.

4.3.3.4 Zásobní roztok polyvinylalkoholu

Zásobní roztok PVA pro většinu experimentů byl připraven o koncentraci PVA 10 hm. %. Navážka PVA byla převedena do láhve s požadovaným objemem ultračisté vody a následně byla takto připravená směs rozpouštěna podle podkapitoly 4.3.1. Finální směs byla dále používána, popřípadě skladována v laboratorní chladničce.

4.3.4 Polyvinylalkoholové hydrogely s přídavkem DMSO

4.3.4.1 Koncentrační řada DMSO

Byly připraveny hydrogely o koncentraci PVA 10 hm. % pro zjištění sledovaných vlastností při aplikování koncentrací DMSO jako kosolventu k ultračisté vodě. Navážky PVA byly převedeny do viálek s požadovaným objemem směsi rozpouštědel superčistá voda : DMSO, u kterých se koncentrace DMSO ve finálním gelu pohybovala v koncentrační řadě 0; 25; 50; 60; 70; 80; 90 a 100 hm. %. Takto připravené směsi byly rozpouštěny podle podkapitoly 4.3.1. Samotné mražení probíhalo v mrazničce podle podkapitoly 4.3.2.

4.3.5 Polyvinylalkoholové hydrogely bez přídavku DMSO

4.3.5.1 Koncentrační řada polyvinylalkoholu

Byly připraveny hydrogely o koncentrační řadě 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 a 15,0 hm. % PVA. Navážky PVA byly převedeny do uzavřených skleněných nádob s požadovaným objemem ultračisté vody a následně byly takto připravené směsi rozpouštěny podle podkapitoly 4.3.1. Mražení probíhalo v mrazničce a ledové tříšti podle podkapitoly 4.3.2.

4.3.5.2 Polyvinylalkoholové hydrogely s přídavkem kryoprotektantů

Hydrogely byly připravovány ze zásobních roztoků PVA a kryoprotektantů buďto v poměru 1 : 1 (PVA : kryoprotektant) a nebo v poměru 2 : 1 : 1 (PVA : kryoprotektant : superčistá voda), aby se ve výsledných hydrogelech pohybovala koncentrace kryoprotektantu okolo 5 a 10 %. Všechny takto vzniklé směsi byly hodinu míchány na magnetické míchačce při laboratorní teplotě a následně byly nality do forem vybraných podle typu experimentu, resp. analýzy (Petriho misky, kyvety, kádinka) a podrobeny 5 cyklům metodou *freeze-thaw*. Samotné mražení probíhalo v mrazničce podle podkapitoly 4.3.1.

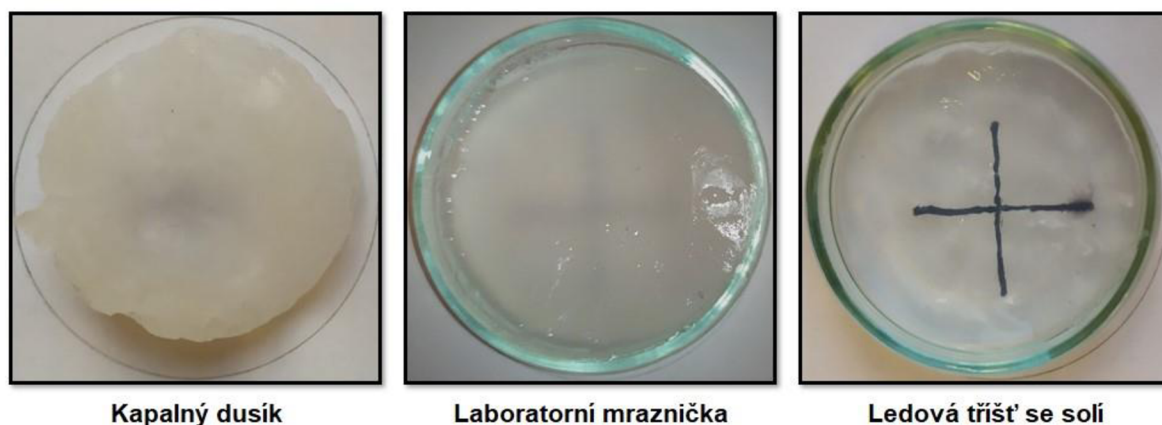
4.3.5.3 Polyvinylalkoholové hydrogely s interpenetrovaným polyelektrolytem pro difúzní experimenty

Byly připraveny dvě sady hydrogelů s koncentrací 15 hm. % PVA v obou sadách. První sada (zdrojový gel) obsahuje methylenovou modř o koncentraci $0,01 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Druhá sada (přijímací gel) obsahuje koncentrační řadu poly(styren sulfonátu) (PSS) vyrobenou ze zásobních roztoků, které byly vyrobeny podle podkapitoly 4.3.3. Koncentrace ve finálním hydrogelu se pohybovala v koncentrační řadě 0,002; 0,005 a 0,01 hm. %. Takto připravené směsi byly rozpouštěny podle podkapitoly 4.3.1. Samotné mražení probíhalo v kyvetách v ledové tříšti podle podkapitoly 4.3.2.

4.4 Analýza vzniklých hydrogelů

4.4.1 Analýza transparentnosti PVA hydrogelů

Transparentnost různých sad hydrogelů byla zkoumána dvěma způsoby. Jednak byla vizuálně hodnocena transparentnost vzorku uloženého na vytvořené podložce s pomocným křížem, který tvořil záchytný bod pro porovnávání transparentnosti vzorků (Obr. 16). Při tomto způsobu byly vzorky foceny po každém ukončeném cyklu.



Obr. 16 Metoda focení vzorků na podložce s pomocným křížem

Dalším způsobem hodnocení optických vlastností gelů byla objektivní fotometrická analýza vzorků pomocí UV-VIS spektrofotometru Varian Cary 50. Při analýze byla vytvořena spektra v rozmezí vlnových délek od 300 do 800 nm. Z těchto spekter byla dle absorbance vyhodnocena propustnost jednotlivých vzorků. Spektrofotometrická metoda byla používána pouze na počátku experimentální části této práce pro potvrzení informací o transparentnosti hydrogelů obsahujících DMSO.

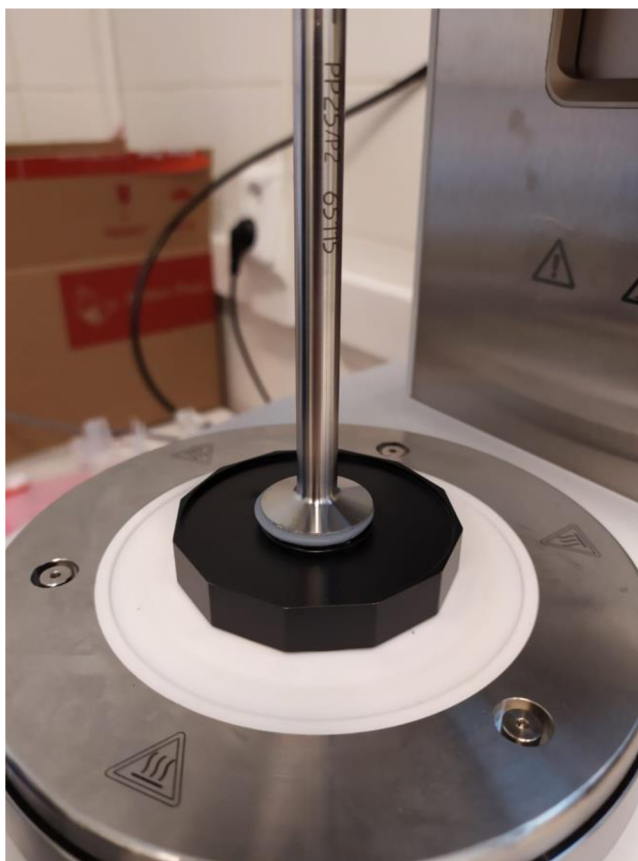
4.4.2 Reologie – měření mechanických vlastností PVA hydrogelů

Pro reologické měření byly připraveny různé sady PVA hydrogelů, které byly následně testovány na reometru typu Anton Paar MCR 72. Pro naše potřeby testování byl vybrán amplitudový test, který poskytuje informace o rozsahu lineární viskoelastivity (LVO) vybraných hydrogelů. Geometrie pro měření byla navržena v uspořádání deska-deska o průměru senzoru 25 mm. Vzorek byl nanášen mezi senzor a podložní desku tak, aby jeho okraje příliš nepřechýlaly (Obr. 17) okraje senzoru, čímž by se mohly nalepit na geometrii a ovlivňovat tím měření. Pokud tomu tak bylo, byl jejich okraj začištěn. Měření byla prováděna při konstantní teplotě 25 °C, která byla zajištěna ohřevem spodní desky reometru, ve které je zabudovaný Peltierův článek. Na jednom vzorku byla vždy provedena dvě měření po sobě. Všechny parametry měření jsou uvedeny v Tab. 2.

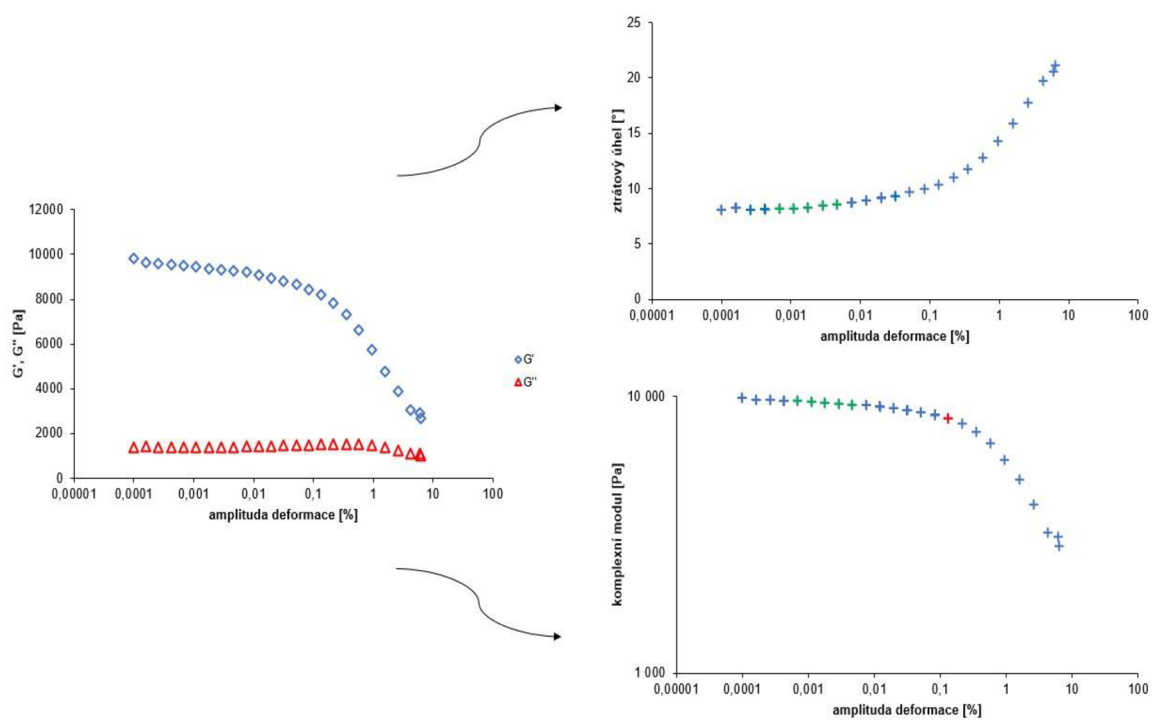
Tab. 2 Parametry pro amplitudový test

Frekvence kmitání [Hz]	1
Amplituda deformace [%]	0,0001–10
Teplota [°C]	25

Data získaná v průběhu měření byla vyhodnocena a zpracována v programu MS Excel do podoby grafů závislosti paměťových a ztrátových modulů na měnící se amplitudě deformace. Dále byly vypočteny hodnoty komplexních modulů a ztrátových úhlů (viz rovnice (7) a (8)), které se opět zpracovaly do grafů v závislosti na měnící se amplitudě deformace (Obr. 18). Z těchto grafů byly vybírány specifické oblasti pro tvorbu sloupcových grafů. Pro vytvoření sloupcových grafů ztrátových úhlů a komplexních modulů byla vybrána středová část LVO (zelené křížky; Obr. 18), kdy nedochází k téměř žádné změně v hodnotách měřených reometrických parametrů. Pro sestavení sloupcových grafů pro amplitudy deformací odpovídající hranici LVO byly využity grafy závislosti komplexního modulu na amplitudě deformace, ve kterých byl vybrán hraniční bod LVO (červený křížek; Obr. 18), ve kterém začíná docházet ke značné změně hodnot G^* .



Obr. 17 Vzorek nanesený mezi geometriemi v uspořádání deska-deska.



Obr. 18 Postup zpracování naměřených dat (zelené křížky – středová oblast LVO, červený kříž – hraniční bod LVO)

4.4.3 Strukturní analýza PVA hydrogelů

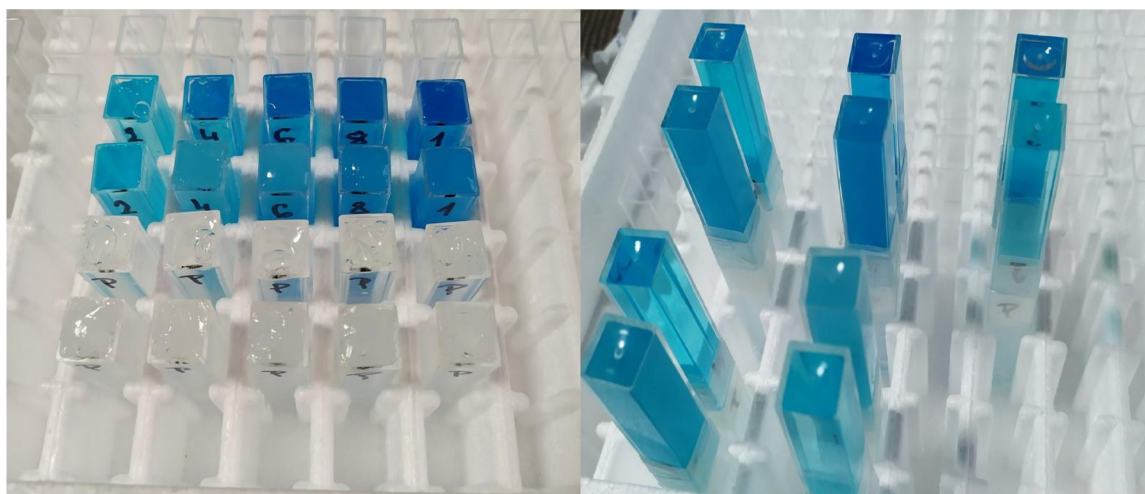
Vybrané hydrogely byly analyzovány pouze pomocí přímé vizualizační metody, a to v suché formě – xerogelu. Jako vhodná metoda byla vybrána skenovací elektronová mikroskopie. Účelem bylo získat informace o vnitřní struktuře vybraných hydrogelů pro podporu hypotézy spojené s jejich transparentností. Ta je dle našich předpokladů ovlivněna velikostí pórů, která je závislá na koncentraci a rychlosti síťování polymeru.

Příprava hydrogelů pro pozorování v SEM začíná jejich vysušením. Aby byla v co největší míře zachována vnitřní struktura lyogelu bez porušení, vzorky byly podrobeny šokovému zmražení. Vzorek byl za tímto účelem ponořen na několik minut do tekutého dusíku a následně byl takto zmražený vzorek přenesen do lyofilizátoru, ve kterém došlo k sublimaci rozpouštědla. Ze vzniklého xerogelu byla vyříznuta vhodná část a ta byla v naprašovačce pokryta velmi tenkou vrstvou (10-20 nm) vodivého materiálu. Následně byl takto připravený vzorek pozorován pod skenovacím elektronovým mikroskopem ZEISS EVO LS 10.

4.4.4 Difúzní experimenty

Finální hydrogely, které byly vybrány pro studium difúzních vlastností, byly testovány pomocí metody difúzního páru. Tento experiment je založený na spojení dvou gelovým materiálem naplněných kyvet (difúzních prostředí), ve kterých se nachází stejná koncentrace PVA hydrogelu. V prvním prostředí, které se označuje jako zdrojový gel je obsažena sledovaná látka, která bude v průběhu experimentu difundovat (methylenová modř). Ve druhém prostředí, které se nazývá jako přijímací gel je obsah sledované látky v původním gelu nulový, ale je do něj podle povahy experimentu možno přidat polyelektrolyt PSS. Když jsou obě prostředí připravena, spojí se a dochází k transportu sledované látky ve směru poklesu koncentračního gradientu. V přesně daných časových intervalech (24, 48 a 72 hodin) byly difúzní páry rozděleny a byl sledován prostup difundující látky do prostředí, kde původně byla nulová hodnota této látky.

Podle podkapitoly 4.3.5 byly připraveny PVA hydrogely pro tento experiment. Kyvety byly plněny až po okraj, aby došlo k dobrému kontaktu obou difúzních prostředí. Po procesu gelace pomocí metody *freeze-thaw* (přímo v kyvětě) byly obě prostředí propojeny, spoj byl zakryt parafilmem a takto připravené difúzní páry byly uloženy ve vertikální poloze v boxu na kyvety při laboratorní teplotě (Obr. 19). Difúzní páry byly připraveny ve 2 opakováních.



Obr. 19 Naplněné kyvety před procesem gelace (vlevo) a difúzní páry v průběhu experimentu (vpravo)

Difúzní experiment byl vždy v přesně stanovených intervalech přerušen, kyvety byly od sebe odděleny a následně proměřeny pomocí UV-VIS spektrofotometru Varian Cary 50 v rozmezí 300 až 800 nm. Měření probíhalo na vertikálním speciálním držáku kyvety umožňujícím její řízené vertikální polohování, díky nemuž bylo možné kyvetou posouvat a spektra gelu snímat v rozsahu od vzdálenosti 4 mm od horní hrany (pozice 46 mm na stupnici držáku) až po maximální relevantní vzdálenost vybranou při daném měření (max. pozice 69 mm na stupnici držáku). Ze zjištěných absorbcí při 664 nm, což je vlnová délka jednoho ze čtyř absorpčních pásů methylenové modři (zbylé: 246, 292 a 613 nm), byl určen difúzní profil methylenové modři v gelu. Z jeho tvaru byl následně nelineární regresí vypočten difúzní koeficient a zjištěna absorbance na rozhraní difúzních prostředí.

$$\left| A = A_0 \cdot \operatorname{erfc}\left(\frac{x}{\sqrt{4Dt}}\right) \right|, \quad (17)$$

kde A [-] značí absorbanci naměřenou v čase t a ve vzdálenosti x od rozhraní, extrapolovaná absorbance na rozhraní A_0 [-] a difúzní koeficient D [68].

