



Bakalářská práce

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicínské technice

Studijní program:

B0914P360007 Biomedicínská technika

Autor práce:

Ondřej Hradecký

Vedoucí práce:

Ing. Štěpán Kunc, Ph.D.

Katedra fyziky

Liberec 2023



Zadání bakalářské práce

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicínské technice

<i>Jméno a příjmení:</i>	Ondřej Hradecký
<i>Osobní číslo:</i>	D20000132
<i>Studijní program:</i>	B0914P360007 Biomedicínská technika
<i>Zadávací katedra:</i>	Fakulta zdravotnických studií
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

Zásady pro vypracování:

Cíle práce :

Cílem práce je vytvořit metodiku pro vyhodnocování tenkých filmů užívaných v biomedicíně pomocí polarizační mikroskopie při různých teplotách.

Teoretická východiska :

Studium chování tenkých filmů užívaných v biomedicíně při různých teplotách výrazně napomůže zkoumání řady jevů jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy, agregace částic. Tyto parametry jsou důležité při přípravě těchto filmů obsahujících léčiva.

Výzkumné předpoklady/výzkumné otázky :

1. Předpokládá se možnost využití optické polarizační mikroskopie jako vhodného nástroje pro zkoumání tenkých polymerních filmů v širokém rozsahu teplot.

Metoda :

Analýza a syntéza dostupných zdrojů

Technika práce, vyhodnocení dat :

Teoretická práce – zpracována v editoru Microsoft Office Word a Microsoft Office Excel.

Místo a čas realizace výzkumu :

Bakalářská práce zahrnuje laboratorní měření pomocí polarizačního mikroskopu. Práce bude probíhat v laboratořích KFY.

Vzorek :

Teplotně opticky aktivní látky. Tenké polymerní filmy.

Rozsah práce :

Rozsah bakalářské práce činí 40 – 50 stran (tzn. 1/3 teoretická část, 2/3 výzkumná část)

Rozsah grafických prací: 5
Rozsah pracovní zprávy: 50 – 70
Forma zpracování práce: tištěná/elektronická
Jazyk práce: Čeština

Seznam odborné literatury:

- [1] R. Bodmeier a O. Paeratakul, "Dry and wet strengths of polymeric films prepared from an aqueous colloidal polymer dispersion, Eudragit RS30D", *Int. J. Pharm.*, roč. 96, č. 1, s. 129-138, čvc. 1993, doi: 10.1016/0378-5173(93)90220-A.
- [2] X. Chen, S. Fischer, a Y. Men, "Temperature and Relative Humidity Dependency of Film Formation of Polymeric Latex Dispersions", *Langmuir*, roč. 27, č. 21, s. 12807-12814, lis. 2011, doi: 10.1021/la202300p.
- [3] M. I. Gibson a R. K. O'Reilly, "To aggregate, or not to aggregate? considerations in the design and application of polymeric thermally-responsive nanoparticles", *Chem. Soc. Rev.*, roč. 42, č. 17, s. 7204-7213, 2013, doi: 10.1039/C3CS60035A.
- [4] H. Holthoff, M. Borkovec, a P. Schurtenberger, "Determination of light-scattering form factors of latex particle dimers with simultaneous static and dynamic light scattering in an aggregating suspension", *Phys. Rev. E*, roč. 56, č. 6, s. 6945-6953, pro. 1997, doi: 10.1103/PhysRevE.56.6945.
- [5] W. Zhang et al., "Effect of orientation on polarization switching and fatigue of Bi_{3.15}Nd_{0.85}Ti_{2.99}Mn_{0.01}O₁₂ thin films at both low and elevated temperatures", *Nanoscale Res. Lett.*, roč. 14, č. 1, s. 121, dub. 2019, doi: 10.1186/s11671-019-2949-3.
- [6] M. Fadel, I. S. Yahia, G. B. Sakr, F. Yakuphanoglu, a S. S. Shenouda, "Structure, optical spectroscopy and dispersion parameters of ZnGa₂Se₄ thin films at different annealing temperatures", *Opt. Commun.*, roč. 285, č. 13, s. 3154-3161, čer. 2012, doi: 10.1016/j.optcom.2012.02.096.
- [7] S. Kim, K. Hyun, B. Struth, K. H. Ahn, a C. Clasen, "Structural Development of Nanoparticle Dispersion during Drying in Polymer Nanocomposite Films", *Macromolecules*, roč. 49, č. 23, s. 9068-9079, pro. 2016, doi: 10.1021/acs.macromol.6b01939.
- [8] M. Urbanová, J. Czernek, a J. Brus, "Strukturální charakterizace nové generace léčiv a biomateriálů: aplikace NMR krystalografie", *Chem. Listy*, roč. 112, č. 8, Art. č. 8, srp. 2018.
- [9] Y. C. Ng, Z. Yang, W. J. McAuley, a S. Qi, "Stabilisation of amorphous drugs under high humidity using pharmaceutical thin films", *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV*, roč. 84, č. 3, s. 555-565, srp. 2013, doi: 10.1016/j.ejpb.2013.01.008.
- [10] W. Zhang et al., "Temperature-Dependent Domain Dynamics and Electrical Properties of Nd-doped Bi_{3.15}Ti_{2.99}Mn_{0.01}O₁₂ Thin Films in Fatigue Process", *Mater. Basel Switz.*, roč. 11, č. 12, s. E2418, lis. 2018, doi: 10.3390/ma11122418.

Vedoucí práce: Ing. Štěpán Kunc, Ph.D.
Katedra fyziky

Datum zadání práce: 26. října 2022
Předpokládaný termín odevzdání: 5. května 2023

L.S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc.,
MBA
děkan

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

Poděkování

Tímto bych chtěl hlavně poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Kunc Štěpán, Ph.D. a mému konzultantovi doc. Ing. Petr Mikeš, Ph.D. za pevné nervy. Dále bych chtěl poděkovat katedře fyziky za možnost a realizaci praktického měření na teplotní komůrce. Dále bych chtěl poděkovat svým rodičům za přečtení práce a za jejich podporu.

ANOTACE

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicinské technice

Studium chování polymerních roztoků a suspenzí při různých teplotách výrazně napomůže zkoumání řady jevů jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy, agregace částic a podobně. V této práci bude využita stávající teplotní komůrka umožňující práci v širokém rozsahu teplot. Tato komůrka bude naistalována na polarizační mikroskop. Práce se bude zabývat zejména instalací a zprovoznění celého zařízení, standardizace postupů pozorování a zejména analýzou obrazu nasnímaných