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

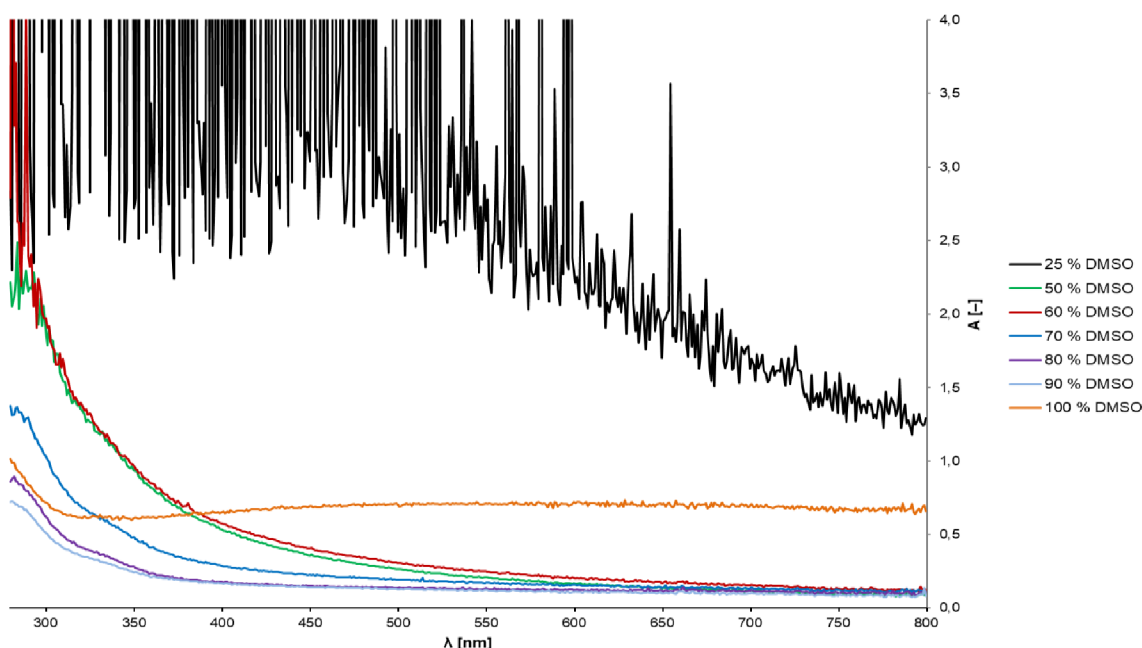
5.1 Pilotní test navržených metod přípravy transparentních PVA hydrogelů

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo nalézt metodu přípravy fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů s požadovanými optickými (vysoká transparentnost) a s modulovatelnými transportními vlastnostmi. Jako vhodný rámcový mechanismus fyzikálního síťování PVA byl na základě výše sumarizované literární rešerše zvolen postup cyklického mražení a rozmrazování roztoku PVA (metoda *freeze-thaw*), jejíž princip spočívá ve fázové separaci v průběhu mrznutí vodného roztoku PVA polymeru. Celý princip této metody byl vysvětlen v podkapitole 2.1.1.

Na základě literární rešerše byly dále vytipovány tři konkrétní směry, kterými by bylo možné dojít k transparentním PVA hydrogelům. První možný směr, který se naskytá je použití organického rozpouštědla DMSO v různých poměrech s vodou. Jako druhý směr následuje ovlivňování rychlosti mražení, a jako poslední se v návaznosti na předešlý směr jeví slibně také možnost přidání kryoprotektantů k minimalizaci strukturních defektů způsobených vznikem krystalů ledu.

5.1.1 Test PVA hydrogelů s obsahem organického rozpouštědla

Na základě článku [61] bylo přistoupeno k vytvoření PVA hydrogelů se směsným rozpouštědlem obsahujícím DMSO jako kosolvent, u kterého bylo potvrzeno, že zvyšuje transparentnost vzniklých hydrogelů. Koncentrační řada DMSO připravená postupem podle podkapitoly 4.3.4 byla na základě literární rešerše podrobena 7 cyklům mražení a tání. Mražení probíhalo po dobu 21 hodin a poté následovalo tání při laboratorní teplotě po dobu 3 hodin. Již po prvních cyklech bylo jasně patrné, že u gelů s nižším obsahem DMSO docházelo k jejich spontánnímu zakalení. Naopak gely s obsahem DMSO vyšším než 50 % byly různě transparentní. Nejlepší výsledky už na první pohled vykazovaly hydrogely s obsahem DMSO 80 a 90 %. Tato skutečnost byla podpořena měřeními na UV-VIS spektrofotometru (Obr. 20).



Obr. 20 Absorpční spektrum PVA hydrogelů připravených s různým obsahem DMSO po 7. cyklu mražení a rozmrazování vzorku

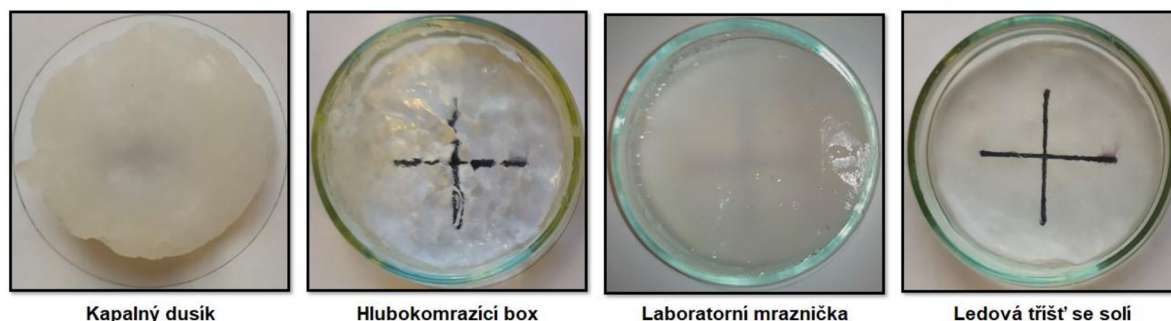
Tímto skriningovým experimentem bylo ověřeno, že při jednoduché implementaci publikovaného postupu do s využitím dostupného laboratorního vybavení je možné připravit PVA gely o požadované míře transparentnosti pouze při vysokých obsazích DMSO (> 50 hm. %). To představuje výraznou limitaci těchto gelů pro plánované použití coby inertní hydrogelové matrice vícekomponentních polymerních sítí především pro vývoj systémů s řízeným uvolňováním aktivních nízkomolekulárních látek. Na jednu stranu vysoká koncentrace kosolventu zhoršuje toxikologické a environmentální parametry materiálu. Vedle toho přítomnost jakékoliv nízkomolekulární komponenty, která se podílí na struktuře gelové sítě, komplikuje předpověď případných časových změn materiálových parametrů u aplikací, kde bude docházet k postupnému uvolňování této komponenty z gelové sítě. Po prvním experimentu tak zůstalo ambicí této práce docílení stejných (případně lepších) optických vlastností bez použití tohoto organického ko-rozpouštědla.

5.1.2 Test vlivu rychlostí mražení na optické vlastnosti PVA hydrogelů

Jako další potenciální mechanismus ovlivnění optických vlastností gelů PVA, připravených fyzikálním síťováním technikou freeze-thaw, kterým se bylo rozhodnuto vydat, byla na základě literární rešerše vybrána optimalizace rychlosti mražení ve vodném prostředí. A to především na základě článku [65], ve kterém se autoři zaměřili na přípravu hydrogelů s vysokým počtem cyklů (15 cyklů) pomalého mražení. To probíhalo při 0 °C po dobu 8 hodin, následovaných 16 hodinami tání při laboratorní teplotě. Z načerpaných vědomostí o síťování, transparentnosti PVA hydrogelů z tohoto článku a vlivu rychlosti na růst krystalů ledu při mražení vyvstala otázka, jaký vliv má na transparentnost právě rychlost mražení.

V realizovaném experimentu byly vybrány čtyři různá kryogenní prostředí s lišící se teplotou (laboratorní mraznička, hlubokomrazicí box, ledová tříšť se solí a kapalný dusík; podmínky uvedeny v Tab. 1). Nejprve bylo nutné zjistit, jak dlouho bude trvat realizace jednoho cyklu v jednotlivých mrazicích prostředích. Proto byly vzorky zásobního roztoku PVA, vyrobeného podle podkapitoly 4.3.3, vloženy v téměř stejný čas do připravených prostředí a každých 15 minut vizuálně kontrolovány až do doby, než byly promrzlé. Proces byl několikrát zopakován, aby byla potvrzena reprodukovatelnost prvních výsledků a následně byly hodnoty časů zprůměrovány. Výsledný čas jednoho cyklu v každém prostředí byl vnesen do Tab. 1.

Po zjištění časové náročnosti jednoho cyklu následoval experiment vlivu rychlosti mražení na transparentnost PVA hydrogelů, kdy všechny vzorky byly podrobeny 5 cyklům mražení a tání v různých prostředích. Po 5. cyklu (Obr. 21) bylo jasně patrné, že rychlost mražení má na transparentnost u hydrogelů připraveným síťováním stejného zdrojového roztoku opravdu klíčový vliv.



Obr. 21 Rozdíly v transparentnosti gelů (10 hm. % PVA) mražených různou rychlostí po 5. cyklu mražení a rozmražování vzorku

Na základě otestovaného vlivu rychlosti na transparentnost PVA hydrogelů bylo jako nejvhodnější z testovaných kryogenních prostředí vybrána ledová tříšť. Díky její vysoké teplotě (blízko rovnovážnému bodu tuhnutí vody, ~ 0 °C), tudíž pomalému mražení a s tím spojenému pomalému nárůstu krystalů ledu bylo docíleno vysoce transparentních PVA hydrogelů.

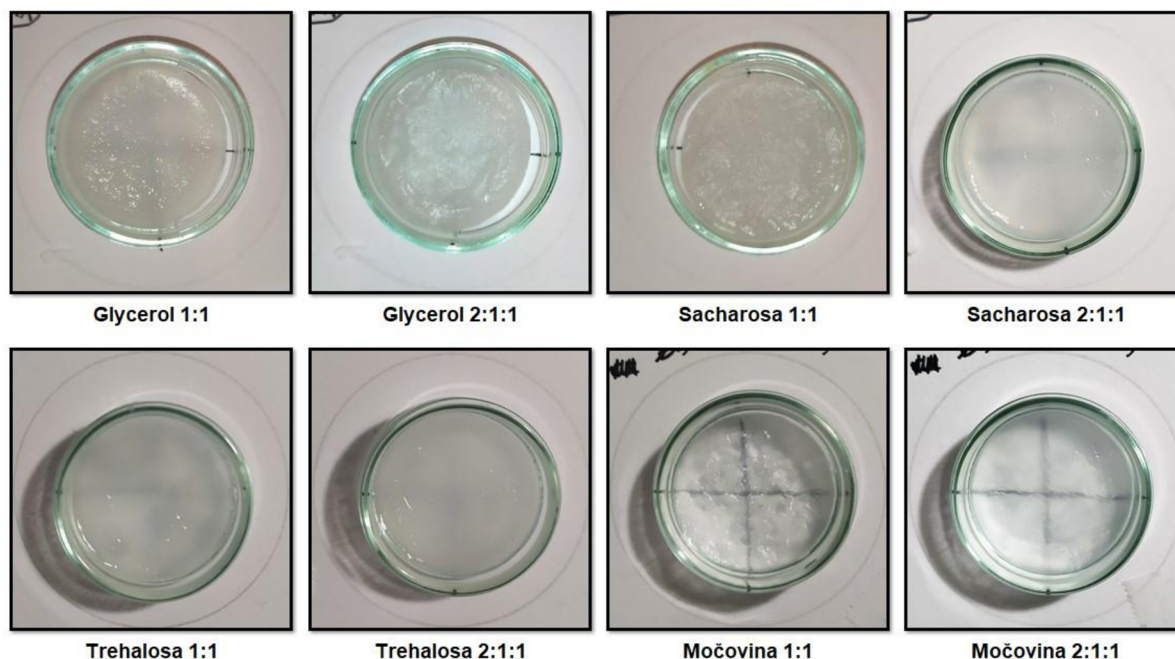
Dále bylo důležité zjistit jaký vliv bude mít na transparentnost koncentrace samotného polymeru PVA při pomalém mražení v ledové tříšti. Byla tedy podle podkapitoly 4.3.5 připravena koncentrační řada PVA (2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 a 15,0 hm. %) a ta byla podrobena cyklování. Výsledky po posledním cyklu ukázaly, že koncentrace polymeru nemá značný vliv na konečné optické vlastnosti. S navyšující koncentrací PVA se sice nepatrně zlepšuje transparentnost, ale příprava a následné zpracování je složitější. Po rozpuštění většího množství PVA vytváří hustou a vysoce viskózní kapalinu. Oproti téměř se neměnicím optickým vlastnostem jsou značně ovlivněny mechanické vlastnosti. To se projevilo nezgelováním vzorků s koncentracemi 2,5 a 5,0 hm. % PVA. Vzorek o koncentraci 7,5 hm. % částečně zgeloval, ale vykazoval viskóznější charakter. Tyto problémy by se pravděpodobně vyřešily delší dobou gelace, nebo navýšením cyklů. U vzorků s vyšší koncentrací PVA takovýto problém nenastal.

5.1.3 Test optických vlastností PVA hydrogelů s přidavkem kryoprotektantů

Z výsledků experimentů prezentovaných v předchozí kapitole se potvrdilo, že klíčový vliv na optické vlastnosti výsledných PVA hydrogelů má kinetika tvorby krystalů ledu při mrazících částech cyklického mražení a rozmrazování. Vhodné podmínky gelace je dle výše komentovaných výsledků možné zajistit pomalou gelací při teplotě blízké bodu tuhnutí vody. Tento postup je nicméně poměrně časově náročný (viz požadované časy mrznutí uvedené v Tab. 1) a také obtížně automatizovatelný (je nutné pravidelné doplňování ledu v lázni). Z toho důvodu vyvstala zajímavá myšlenka otestovat vliv kryoprotektantů na transparentnost PVA hydrogelů při vyšší než optimální rychlosti jejich mražení. Kryoprotektanty jsou vlastně látky, které díky své molekulární struktuře v průběhu mražení zabraňují poškození prostorové polymerní sítě v důsledku omezení růstu krystalů ledu.

Za tímto účelem byly připraveny hydrogely s obsahem vybraných známých kryoprotektantů (trehalosa, sacharosa, močovina a glycerol) v různých poměrech podle podkapitoly 4.3.5. Jako vhodné prostředí s vyšší rychlostí mražení a dobrou možností automatizace byla pro tento experiment vybrána mraznička.

Samotné výsledky nebyly ve většině případů uspokojivé. Různé poměry kryoprotektantů hydrogely zakalovaly, nebo jejich přídavky nepříznivě ovlivňovaly jejich mechanické vlastnosti. To bylo případem trehalosy, sacharosy a glycerolu. Jako nadějná možnost se jevila močovina (Obr. 22), ale při snaze docílení co nejjednodušší polymerní kompozice pro tvorbu semi-IPN hydrogelu (viz diskuse v kapitole 5.1.1) nebyl přídavek močoviny v experimentální části předložené práce dále studován. Nicméně, pro případné systematické navazující studium se močovina na základě realizovaného skriningového experimentů jeví jako potenciálně zajímavá komponenta umožňující další manipulaci s vnitřní strukturou vyvíjených PVA gelů.



Obr. 22 Rozdíly v transparentnosti při použití kryoprotektantů v různých poměrech po 5. cyklu

5.2 Vliv rychlosti mražení na charakter fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů

Na základě výsledků experimentů z předchozí kapitoly 5.1 byla v další sérii experimentů systematicky studována metoda přípravy PVA hydrogelů založená čistě na optimalizaci rychlosti mražení. Ta se lišila v návaznosti na připravených vzorcích, protože ne vždy byly použity všechny čtyři kryogenní prostředí (rychlosti mražení). Primárně byl sledován vliv parametrů přípravy (koncentrace polymeru + rychlost mražení) na základní fyzikálně-chemické charakteristiky PVA hydrogelů, což jsou optické (výsledky již byly diskutovány v kapitola 5.1) a mechanické vlastnosti, a na jejich vnitřní strukturu vizualizovanou technikou SEM. Tyto parametry byly dále systematicky otestovány a vyhodnoceny.

5.2.1 Charakterizace mechanické vlastností

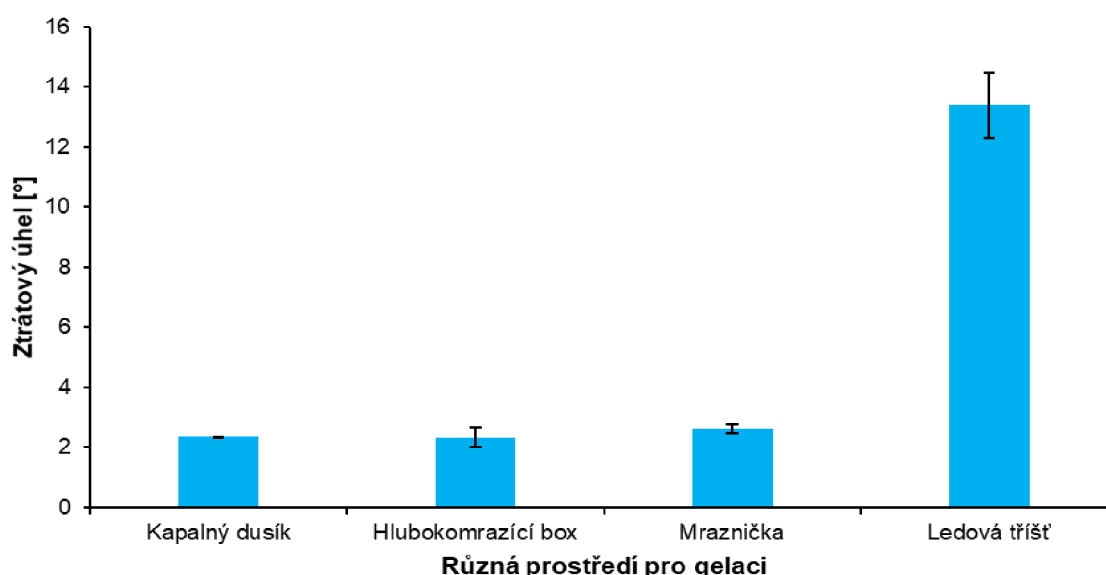
Vybrané PVA hydrogely byly podrobeny charakterizaci mechanických vlastností metodou amplitudového testu, aby byla získána informace o jejich viskoelastických charakteristikách v LVO a o hranici LVO.

V této kapitole byly shrnuty poznatky z měření mechanických vlastností. Při charakterizaci bylo přistoupeno k výběru metody amplitudového testu. Jedná se o měření závislost elastického (paměťového) modulu G' a viskózního (ztrátového) modulu G'' na amplitudě deformace, která se zvyšuje, ale působí při konstantní frekvenci. Pomocí této závislosti je možné určit hranici LVO, a také to, který viskoelastický modul bude převládat, což je důležité pro stanovení deformačního charakteru látky. V případě hydrogelů, které jsou v této práci stěžejní, se obecně v dostupném rozmezí oscilační deformace elastický modul vždy pohybuje nad modulem viskózním a nedochází k tzv. *crossoveru*, ve kterém by hydrogel byl ideálně viskoelastický. Z viskoelastických modulů byly následně vypočítány hodnoty ztrátových úhlů δ . Jeho hodnota poskytuje informace o převládajícím deformačním charakteru vzorku, takže je možné jednoduše určit, jestli se vzorek blíží svojí deformační odezvou spíše ideální kapalině, což mohlo poukázat na nezgelovaný vzorek, nebo spíše k elastickému pevnému tělesu, jak je pro plně sesíťované gelové materiály charakteristické. Dále byly určeny deformační závislosti

hodnoty komplexního modulu G^* coby parametru charakterizujícího celkovou rigiditu vzorku bez ohledu na konkrétní charakter deformační odezvy. Z deformační závislosti G^* byly nakonec postupem dle podkapitoly 4.4.2 určeny hodnoty limitní (kritické) deformace, reprezentující hranici LVO, a tudíž hranici mezi vratnou a nevratnou deformací vzorku (v charakteristickém časovém měřítku daném použitou frekvencí oscilační deformace).

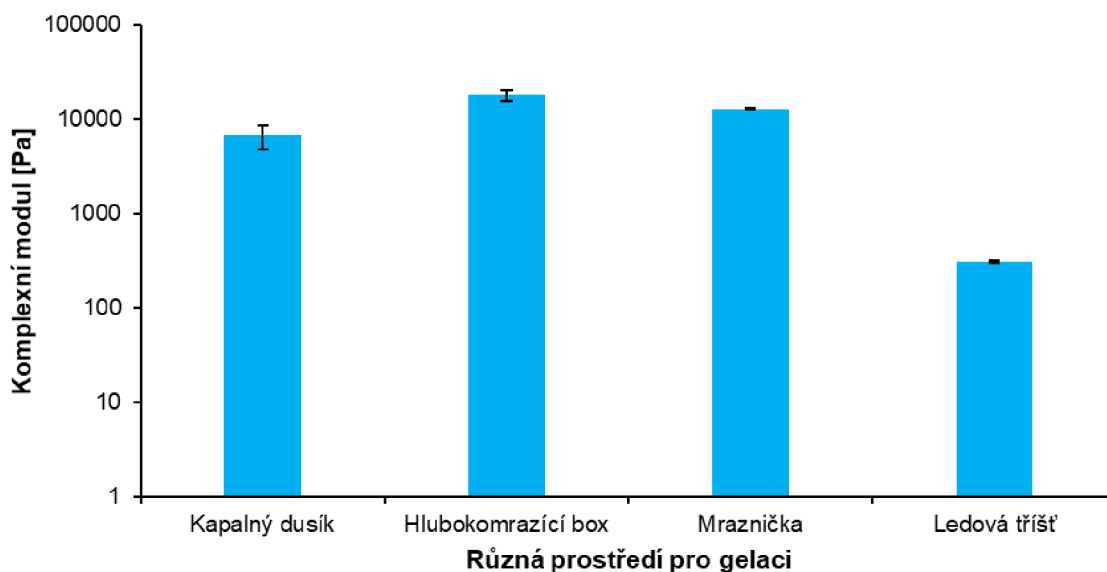
Vzorky, které byly uvedeným způsobem testovány, by mohly být rozděleny do dvou skupin. Do první skupiny spadají vzorky s různým složením a konstantní rychlostí mražení (koncentrační řady PVA, kosolventu DMSO, příp. kryoprotektantu, které byly mrazeny v laboratorní mrazničce). Do druhé skupiny je poté možné zařadit vzorky složené pouze z PVA a vody, které byly připravovány různými rychlostmi mražení.

Jako stěžejní byly vybrány vzorky měřené při různých rychlostech mražení a z nich byly připraveny příslušné grafy pro vyhodnocení. Na Obr. 23 jsou znázorněny hodnoty ztrátových úhlů středových bodů LVO, Obr. 24 prezentuje hodnoty komplexních modulů stejné vyhodnocené oblasti a na Obr. 25 jsou znázorněny hodnoty amplitud deformací hraničních bodů LVO. Jak je na první pohled zřejmé z Obr. 23, z hlediska charakteru deformačního chování se ve většině případů gely připravené různou rychlostí prakticky neliší. Kapalný dusík, hlubokomrazicí box i mraznička mají téměř shodné hodnoty ztrátových úhlů pohybujících se okolo hodnoty 3° , což reprezentuje vysoce elastické vzorky. Vzorek připravený v ledové tříšti se od ostatních liší nejvíce. Odlišnost ve ztrátovém úhlu je možné v prvním přiblížení považovat za známku odlišnosti v charakteru uzlových oblastí gelové sítě. Jak je známo, rychlost mrznutí vody (podle toho, při jaké je to teplotě) ovlivňuje rychlost růstu krystalů ledu, které na fázovém rozhraní tlačí řetězce polymeru. Díky tomu je u prvních třech prostředí docíleno kontaktu většího počtu řetězců v kratším časovém úseku a tím vytvoření podmínek pro více fyzikálních spojů. V ledové tříšti dochází díky poměrně vysoké teplotě k pomalému nárůstu malých krystalů, které přiblíží menší počet řetězců a vznikají spojně oblasti, které jsou prostorově menší a z hlediska stability při deformaci méně odolné. I v případě gelu připraveného pomalým mražením však hodnoty ztrátového úhlu v oblasti LVO ($\sim 15^\circ$) naznačují výraznou převahu elastického charakteru deformace vzniklé gelové sítě.



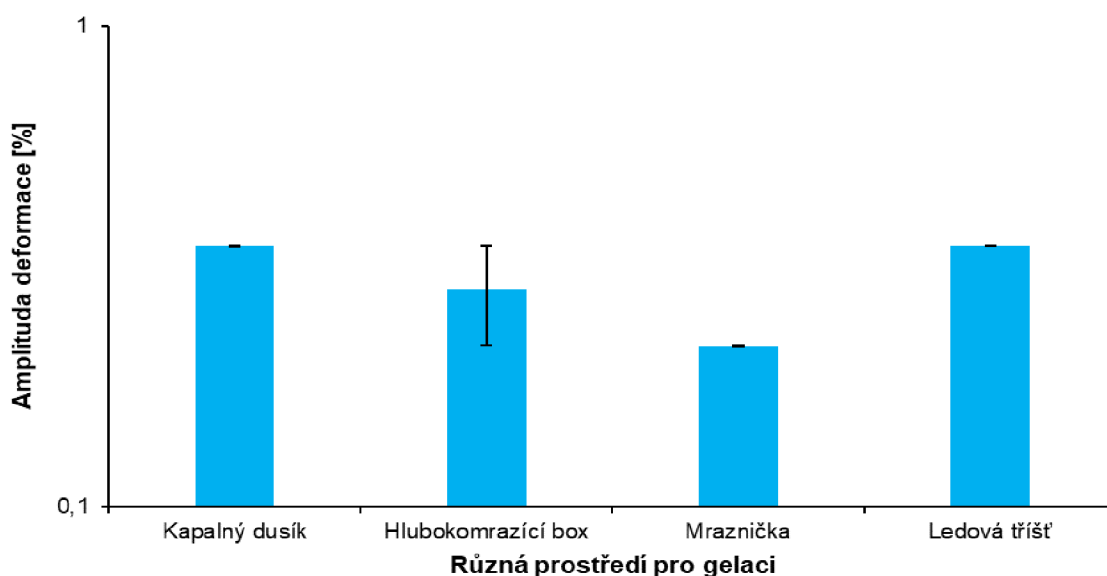
Obr. 23 Závislost ztrátového úhlu na prostředích o různé teplotě pro zásobní roztok PVA

Komplexní moduly podporují závěry získané z porovnání ztrátových úhlů, které poskytují informaci především o kvalitě spojných oblastí gelové sítě, a doplňují ji o informaci o hustotě síťování (koncentraci spojných oblastí). Hodnoty prvních třech prostředí jsou opět téměř totožné a reprezentují tak vyšší hustotu síťování oproti vzorku připraveném v ledové tříšti.



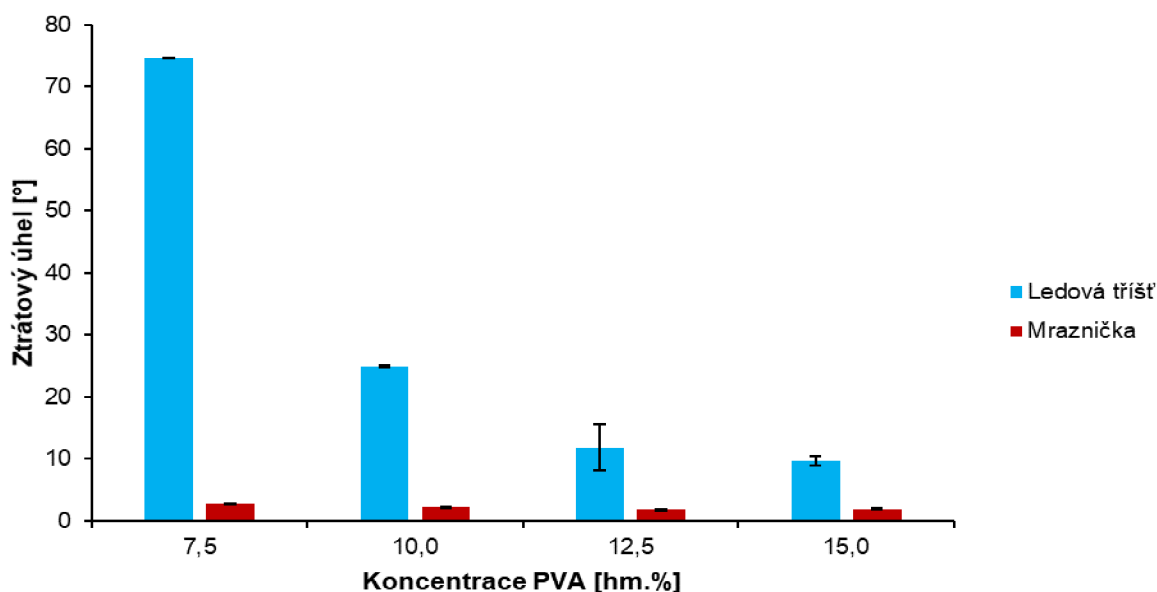
Obr. 24 Závislost komplexního modulu na prostředí o různé teplotě pro zásobní roztok PVA

Z kritických deformací, uvedených na Obr. 25, je možné usoudit, při jaké amplitudě deformace dochází k „nevratnému“ poškození 3D sítě gelu, tj. kdy relaxace gelové sítě vyžaduje delší čas, než odpovídá rychlosti deformace. Hodnoty se u různých prostředí téměř neliší, a proto by se dalo usuzovat, že rychlost mrznutí příliš neovlivňuje tuto veličinu. Uzlové oblasti jednotlivých gelů, přestože se dle výše diskutovaných závěrů porovnání komplexních modulů a ztrátových úhlů, liší jak svojí kvalitou, tak svým obsahem, jsou z hlediska vazeb podílejících se na jejich formování natolik podobné, že všechny porovnávané vzorky vykazují přibližně stejnou deformační hranici, za níž dochází k nevratnému kolapsu gelové sítě.



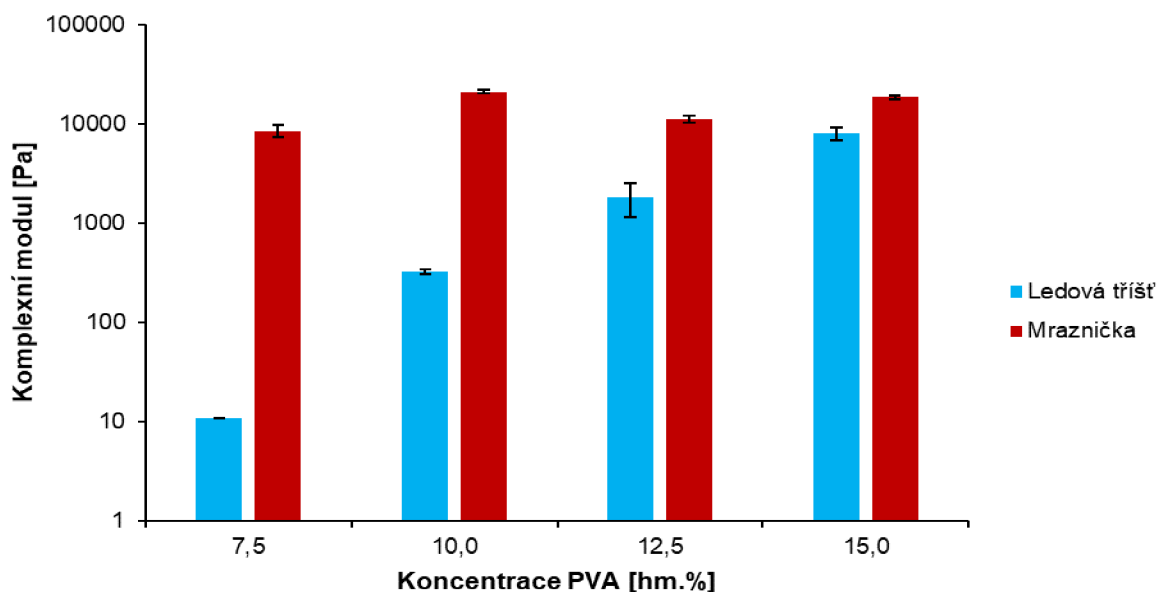
Obr. 25 Závislost amplitudy deformace na prostředí o různé teplotě pro zásobní roztok PVA

Jako další byly vybrány sady řad různých koncentrací PVA ve vzorku připraveném v mrazničce a v ledové tříšti. Pro ně byly přichystány totožné grafy jako u předchozího vyhodnocení pro rychlosti mražení. V grafu ztrátových úhlů (Obr. 26) je patrné, že nejnižší hodnoty ztrátového úhlu vykazují všechny koncentrace PVA hydrogelů připravených v mrazničce. Klesají, ale téměř se neliší. Nebyla u nich překročena hranice 5°, takže můžeme říct, že se jedná o téměř ideálně elastické vzorky. Na druhou stranu charakter PVA hydrogelů připravených v ledové tříšti se značně liší podle obsahu PVA ve vzorku. Nejvyšší ztrátový úhel náleží vzorku obsahující 7,5 hm. % PVA. Tento vzorek se choval již při vizuálním hodnocení jeho konzistence viskózněji a tímto měřením byla tato informace potvrzena. To je možné přisuzovat nedokončené gelaci vzorku, což mohlo být způsobeno nedostatečnou dobou gelace, nebo nízkým počtem freeze-thaw cyklů. Při navyšujícím se obsahu PVA ve vzorku ztrátový úhel klesá. Pro ostatní vzorky klesly hodnoty ztrátového úhlu v LVO pod hranici 45° a tyto vzorky tudíž vykazují již převážně elastický charakter.

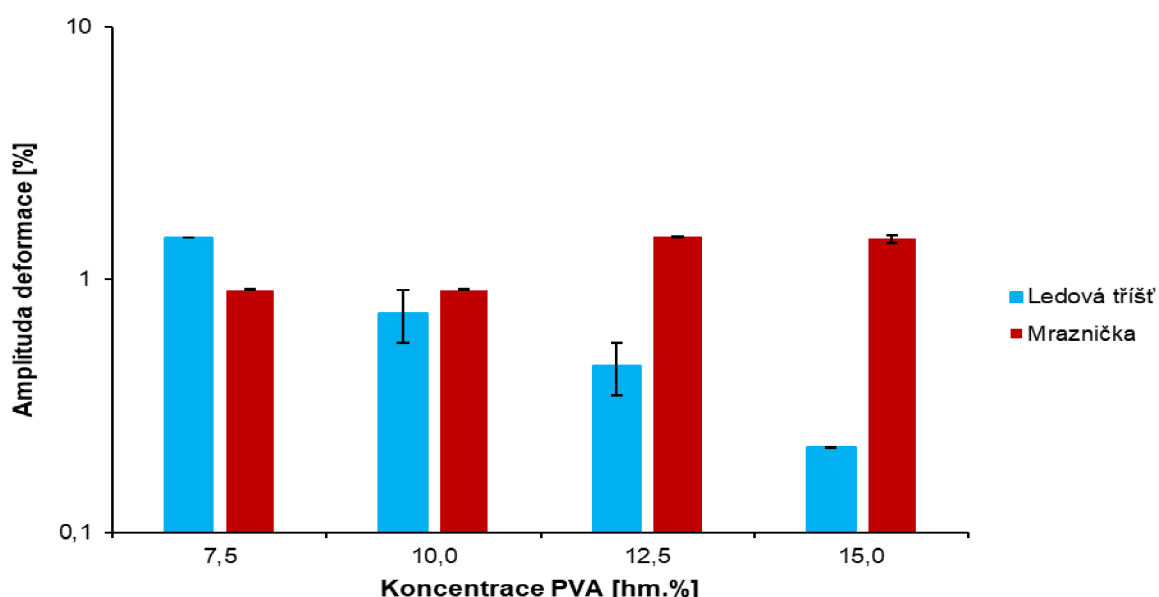


Obr. 26 Závislost ztrátového úhlu na koncentraci PVA při různých rychlostech gelace

Srovnání hodnot komplexních modulů (Obr. 27) opět podporuje informace získané z porovnání ztrátových úhlů. Vzorky připravené v mrazničce mají vysoké hodnoty komplexních modulů. To poukazuje na jejich vysokou rigiditu, která se s navyšující se koncentrací PVA téměř neliší. Naopak vzorky připravené v ledové tříšti vykazují opačný trend oproti ztrátovým úhlům. Tudíž, s poklesem hodnot ztrátových úhlů se navyšuje tuhost vzorků, což je s vysokou pravděpodobností známkou rostoucí koncentrace uzlových oblastí v gelové síti.



Obr. 27 Závislost komplexního modulu na koncentraci PVA při různých rychlostech gelace



Obr. 28 Závislost amplitudy deformace na koncentraci PVA při různých rychlostech gelace

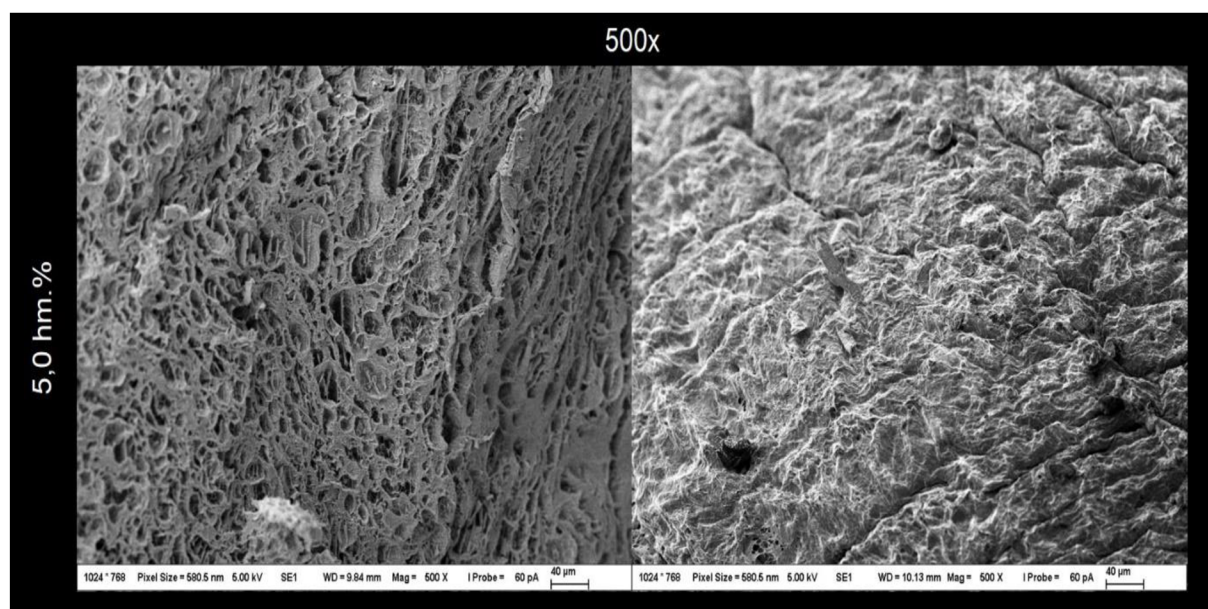
Konečně, také kritické amplitudy deformací (Obr. 28) podtrhávají výše uvedené závěry. Jelikož mají vzorky připravené v mrazničce téměř totožnou kvalitu i koncentraci spojných oblastí, tak na jejich nevratnou deformaci bylo potřeba působit téměř shodnou hodnotou amplitudy deformace. Oproti tomu vzorky připravené v ledové tříšti vykazují oproti komplexnímu modulu opět opačný trend a s rostoucím obsahem PVA klesá limitní amplituda deformace. To je zajímavé, a ne zcela jednoduše interpretovatelné zjištění. V případě nejvyšší hodnoty limitní deformace pro vzorek s obsahem PVA 7,5 % je třeba brát v úvahu, že tento viskózní vzorek nevykazuje ve svém deformačním chování výrazné známky elasticity, takže hranici LVO zde není možné chápat jako okamžik nevratného porušení polymerní sítě v jeho struktuře. V případě gelů s vyšším obsahem PVA je však kombinace rostoucí elasticity a rigidity

(vyjádřené ztrátovým úhlem a komplexním modulem) s klesající hranicí LVO zajímavým fenoménem, který by bylo vhodné blíže prostudovat v navazující experimentální práci.

5.2.2 Charakterizace vnitřní struktury

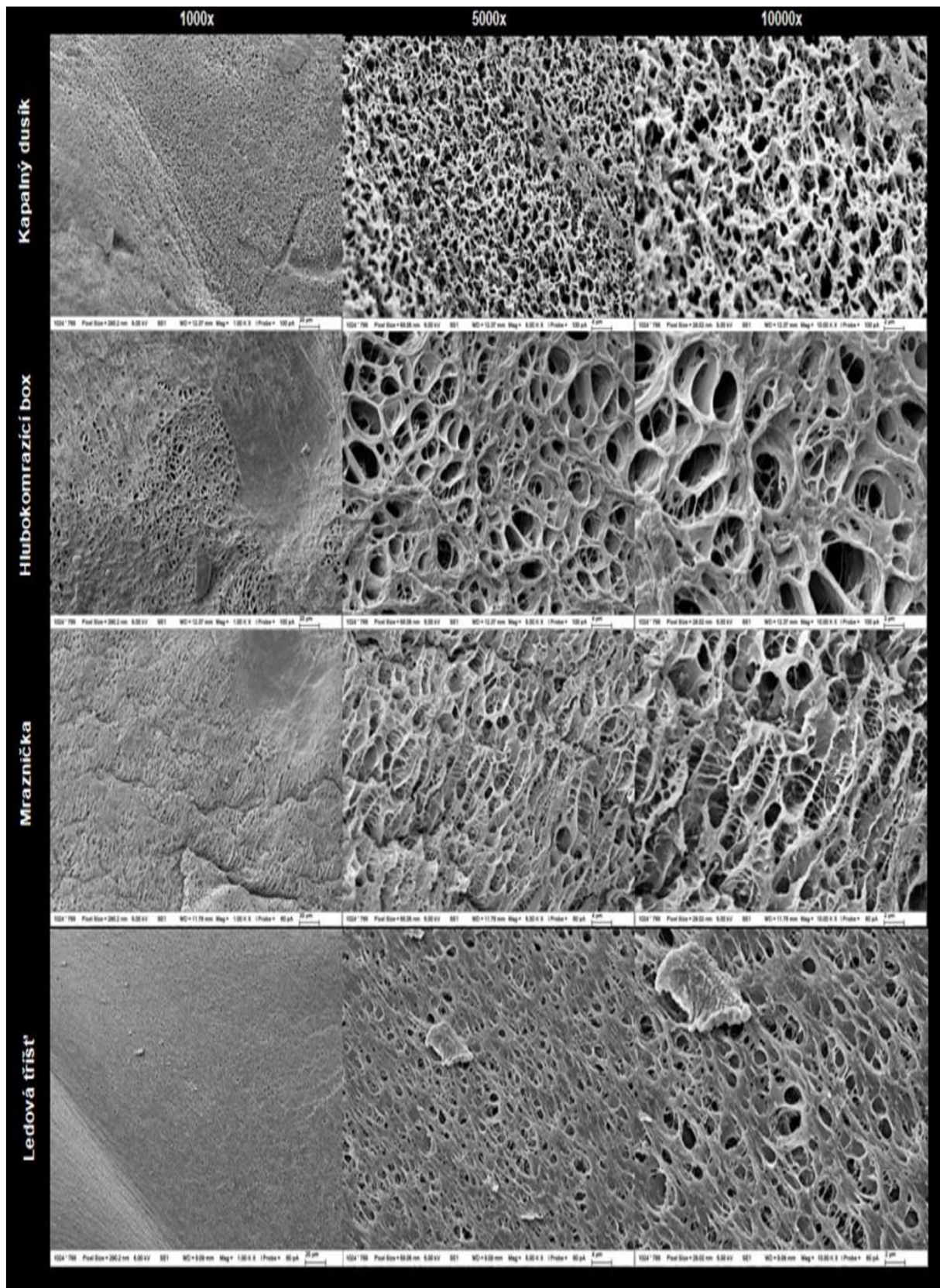
Pro nahlédnutí do reálné struktury PVA hydrogelů byla využita technika SEM. Díky ní by bylo možné pozorovat změny způsobené například změnou koncentrace polymeru, ale především změny, které byly způsobeny různými obměnami gelační procedury. Z hlediska limitované kapacity techniky byl ovšem výběr analyzovaných omezen na koncentrační řady PVA (mraženou v laboratorní mrazničce a ledové tříšti) a vzorky připravené různou rychlostí mražení. Pro vzorky obsahující kryoprotektanty, a především DMSO je navíc zobrazení struktury vzorků pomocí SEM limitováno jejich komplikovanou lyofilizací.

V průběhu měření na SEM musela být hledána vhodná místa pro mikroskopickou analýzu, jelikož vlivem způsobu přípravy vzorků pro SEM analýzu (šokové mražení a následné přenesení vzorku do lyofilizátoru), že značná část vzorků měla na většině svého povrchu zhroucenou strukturu (Obr. 29) v důsledku částečné rekrystalizace vody a bylo tedy obtížné najít reprezentativní místo pro vizualizaci.

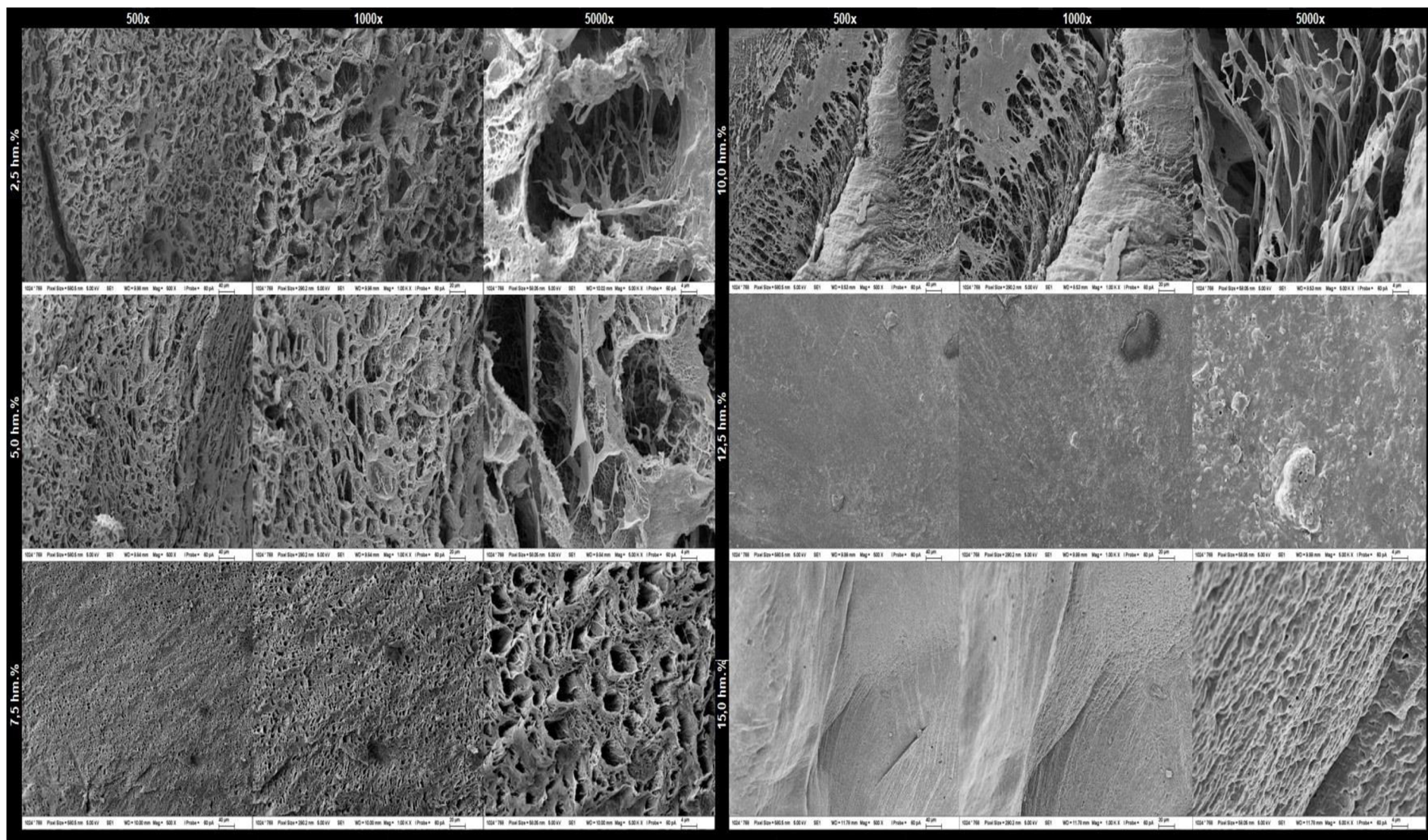


Obr. 29 Hledání vhodného místa pro vizualizaci; dvě fotografie totožného vzorku při totožném přiblížení poukazující na část s nezhroutenou strukturou (vlevo) a naopak zhroutenou (vpravo); vzorek PVA připravený v mrazničce

Jako první byla vybrána sada vzorků připravených různými rychlostmi mražení (Obr. 30). Při maximálním přiblížení má jasně viditelnou porézní strukturu s různou velikostí pórů, která závisela na způsobu mražení a pohybovala se v rozmezí stovek nanometrů až jednotek mikrometrů.



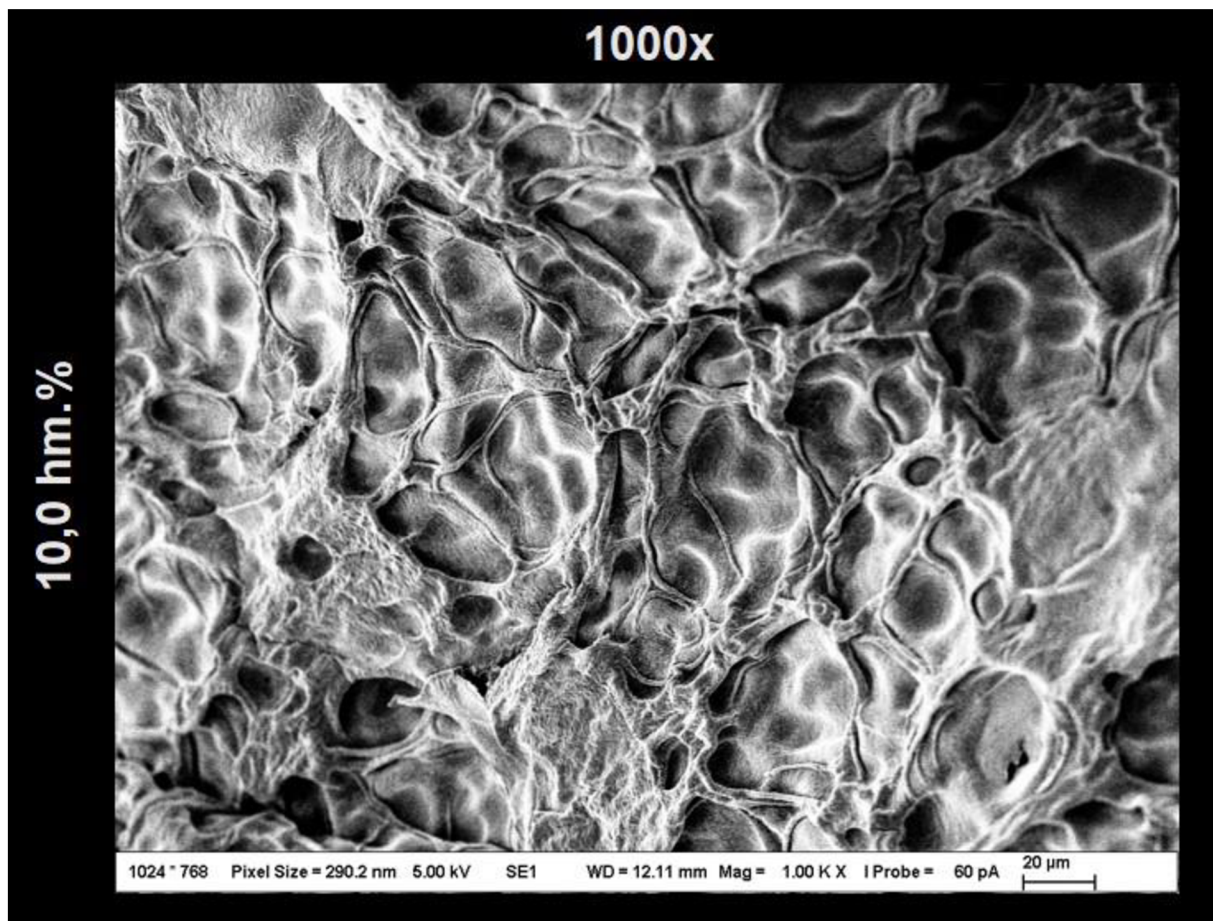
Obr. 30 Zobrazení struktury hydrogelů o koncentraci PVA 10 hm. % připravených různými rychlostmi mražení při odlišných přiblíženích; pořízeno skenovacím elektronovým mikroskopem ZEISS EVO LS 10



Obr. 31 Zobrazení struktury hydrogelů – PVA řada, připravených v mrazničce při odlišných přiblíženích; pořízeno skenovacím elektronovým mikroskopem ZEISS EVO LS 10

U řady PVA hydrogelů mražených v mrazničce (Obr. 31) je i přes zhroucenou strukturu viditelný trend ve změně velikosti pórů. S navyšující koncentrací obsahu polymeru se zmenšují póry. Je to způsobeno větším obsahem polymeru (gelotvorné složky), který zajistí vyšší hustotu síťování. Hydrogely v rozmezí koncentrací 2,5 až 7,5 hm. % PVA ve vzorku mají téměř totožnou porézní strukturu s velikostmi pórů od desítek mikrometrů (hydrogely s 2,5 hm. % PVA) do jednotek mikrometrů, případně stovek nanometrů (hydrogely se 7,5 hm. % PVA). Vzorek s 10 hm. % PVA se jeví jako neuspořádaná spleť vláken, pomalu se slévajících do hladkého povrchu. Nakonec zbylé dvě koncentrace s 12,5 a 15,0 hm. % PVA jsou zcela hladké, popřípadě jsou zde povrchové nerovnosti hydrogelu tvořící vyvýšeniny, prolákliny, nebo povrchové sraženiny. U těchto dvou vzorků se patrně nepovedlo nalézt vhodné místo pro fotografování a pravděpodobnost, že u tohoto vzorku dojde k zachování nativní struktury gelu, je díky vysoké koncentraci polymeru a výše zmíněných experimentálních artefaktů spojených s přípravou vzorku pro analýzu minimální.

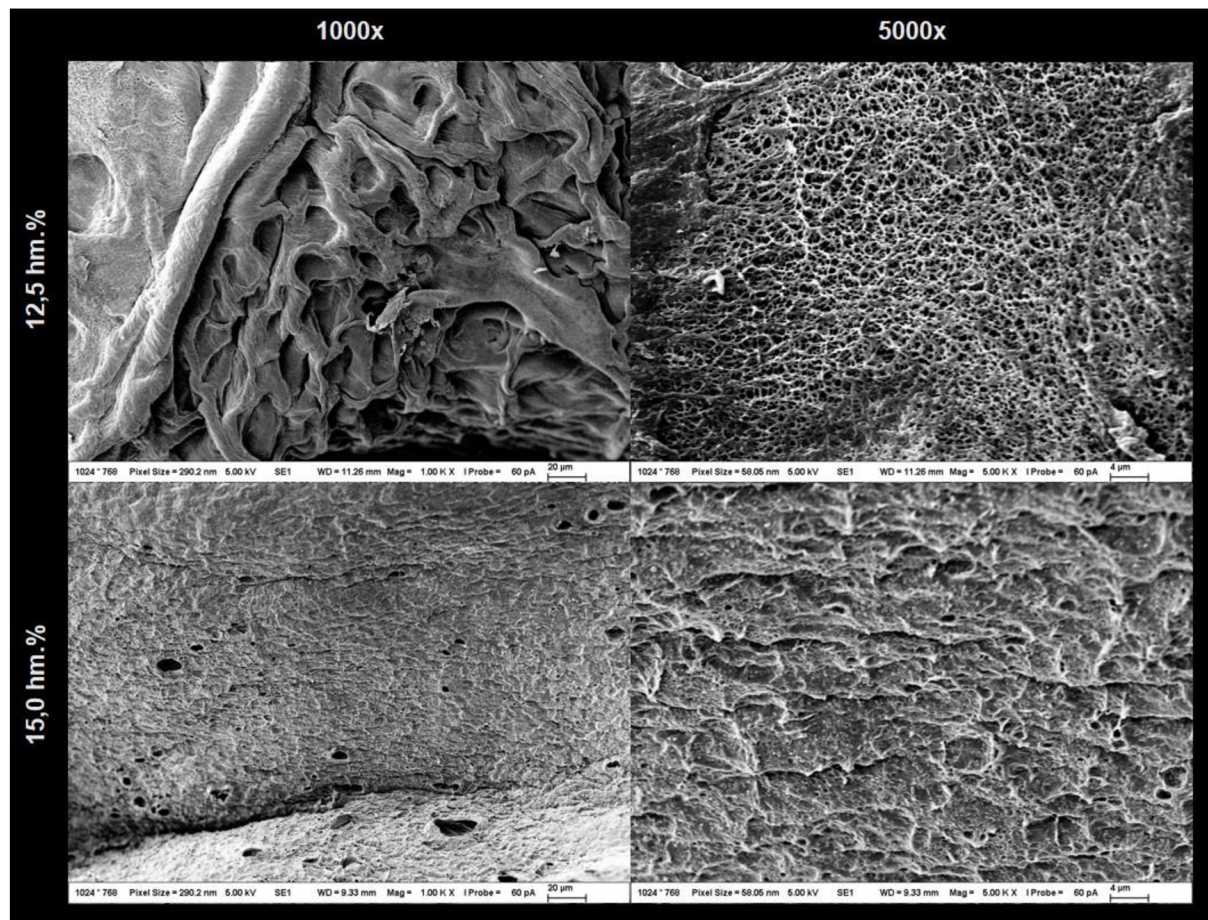
Byly foceny i vzorky PVA řady mražené v ledové tříšti, ale nebylo u nich možné porovnávat porozitu pro koncentrace nižší než 7,5 hm. %. Jak již bylo zmíněno, při těchto podmínkách gelace nebylo možné tyto vzorky považovat za hydrogely (nevzniká 3D síť), ale za viskózní kapaliny. Proto nemělo smysl tyto vzorky lyofilizovat a dále studovat. U vzorku s obsahem 10,0 hm. % PVA (Obr. 32) se nepovedlo nalézt žádné místo s neporušenou porézní strukturou.



Obr. 32 Vzorek hydrogelu s 10,0 hm. % PVA; špatný kontrast

I vzorek s koncentrací 12,5 hm. % PVA (Obr. 33) se na první pohled jevil při 1000násobném zvětšení jako jednolitý hrubý povrch. Ovšem při 5000násobném zvětšení je patrná mikroporézní struktura s velikostí pórů v desítkách až stovkách nanometrů. U posledního

vzorku s koncentrací 15,0 hm. % PVA (Obr. 33) je při obou přiblížení, které byly použity u předchozího vzorku, zřejmé, že povrch je značně zdrsňelý s velice řídkce rozprostřenými póry malých rozměrů.



Obr. 33 Zobrazení struktury hydrogelů – PVA řada, připravených v ledové tříšti při odlišných přiblíženích; pořízeno skenovacím elektronovým mikroskopem ZEISS EVO LS 10

5.3 Ovlivnění transportních vlastností fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů inkorporací reaktivní polymerní komponenty do jejich struktury

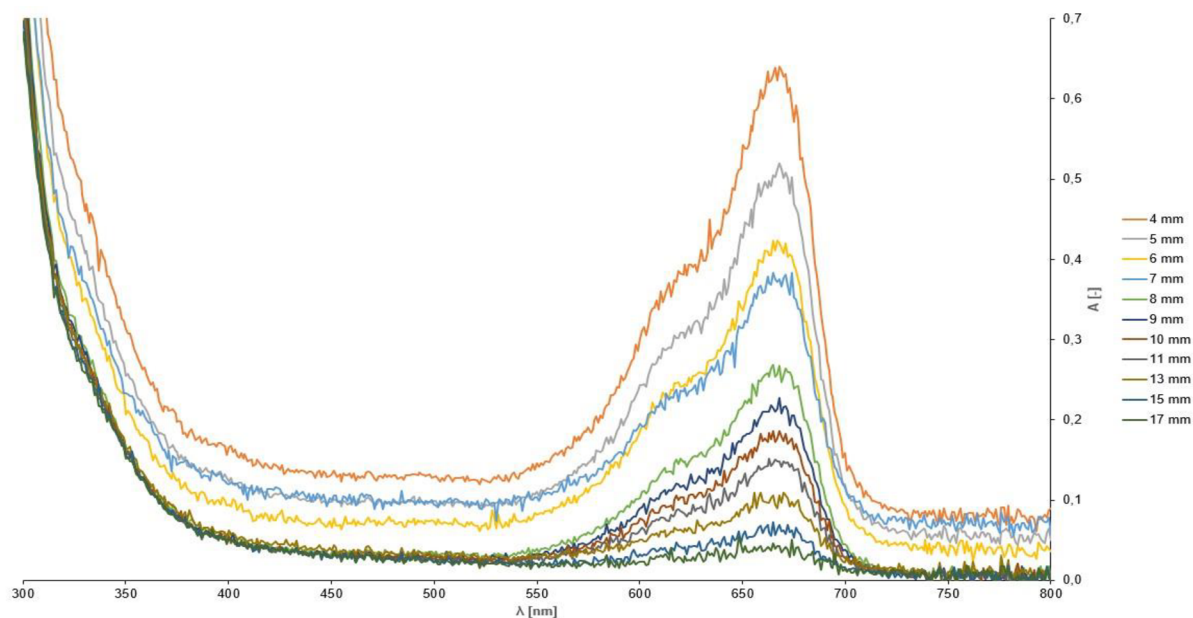
Jak už bylo několikrát zmíněno, primární ambicí této práce bylo připravit fyzikálně síťovaný gel na bázi PVA, který by bylo možné použít jako gelotvornou matici pro přípravu hybridních sítí s inkorporovanou polymerní složkou, jejíž primární funkcí by bylo modifikovat transportní a bariérové vlastnosti finálního materiálu. Z toho důvodu byla na základě výsledků materiálových analýz připravených PVA gelů (viz kapitoly 5.1–5.2) zvolena finální kompozice PVA gelu, na níž byla ověřena možnost inkorporace modelové polymerní složky. Jako gelotvorná matrice byl zvolen gel s obsahem 15 hm. % PVA připravený pomalým mražením v ledové tříšti po dobu 5 cyklů. Jako modelová polymerní složka byl v souladu s výzkumným projektem, jehož je předložená bakalářská práce součástí, vybrán poly(styren sulfonát) sodný (PSS).

Bylo zjištěno, že uvedená technika gelace umožňuje homogenní rozptýlení PSS bez jakékoliv potřeby postup gelace modifikovat. Podařilo se nám připravit gely s rozsahem koncentrací 0,002–0,01 hm. % PSS inkorporovaných do vnitřní struktury gelu. Při použití vyšších koncentrací PSS (0,1 hm. % PSS) docházelo k obarvení gelu došluta v důsledku přidání reaktivní komponenty.

Na závěr bylo třeba ověřit, že přítomnost inkorporovaného PSS skutečně ovlivňuje transportní vlastnosti hybridního gelového materiálu. Jako vhodná technika pro experimentální potvrzení tohoto předpokladu byla vybrána metoda difúzních párů, která byla popsána v podkapitolách 2.2.4 a 4.4.4. V průběhu této metody byl sledován vstup difundující látky (methylenové modři, tato difúzní sonda byla zvolena opět v souladu s rámcovým projektem v rámci, něhož je tato bakalářská práce řešena) z prostředí o konstantní koncentraci této látky do prostředí, ve kterém se tato látka původně nenacházela, a navíc obsahovala různé koncentrace PSS. Začátek experimentu nastal v okamžiku spojení dvou difúzních prostředí (kyvet) a probíhal do doby, než byly opět rozpojeny a měřeny. To se dělo v přesně stanovených intervalech (24, 48 a 72 hodin). Pro zhodnocení vlivu PSS byl stejným způsobem realizován i difúzní pár bez přídavku polyelektrolytu, který sloužil jako modelový vzorek pro porovnání s ostatními vzorky.

5.3.1 Charakterizace transportních vlastností

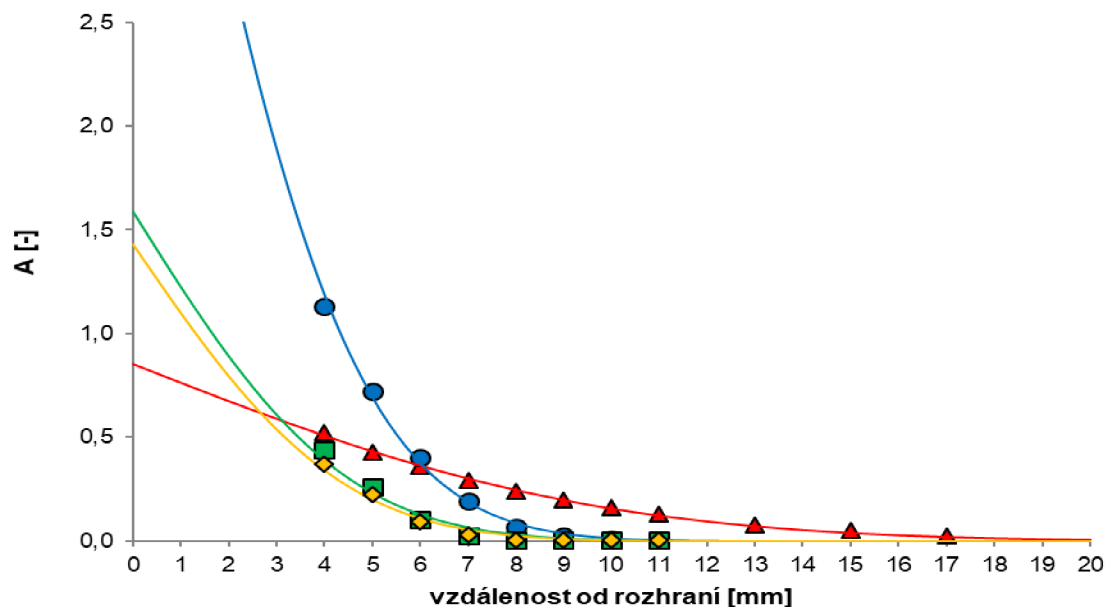
Pro experimentální charakterizaci rychlosti difúze vybrané sondy (methylenová modř) v PVA gelech bez, resp. s přídavkem PSS byl vybrán vzorek připravený podle podkapitoly 4.3.5 s obsahem 15,0 hm. % PVA. Ve zvolených časech byl difúzní pár rozpojen a v přijímacím gelu byla pomocí speciálního nástavce s řízeným vertikálním posunem vzorku měřena UV-VIS spektra v různých vzdálenostech od rozhraní. Měření probíhalo na posuvném držáku kyvet s posunem hladiny o jeden, popřípadě dva milimetry. V MS Excel byla následně sestrojena absorpční spektra pro difundující látku, jak postupovala přijímacím prostředím. Jako příklad bylo vybráno absorpční spektrum přijímacího hydrogelu s obsahem 0 hm. % PSS po 72 hodinách (Obr. 34). Tímto způsobem byla vyhodnocena a upravena všechna data z měření prostupu methylenové modři. Při měření jednotlivých hladin klesal obsah difundující látky směrem od hrany kyvety, což se projevilo poklesem absorpance methylenové modři při 664 nm.



Obr. 34 Absorpční spektrum přijímacího PVA hydrogelu s 0 hm. % PSS po 72 hodinách

Surová absorpční spektra byla následně korigována (automatické vyhlazení, korekce základní čáry) v programu OriginPro postupem vyvinutým na pracovišti školitele a podrobně popsáným v práci [68]. Z korigovaných absorpčních spekter byly získány hodnoty difúzních profilů (závislost korigované absorpance při charakteristické vlnové délce absorpce methylenové

modři 664 nm), které byly pomocí nelineární regrese (modul Řešitel v programu Excel) proloženy teoretickým modelem (viz rovnice (17)) a jako regresní parametry byly určeny difúzní koeficient a extrapolovaná hodnota absorpance na rozhraní difúzního páru. Jako příklad byl vybrán profil pro hydrogely z první sady s různým obsahem PSS po 72 hodinách (Obr. 35).

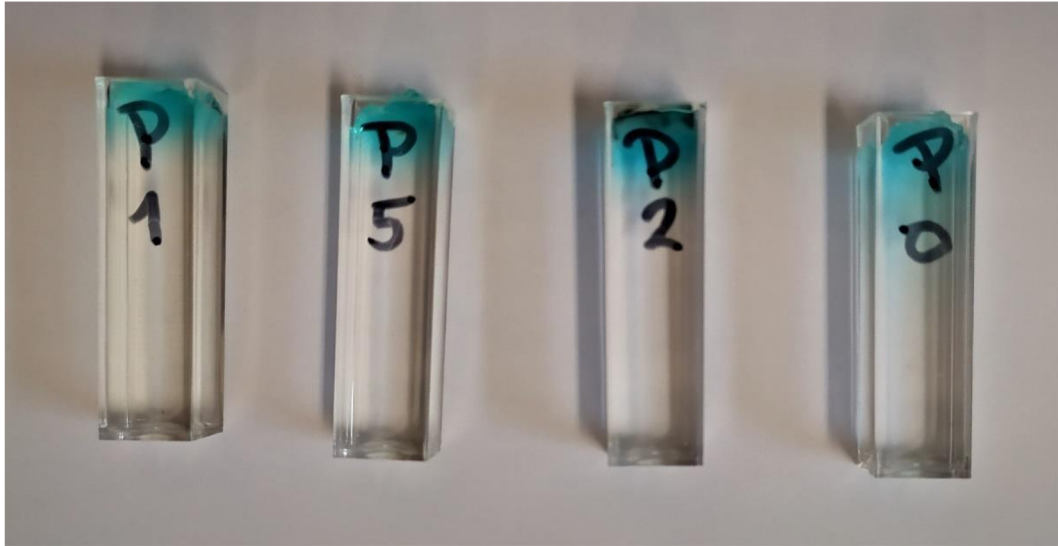


Obr. 35 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogely s různou koncentrací PSS po 72 hodinách (1 ze 2 sad vzorků); barevné čáry představují vypočítané teoretické modely (červený: 0 hm. % PSS, modrý: 0,002 hm. % PSS, zelený: 0,005 hm. %, žlutý: 0,01 hm. % PSS) a body reprezentují naměřené hodnoty korigovaných absorpancí.

Vyhodnocená data difúzních koeficientů a absorpancí na rozhraní PVA hydrogelů v závislosti na obsahu polyelektrolytu (PSS) byly vyneseny v Tab. 3. Ze zobrazených dat je patrné, že s navyšující se koncentrací PSS se výrazně zpomaluje rychlost difúze mezi přijímacím difúzním prostředím. Tyto výsledky potvrdily vizuální pozorování (Obr. 36), které bylo při každém měření prováděno. Vedle toho absorpance, jakožto veličina úměrná koncentraci, poukazuje na fakt, že hydrogely s vyšší hodnotou absorpance na rozhraní si v tomto místě zakonzentrovávají použité barvivo. Navíc PSS při žádné přidané koncentraci nezakaloval námi připravené transparentní vzorky.

Tab. 3 Rozdílné difúzní koeficienty a absorpance na rozhraní v závislosti na koncentraci inkorporovaného PSS do PVA hydrogelu

Koncentrace polyelektrolyty [hm. %]	$D [m^2 \cdot s^{-1}]$	$A [-]$
0,000	$1,125 \pm 0,219$	$0,799 \pm 0,074$
0,002	$0,208 \pm 0,045$	$2,954 \pm 1,998$
0,005	$0,156 \pm 0,054$	$3,205 \pm 1,412$
0,010	$0,144 \pm 0,072$	$1,364 \pm 0,727$



Obr. 36 Pozorování PVA hydrogelů po 72 hodinách; koncentrace PSS stoupá zprava doleva

Uvedený experiment tak jednoznačně prokázal, že připravené fyzikálně síťované PVA gely jsou použitelné jako matrice hybridních semiIPN sítí. Inkorporace sorpčně aktivní složky (v realizovaném experimentu PSS) vede k výrazné změně transportních vlastností gelu. Optimální optické vlastnosti PVA gelu (vysoká transparentnost) přitom umožňuje implementovat pro charakterizaci těchto transportních vlastností metodiku, vyvinutou a pro opticky čiré gely dlouhodobě využívanou na pracovišti školitele v rámci projektu, jehož je předložená bakalářská práce součástí.

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo nalézt vhodnou metodu pro fyzikálně síťované hydrogely na bázi PVA s požadovanými optickými vlastnostmi a s možností modifikovat transportní vlastnosti materiálu inkorporací přídavné polymerní složky. Ambicí vývoje těchto gelů bylo nahradit v rámci komplexního studia semi-IPN hydrogelů dosud využívané PVA materiály síťované chemickou cestou.

Na základě literární rešerše byla za tímto účelem vybrána metoda fyzikálního síťování *freeze-thaw*. Dále byly vytyčeny tři základní směry pro optimalizaci optických vlastností takto síťovaných gelů: použití organického ko-rozpouštědla, vliv rychlosti mražení s vodou jako jediným rozpouštědlem a ovlivnění vnitřní struktury gelu přídavkem kryoprotektantů. Na základě pilotního skriningového experimentu, navrženého a realizovaného pro každý z uvedených směrů bylo zjištěno, že každý zmíněný směr měl své klady a zápory. Gely s obsahem 80 a 90 % organického rozpouštědla DMSO vykazovaly skvělé transparentnosti, avšak při těchto koncentracích již nejsou zajímavé z pohledu *biofriendly* aplikací. Testování vlivu rychlosti mražení na transparentnost hydrogelů v čistém rozpouštědle (voda) přineslo zajímavé výsledky. Rychlost mražení (teplota) ovlivňuje růst krystalů ledu, které se podílejí na vzniku prostorové sítě a ve výsledku všechny faktory, které mají vliv na vnitřní strukturu takto vzniklé sítě, ovlivňují výslednou transparentnost i mechanické vlastnosti. V tomto testování bylo jako nejlepší kryogenní prostředí zvolena lázeň z ledová tříšť, ve které docházelo k pomalému mražení a vzniku vysoce transparentních PVA hydrogelů při různých koncentracích polymeru uvnitř struktury. V návaznosti na to byl testován vliv kryoprotektantů, kdy tyto látky mohli napomoci ve výsledné transparentnosti vlivem ochrany polymerních řetězců proti narůstajícím krystalům ledu, a to i při vyšších rychlostech mražení, přinášejících úsporu času a lepší možnost automatizace přípravy. Na základě provedeného experimentu bylo ovšem zjištěno, že u většiny použitých kryoprotektantů (trehalosa, sacharosa a glycerol) docházelo v důsledku jejich přídavku naopak k zakalování vzorků. Kryoprotektantem, jenž vykazoval dobré výsledky, a zároveň zlepšoval transparentnost, byla močovina. Ze všech otestovaných směrů byla nakonec vybrána finální procedura přípravy transparentních fyzikálně síťovaných PVA hydrogelů, a to pomalé mražení v ledové tříšti bez přídavku dalšího ko-solventu nebo kryoprotektantu. I přes poměrně časově náročnou metodu bylo docíleno vysoce transparentních PVA hydrogelů bez zbytečných aditiv, které by mohly způsobovat problémy například u interpretace výsledků difúzních experimentů, u nichž by docházelo k postupnému uvolňování těchto nízkomolekulárních složek, což by mohlo vést k časové nestabilitě struktury a transportních vlastností takto připravených gelů.

Mechanické vlastnosti připravených gelových materiálů byly otestovány pomocí reologie. Na vybraných vzorcích byly provedeny amplitudové testy, díky kterým byly stanoveny lineární viskoelastické oblasti (LVO) jednotlivých hydrogelů. Na základě amplitudových závislostí ztátového úhlu byly pro jednotlivé gely diskutovány odlišnosti v charakteru uzlových oblastí v jejich polymerních sítích. Podobně z amplitudové závislosti komplexní modulu bylo usuzováno na hustotu sesíťování v jednotlivých gelech. Stabilita sítě vůči nevratným změnám způsobeným deformací byla reprezentována limitní amplitudou deformace, představující hranici LVO daného materiálu. Bylo zjištěno, že vzorky zásobního roztoku PVA měřené při různých rychlostech mražení mají téměř shodné hodnoty ztrátových úhlů, tedy až na ledovou tříšť, která se vymyká. I přes to všechny vzorky vykazují převážně elastický charakter. Rigidita dána komplexním modulem se opět liší pouze u vzorků vytvořených v ledové tříšti, u kterých je nižší, což značí, že vzorky nejsou tak tuhé. Výsledky amplitud deformací se téměř neliší u žádného vzorku a pohybují se okolo hodnoty 0,5 %. Jako další byla vybrána řada různých

koncentrací PVA připravená v mrazničce a ledové tříšti, díky čemuž byla viditelná změna v mechanických vlastnostech v závislosti na koncentraci polymeru. Koncentrace polymeru v kombinaci s metodou přípravy značně ovlivňuje všechny reologické parametry. Vzorky vytvořené v ledové tříšti vykazují viskóznější charakter než vzorky síťované cyklickým mražením v mrazničce, a relativní příspěvek viskózního typu deformace klesá s navyšující se koncentrací polymeru. Vzorky v ledové tříšti navíc nemají tak pevnou strukturu, což je s největší pravděpodobností způsobeno pomalým mražením, během kterého nevznikne tolik fyzikálních spojů. V průběhu celého experimentu se elastický modul nacházel u všech vzorků nad viskózním modulem a nedošlo k jejich překřížení. Byl nalezen pouze hraniční bod LVO, za kterým konstantní oblast začíná klesat a vzorek byl nevratně deformován.

Při strukturní analýze lyofilizovaných vzorků gelů pomocí SEM bylo vyzorováno, že vnitřní struktura vzorků vytvořených metodou *freeze-thaw* není stabilní. V průběhu přípravy vzorku na samotné měření, lyofilizaci, dochází k jejímu zhroucení. Musela být tedy hledána reprezentativní část pro focení, ale ta nemusí korelovat s reálnou strukturou v nabobtnalém stavu. Při všech rychlostech mražení se na vybraných místech nacházejí různě veliké póry. Struktura se mění při navyšující se koncentraci polymeru, kdy se póry zmenšují do chvíle, kdy na vzorku již žádné póry nejsou. Vhodnou metodou pro pozorování vzorků v nabobtnalém stavu se jeví Kryo-SEM, které by do budoucna stálo za zvážení vyzkoušet.

Pro studium transportních vlastností byla zvolena metoda difúzního páru. Byl sledován prostup methylenové modří ze zdrojového gelu (nenulová koncentrace difundující látky) do přijímacího gelu (nulová koncentrace difundující látky), kde jsou obsaženy polyelektrolyty v různých poměrech. Po spojení difúzních prostředí probíhala difúze methylenové modří až do doby, než byly opět rozpojeny a měřeny. To se dělo v intervalech po 24 hodinách (do 72 hodin). Měření probíhalo v různých hladinách vzorku od hrany květy. Z naměřených absorpčních spekter byly získány hodnoty difúzních profilů, které se proložily teoretickým modelem. Následně se vypočítal difúzní koeficient a absorbance na rozhraní, které korespondují s koncentrací barviva na rozhraní. Inkorporovaný polyelektrolyt PSS nezakaloval vzorky a jeho navyšující koncentrace měly za následek snížení difúzního koeficientu. Nebyla sice počítána koncentrace na rozhraní, avšak absorbance na rozhraní potvrdily, že zde dochází k zakoncentrování barviva vlivem přidaného PSS. To je pravděpodobně způsobeno interakcemi mezi charakteristickými skupinami PSS (záporný náboj) a methylenové modří (kladný náboj).

Po provedení všech experimentů bylo usouzeno, že základní materiál v podobě PVA hydrogelu byl pro naše potřeby dostatečně otestován. Povedlo se optimalizovat optické vlastnosti pro fyzikálně síťované hydrogely metodou *freeze-thaw* při pomalé rychlosti mražení a bylo zjištěno, že rychlost mražení je klíčový parametr při této optimalizaci. Možnost dalšího výzkumu a posunutí této metody je právě přes citlivější řízení mražení. Proto se začalo paralelně k celé této práci navrhovat a konstruovat zařízení na principu Peltierových článků, ve spolupráci s Fakultou strojního inženýrství VUT v Brně, které by takového řízení bylo schopné. Nyní jsme pracovali v rozmezí několika jednotek stupňů, do budoucna je možné pracovat v rozlišení až v řádu desetin stupňů.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 978-80-244-1669-4.
- [2] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 3., přeprac. a rozš. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 8070803371.
- [3] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [4] H. GULREZ, Syed K., Saphwan AL-ASSAF a Glyn O. PHILLIPS. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. CARPI, Angelo, ed. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications* [online]. InTech, 2011, 2011-08-01 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.5772/24553. ISBN 978-953-307-268-5. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/progress-in-molecular-and-environmental-bioengineering-from-analysis-and-modeling-to-technology-applications/hydrogels-methods-of-preparation-characterisation-and-applications>.
- [5] OYEN, M. L. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews* [online]. 2013, **59**(1), 44-59 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1179/1743280413Y.0000000022. ISSN 0950-6608. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1743280413Y.0000000022>
- [6] SEDLÁČEK, P. Reologie gelů – stručný přehled. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2007. 34 s.
- [7] NOVÁK, Josef P., Lidmila BARTOVSKÁ, Michal BUREŠ, Pavel CHUCHVALEC, Stanislav LABÍK, Anatol MALIJEVSKÝ, Jaroslav MATOUŠ a Ivan SAMHÝL. *Fyzikální chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001. ISBN 807080436x.
- [8] GUAN, Ying, Xian-Ming QI, Bing ZHANG, Ge-Gu CHEN, Feng PENG a Run-Cang SUN. Physically Crosslinked Composite Hydrogels of Hemicelluloses with Poly(vinyl alcohol phosphate) and Chitin Nanowhiskers. *BioResources* [online]. 2014, **10**(1), 1378-1393 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.15376/biores.10.1.1378-1393. ISSN 1930-2126. Dostupné z: <http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/6069>
- [9] KAMOUN, Elbadawy A., Xin CHEN, Mohamed S. MOHY ELDIN a El-Refaeie S. KENAWY. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2015, **8**(1), 1-14 [cit. 2020-03-22]. DOI: doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.07.005. ISSN 1878-5352. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214001403>
- [10] WICHTERLE, O. a D. LÍM. Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature* [online]. 1960, **185**(4706), 117-118 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.1038/185117a0. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/185117a0>

- [11] STAMATIALIS, Dimitrios F., Bernke J. PAPPENBURG, Miriam GIRONÉS, Saiful SAIFUL, Srivatsa N.M. BETTAHALLI, Stephanie SCHMITMEIER a Matthias WESSLING. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. *Journal of Membrane Science* [online]. 2008, **308**(1-2), 1-34 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.1016/j.memsci.2007.09.059. ISSN 03767388. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738807007090>
- [12] HARRISON, Ian a Fabrizio SPADA. Hydrogels for Atopic Dermatitis and Wound Management: A Superior Drug Delivery Vehicle. *Pharmaceutics* [online]. 2018, **10**(2) [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.3390/pharmaceutics10020071. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1999-4923/10/2/71>
- [13] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research* [online]. 2015, **6**(2), 105-121 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006. ISSN 20901232. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2090123213000969>
- [14] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. Praha: Karolinum, 1998. ISBN isbn80-7184-365-2.
- [15] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [16] KELLNER, R. *Analytical chemistry: the approved text to the FECS curriculum analytical chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. ISBN 3527288813.
- [17] PERKAMPUS, Heinz-Helmut. *UV-VIS spectroscopy and its applications*. Berlin: Springer, 1992. Springer laboratory. ISBN isbn978-3-642-77479-9.
- [18] *UV/VIS spektrofotometrie: Základy a aplikace*. Praha, 2015. Dostupné také z: <http://www.mt.com/GUVP>
- [19] OYEN, M. L. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews* [online]. 2013, **59**(1), 44-59 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1179/1743280413Y.0000000022. ISSN 0950-6608. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1743280413Y.0000000022>
- [20] CHRISTOPHER W. MACOSKO. *Rheology: principles, measurements, and applications*. 11. print. New York: Wiley-VCH, 1994. ISBN 978-047-1185-758
- [21] GRISKEY, Richard G. *Polymer Process Engineering* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1007/978-94-011-0581-1. ISBN 978-94-010-4257-4.
- [22] WILLENBACHER, No[22] GRISKEY, Richard G. *Polymer Process Engineering* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995 [cit. 2020-03-30]. DOI: 10.1007/978-94-011-0581-1. ISBN 978-94-010-4257-4.
- [23] WILLENBACHER, Norbert a Kristina GEORGIEVA. *Rheology of Disperse Systems: Product Design and Engineering* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2013 [cit. 2020-03-30]. ISBN 9783527654741. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9783527654741.ch1>

- [24] RHEOSENSE, Inc. Viscosity of Newtonian and Non-Newtonian Fluids. Viscometers | Small Sample Viscometer for Viscosity Measurement [online]. 2019 [vid. 2020-03-24]. Dostupné z: <http://www.rheosense.com/applications/viscosity/newtonian-nonnewtonian>.
- [25] HOLUBOVÁ, Renata. *Základy reologie a reometrie kapalin*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4178-8.
- [26] BARNES, H.A, J.F HUTTON a K. WALTERS. *An introduction to rheology*. Amsterdam: Elsevier, 1998. ISBN 9780444874696.
- [27] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Hookův zákon pro pružnou deformaci. Encyklopedie fyziky [online]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com>.
- [28] MEZGER, Thomas. *Applied rheology: with Joe Flow on rheology road*. 5st edition. Graz: Anton Paar, 2015. ISBN 3950401601.
- [29] SCHRAMM, Gebhard. *A Practical Approach to Rheology and Rheometry*. 2. vydání. Karlsruhe: HAAKE, 2000.
- [30] HILL, A. Rheology school: Introducing Rotational Rheology & Kinexus [online]. UK: Malvern Instruments Limited, 2016, 89 s. [cit. 2020-03-25]. Dostupné z: http://www.anamet.cz/sites/all/storage/01_Introducing_Rheology_and_Kinexus.pdf
- [31] CHAPLIN, M. Hydrocolloid Rheology. Water Structure and Science [online]. [cit. 2020-03-25]. Dostupné z: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/rheology.html>
- [32] ATKINS, P. W. a Julio DE PAULA. *Fyzikální chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. ISBN 978-80-7080-830-6.
- [33] SCHANTÉ, Carole E., Guy ZUBER, Corinne HERLIN a Thierry F. VANDAMME. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2011, **85**(3), 469-489 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.03.019. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861711002001>
- [34] REICHELT, Rudolf. Scanning Electron Microscopy. HAWKES, Peter W. a John C. H. SPENCE, ed. *Science of Microscopy* [online]. New York, NY: Springer New York, 2007, s. 133-272 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1007/978-0-387-49762-4_3. ISBN 978-0-387-25296-4. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-49762-4_3
- [35] BELL, D. C. a Natasha ERDMAN. *Low voltage electron microscopy: principles and applications*. Chichester, West Sussex, United Kingdom: Wiley, Published in association with the Royal Microscopical Society, 2013. ISBN isbn978-111-9971-115.
- [36] KRAUS, Ivo, Helmar FRANK a Irena KRATOCHVÍLOVÁ. *Úvod do fyziky pevných látek*. Vyd. 2., přeprac. V Praze: České vysoké učení technické, 2009. ISBN isbn978-80-01-04257-1.
- [37] HULÍNSKÝ, V., JUREK, K., *Zkoumání látek elektronovým paprskem*, Praha: Nakladatelství technické literatury, 1982, 401 s.
- [38] GOLDSTEIN, Joseph. *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, c2003. ISBN isbn0-306-47292-9.

- [39] EL FRAY, Mirosława, Agnieszka PILASZKIEWICZ, Wojciech SWIESZKOWSKI a Krzysztof J. KURZYDŁOWSKI. Morphology assessment of chemically modified cryostructured poly(vinyl alcohol) hydrogel. *European Polymer Journal* [online]. 2007, **43**(5), 2035-2040 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2007.02.024. ISSN 00143057. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305707001231>
- [40] WATT, Ian M. *The principles and practice of electron microscopy*. 2nd ed. New York: Cambridge University Press, 1997. ISBN isbn0-521-43591-9.
- [41] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Interakce elektronů se vzorkem. Encyklopedie fyziky [online]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com>.
- [42] CRANK, John. *The mathematics of diffusion*. 2d ed. Oxford, [Eng]: Clarendon Press, 1975. ISBN isbn0198533446.
- [43] KRÁLOVÁ, Magda. BROWNŮV POHYB - MODEL: Pohyb částice při Brownově pohybu. In: *Techmania Science Center* [online]. [cit. 2020-04-28]. Dostupné z: <http://edu.techmania.cz/sites/default/files/podrobnosti/insert/4-1.gif>
- [44] CRANK, John. *The mathematics of diffusion*. 2nd ed., 1st publ. in paperback 1979. Oxford: Oxford University Press, c1975. Oxford science publications. ISBN isbn978-0-19-853411-2.
- [45] SEDLÁČEK, P. Difúze – stručný přehled. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2007. 33 s.
- [46] CUSSLER, E.L. *Diffusion mass transfer in fluid systems*. 2nd Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. ISBN 0-521-56477-8.
- [47] ASKELAND, Donald R. a Pradeep P. PHULÉ. *Science and engineering of materials*. 4th ed. Pacific Grove: Books/Cole-Thomson Learning, 2003. ISBN isbn0534953735.
- [48] GARCIA-GUTIÉRREZ, M. a kol.: Overview of laboratory methods employed for obtaining diffusion coefficients in FEBEX compacted bentonite. *Journal of Iberian Geology*, 2006, vol. 32, no. 1, p. 37–53. ISSN: 1698-6180
- [49] DAVIDSON, Robert L. *Handbook of water-soluble gums and resins*. New York: McGraw-Hill, c1980. ISBN 0070154716.
- [50] SAXENA, S.K. Polyvinylalcohol. (PVA). [online]. 2004. [cit. 2020-03-07]. Dostupné z WWW: ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/cta/CTA_61_PVA.pdf
- [52] FINCH, C. A. *Polyvinyl alcohol; properties and applications*. New York: Wiley, [1973]. ISBN isbn0-471-25892-x.
- [53] MACH, Václav a Petr DZIK. *Tuhé pěny založené na acetalizovaném PVAI: Solid Foams Based on Acetalized PVAI*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2008.
- [54] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN isbn8070802413.
- [55] Mowiol Polyvinyl Alcohol. Sulzbach / Hessen: Clariant GmbH, 1999, 105 s.

- [56] KROSCWITZ, Jacqueline I. a Herman F. MARK. *Encyclopedia of polymer science and technology*. 3rd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2004. ISBN isbn0-471-28781-4.
- [57] HODGKINSON, N., TAYLOR, M. Thermoplastic Poly (Vinyl Alcohol) (PVOH). *MaterialsWorld*, [online]. 08/2000. 8. [cit. 2020-03-26]. Dostupný z WWW: <<https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=266>>
- [58] DOMB, A. J., Joseph KOST a David M. WISEMAN. *Handbook of biodegradable polymers*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, c1997. ISBN 9057021536.
- [59] LENDLEIN, Andreas a Adam L. SISSON. *Handbook of biodegradable polymers: synthesis, characterization, and applications*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, c2011. ISBN 9783527324415.
- [60] PERALE, Giuseppe a J. G. HILBORN. *Bioresorbable polymers for biomedical applications: from fundamentals to translational medicine*. Amsterdam: Elsevier/Woodhead Publishing, [2017]. Woodhead Publishing series in biomaterials, no. 120. ISBN isbn:978-008-100262-9.
- [61] HOU, Yi, Chen CHEN, Kemin LIU, Ying TU, Li ZHANG a Yubao LI. Preparation of PVA hydrogel with high-transparence and investigations of its transparent mechanism. *RSC Advances* [online]. 2015, **5**(31), 24023-24030 [cit. 2020-05-02]. DOI: 10.1039/C5RA01280E. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA01280E>
- [62] TUMMALA, Gopi Krishna, Ramiro ROJAS a Albert MIHRANYAN. Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Reinforced with Nanocellulose for Ophthalmic Applications: General Characteristics and Optical Properties. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2016, **120**(51), 13094-13101. DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b10650. ISSN 1520-6106. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcc.6b10650>
- [63] KITA, Mihori, Yuichiro OGURA, Yoshihito HONDA, Suong-Hyu HYON, Won-II CHA a Yoshito IKADA. Evaluation of polyvinyl alcohol hydrogel as a soft contact lens material. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* [online]. 1990, **228**(6), 533-537 [cit. 2020-07-09]. DOI: 10.1007/BF00918486. ISSN 0721-832X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00918486>
- [64] JIANG, Hong, Yi ZUO, Li ZHANG, Jidong LI, Aiming ZHANG, Yubao LI a Xiaochao YANG. Property-based design: optimization and characterization of polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel and PVA-matrix composite for artificial cornea. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2014, **25**(3), 941-952 [cit. 2020-07-09]. DOI: 10.1007/s10856-013-5121-0. ISSN 0957-4530. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10856-013-5121-0>
- [65] GUPTA, Siddhi, Ashit Kumar PRAMANIK, Ansu KAILATH, Trilochan MISHRA, Avijit GUHA, Suprabha NAYAR a Arvind SINHA. Composition dependent structural modulations in transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009, **74**(1), 186-190. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.015. ISSN 09277765. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776509003130>

- [66] GUPTA, Siddhi, Satish SINHA a Arvind SINHA. Composition dependent mechanical response of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2010, **78**(1), 115-119 [cit. 2020-07-09]. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.02.021. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776510001086>
- [67] PRAMANICK, Ashit Kumar, Siddhi GUPTA, Trilochan MISHRA a Arvind SINHA. Topographical heterogeneity in transparent PVA hydrogels studied by AFM. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2012, **32**(2), 222-227 [cit. 2020-07-09]. DOI: 10.1016/j.msec.2011.10.022. ISSN 09284931. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493111002943>
- [68] SEDLÁČEK, P., J. SMILEK, M. KALINA, M. LAŠTŮVKOVÁ a M. KLUČÁKOVÁ. *Hydrogels: Invaluable experimental tool for demonstrating diffusion phenomena in physical chemistry laboratory courses* [online]. 39. *Journal of Materials Education*, 2017, 59-90 [cit. 2020-07-29]. ISSN 0738-7989.

8 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Seznam zkratek

<u>Zkratka</u>	<u>Význam</u>
PVA	polyvinylalkohol
IPN	Interpenetrované polymerní síť
UV	ultrafialová oblast
VIS	viditelná oblast
B.L.B.	Bouguer-Lamber-Beerův (zákon)
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
DMSO	dimethylsulfoxid
3D	trojrozměrná/ trojdimenzionální
MQ	Milli-Q, superčistá voda
WHO	Světová zdravotnická organizace
RT	teplota v místnosti (laboratorní teplota)
XRD	rentgenová krystalografie
DSC	diferenciální skenovací kalorimetrie
PSS	polystyrensulfonyl sodný
LVO	lineární viskoelastická oblast

8.2 Seznam symbolů

<u>Symbol</u>	<u>Význam</u>
A	absorbance
T	transmitance
ϕ_0	původní zářivý tok dopadajícího paprsku
ϕ	snížený zářivý tok dopadajícího paprsku
ϵ_λ	molární extinkční koeficient
l	tloušťka kyvety – optická dráha
τ	smykové napětí
η	dynamická viskozita
ν	kinematická viskozita
ρ	hustota
σ_n	normálové napětí
E	konstanta úměrnosti (Youngův modul pružnosti)

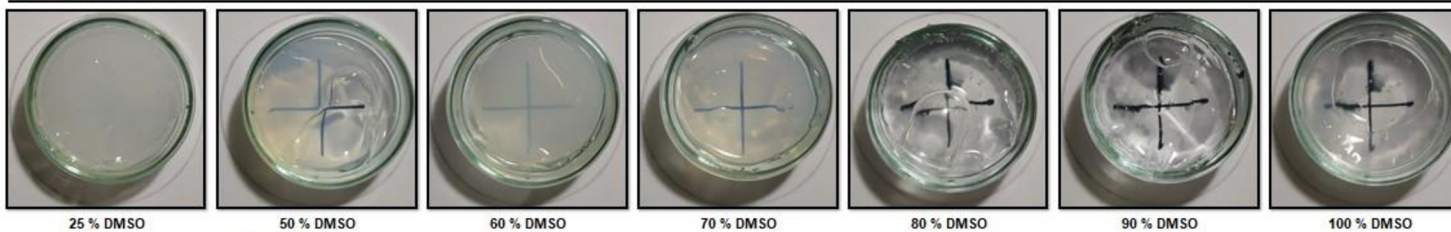
ε	relativní prodloužení
D_e	Debořino číslo
λ	vlnová délka; relaxační čas (Debořino číslo)
θ	čas pozorování (Debořino číslo)
G^*	komplexní modul
δ	ztrátový úhel
G'	elastický (paměťový) modul
G''	viskózní (ztrátový) modul
i	imaginární jednotka
w	práce
μ	chemický potenciál
F	síla
D	difúzní koeficient
\vec{J}	difúzní tok
A	konstantní plocha
A_0	extrapolovaná absorbance na rozhraní

9 SEZNAM PŘÍLOH

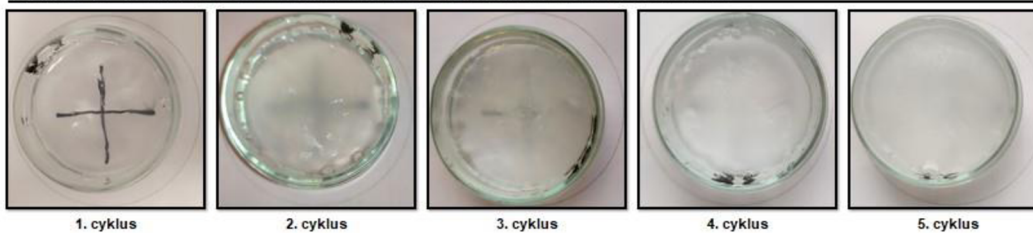
Příloha 1 Vybrané sady vzorků pro nastínění průběhu vizuální analýzy	63
Příloha 2 Závislost ztrátového úhlu na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce	64
Příloha 3 Závislost komplexního modulu na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce	64
Příloha 4 Závislost kritické amplitudy deformace na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce	65
Příloha 5 Závislost ztrátového úhlu na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce.....	65
Příloha 6 Závislost komplexního modulu na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce.....	66
Příloha 7 Závislost kritické amplitudy deformace na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce	66
Příloha 8 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)	67
Příloha 9 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,002 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)	67
Příloha 10 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,005 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)	68
Příloha 11 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,01 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)	68

10 PŘÍLOHY

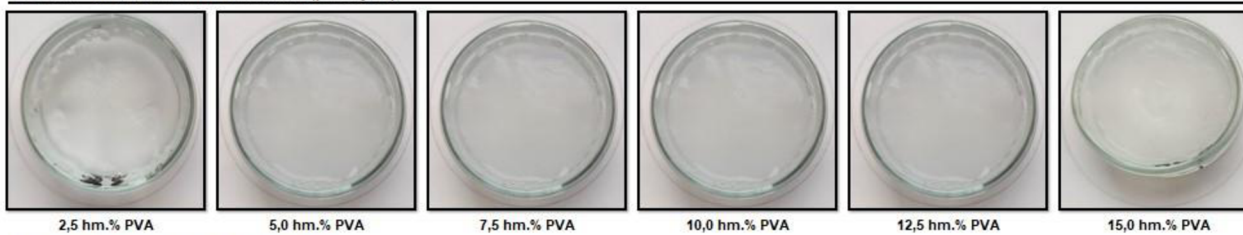
DMSO řada (po 7. cyklu)



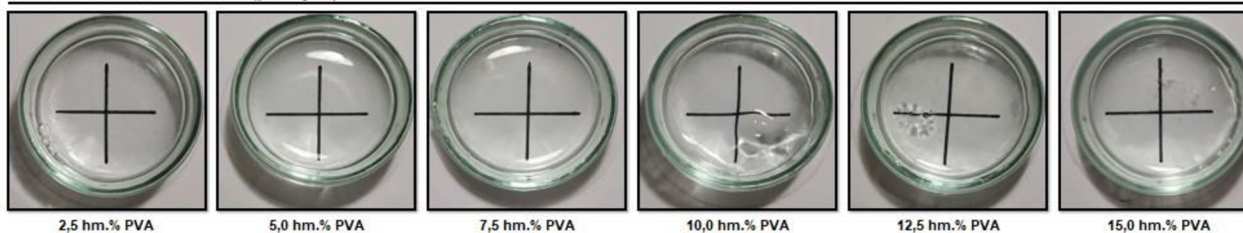
7,5 hm.% PVA – mrznutí v normálním mrazáku – rozdíl transparentnosti po každém cyklu freeze/thaw



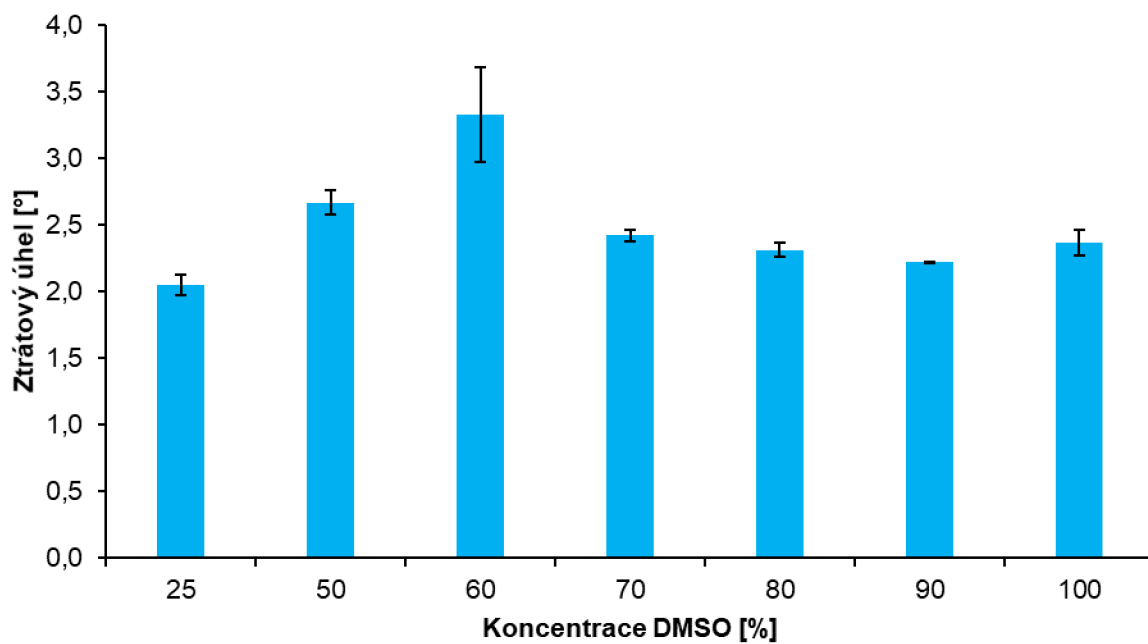
PVA řada – mrznutí v normálním mrazáku (po 5. cyklu)



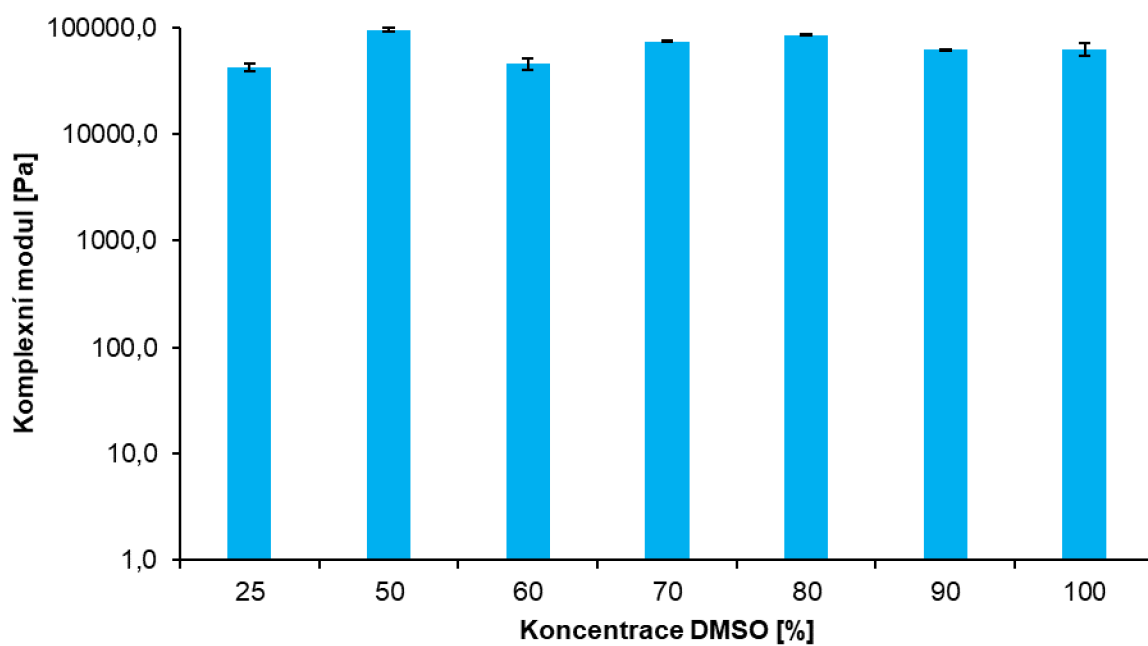
PVA řada – mrznutí v ledové tříšti (po 5. cyklu)



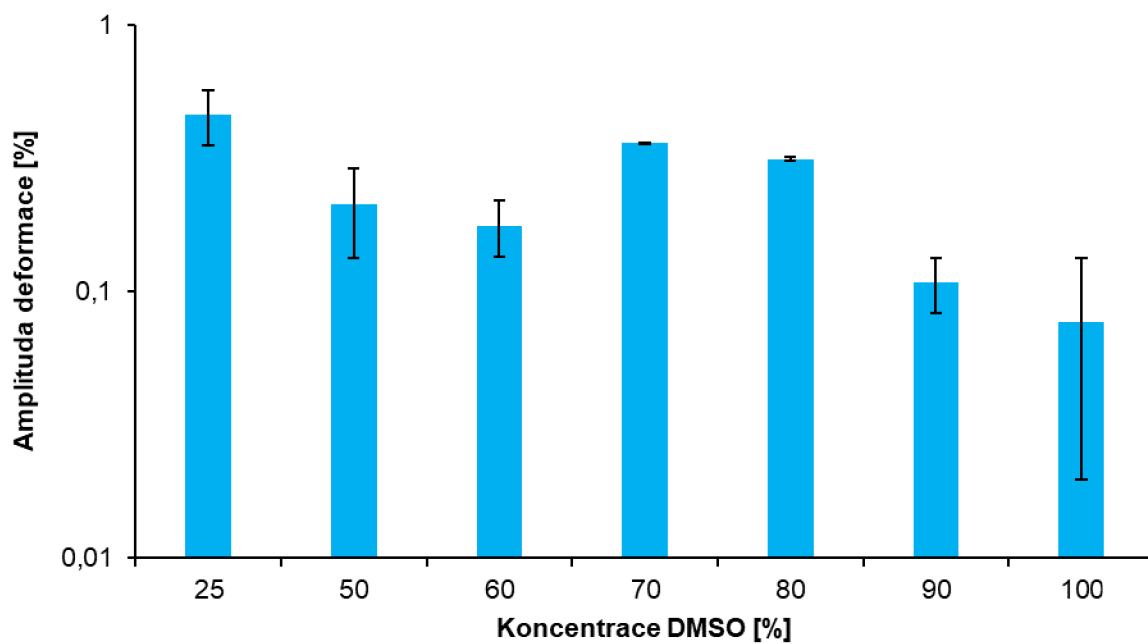
Příloha 1 Vybrané sady vzorků pro nastínění průběhu vizuální analýzy



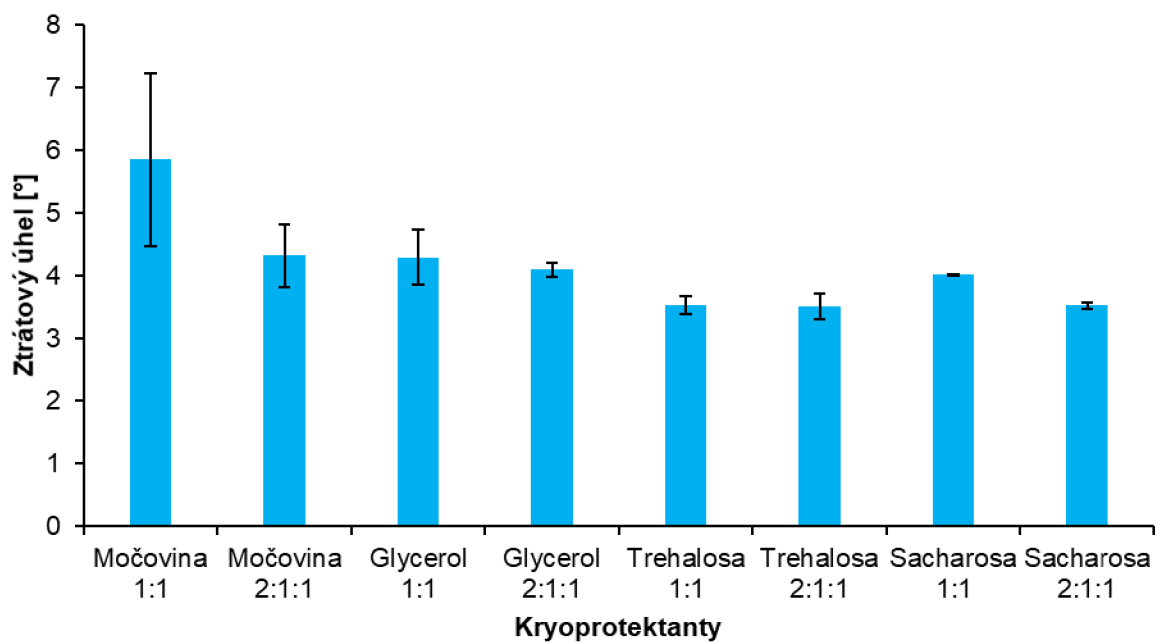
Příloha 2 Závislost ztrátového úhlu na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce



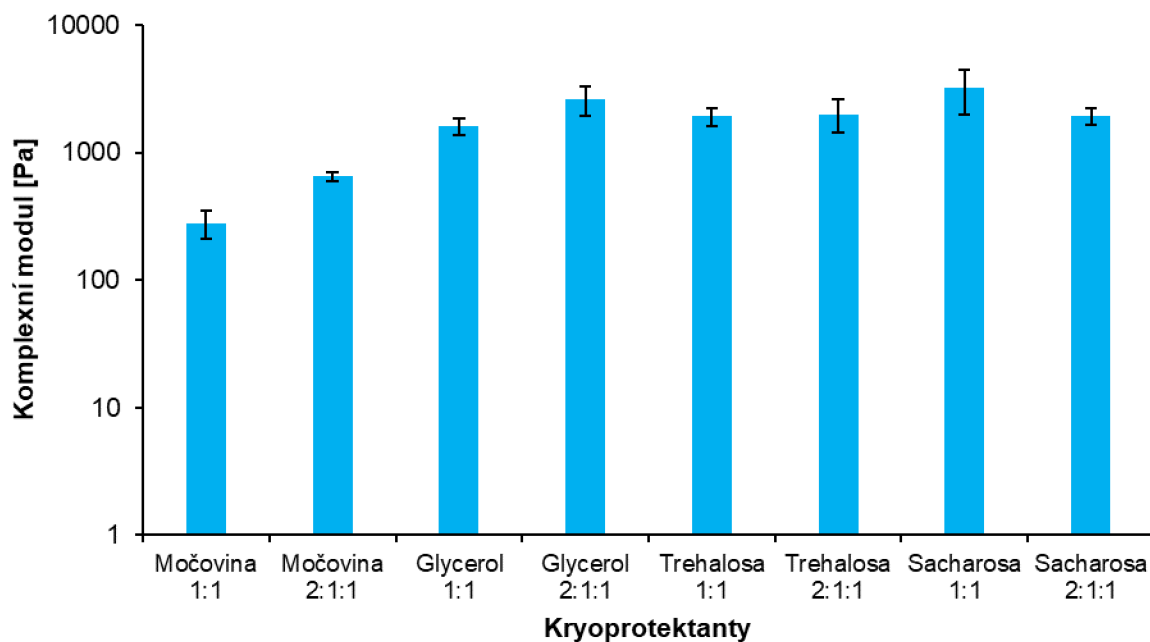
Příloha 3 Závislost komplexního modulu na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce



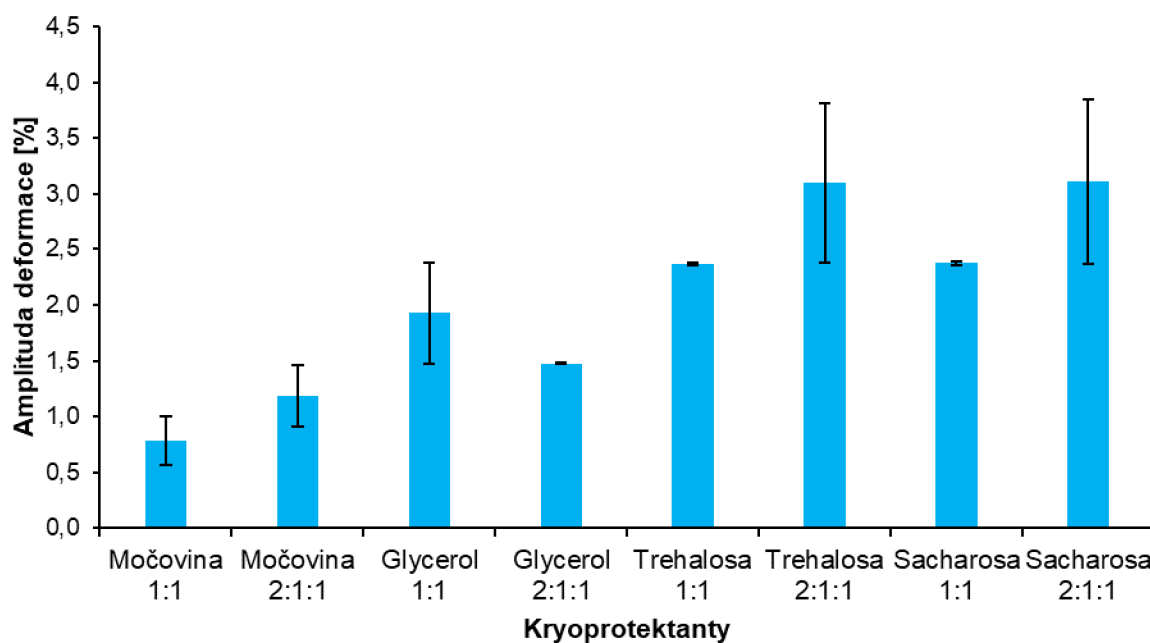
Příloha 4 Závislost kritické amplitudy deformace na obsahu DMSO, připraveném v mrazničce



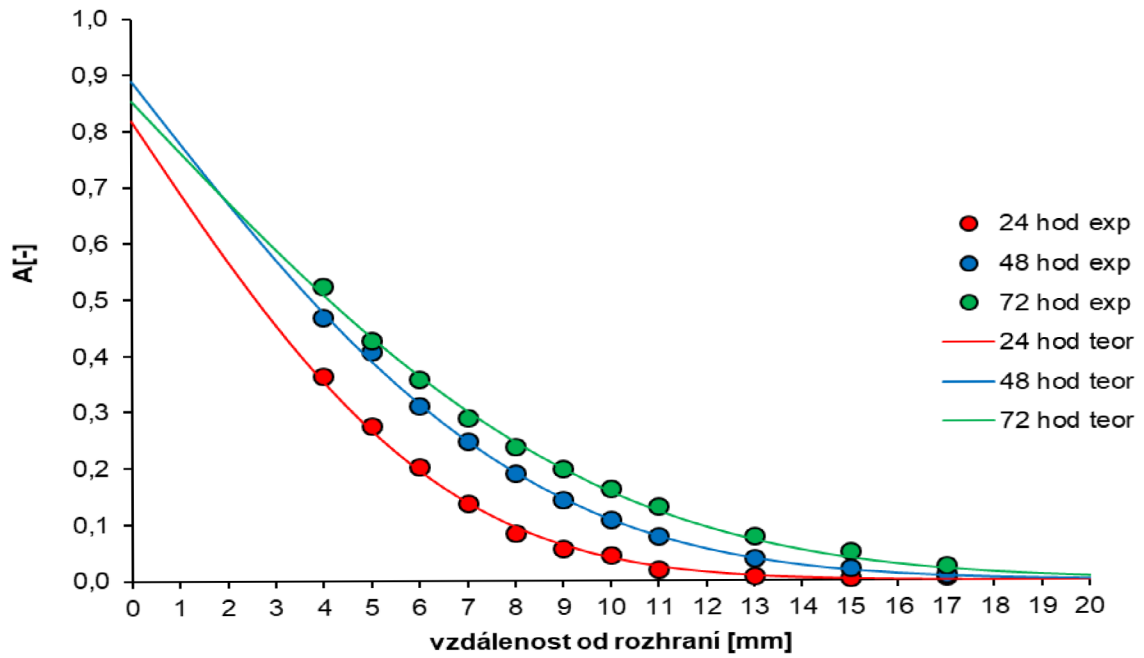
Příloha 5 Závislost ztrátového úhlu na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce



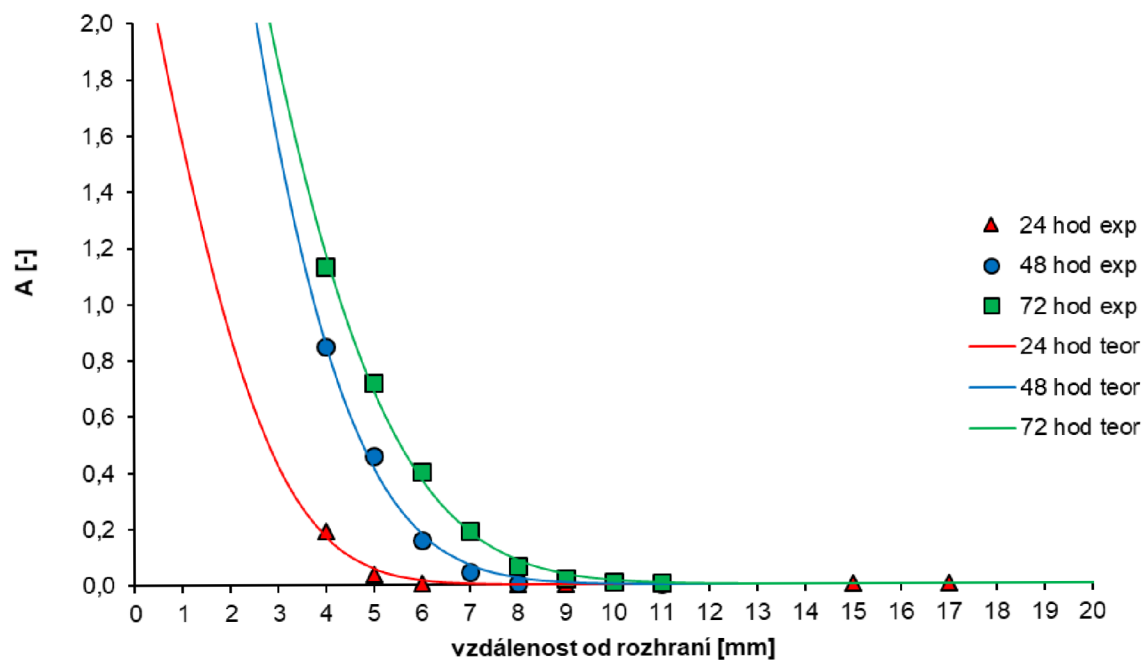
Příloha 6 Závislost komplexního modulu na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce



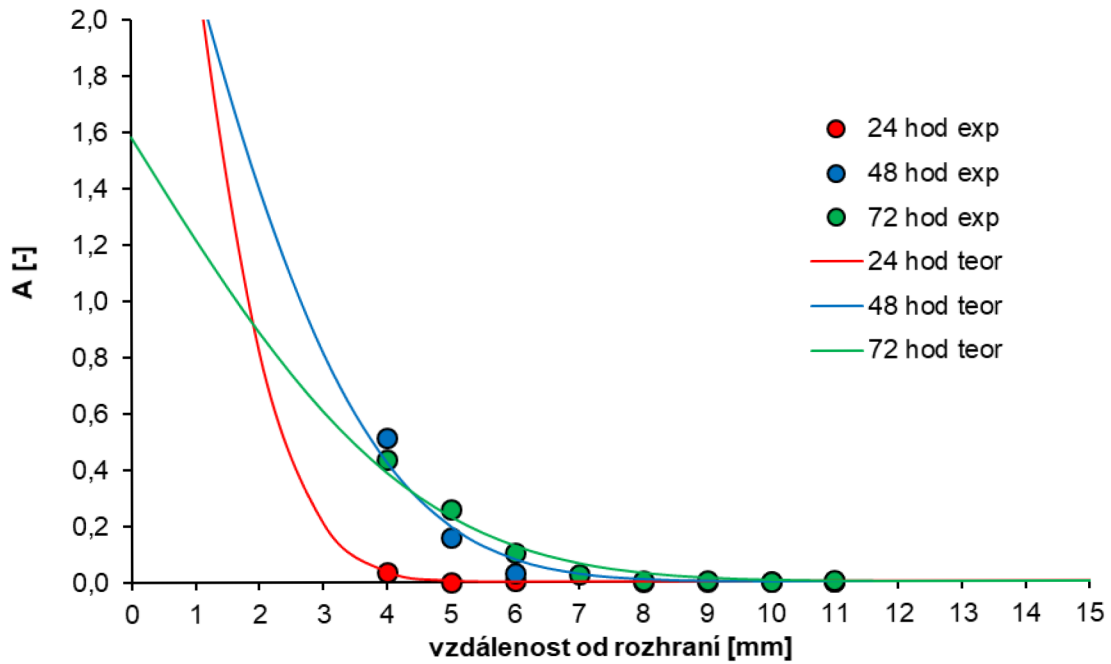
Příloha 7 Závislost kritické amplitudy deformace na obsahu kryoprotektantů v různých poměrech se zásobním roztokem PVA, připraveném v mrazničce



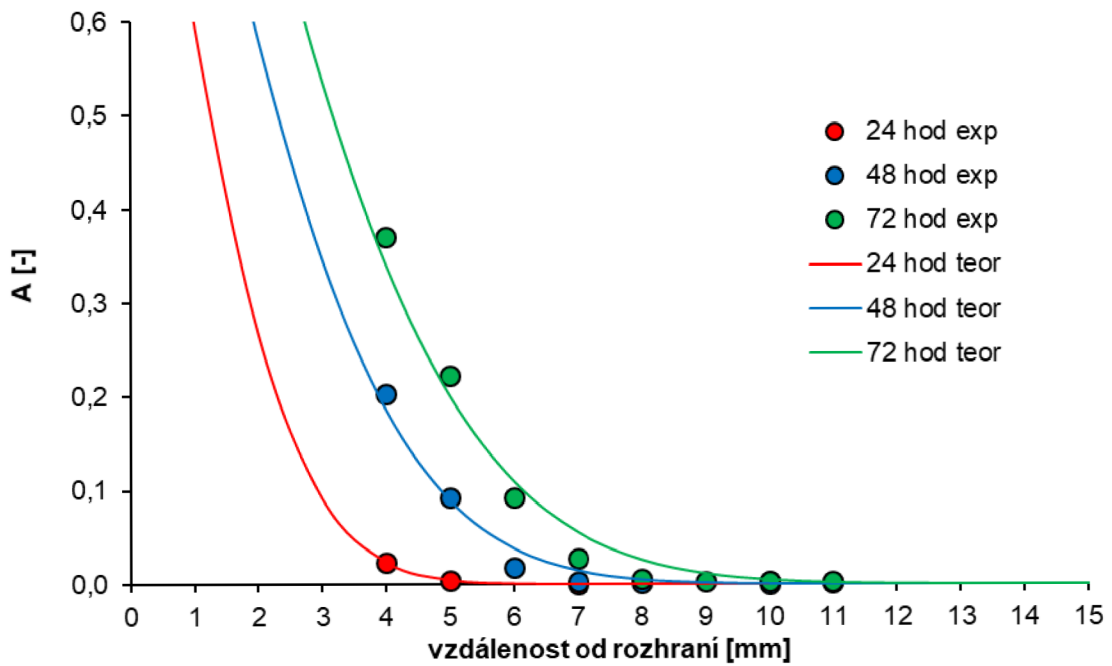
Příloha 8 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)



Příloha 9 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,002 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)



Příloha 10 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,005 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)



Příloha 11 Hodnoty experimentálních dat proložené teoretickým modelem pro PVA hydrogel s 0,01 hm. % PSS (1 ze 2 sad vzorků)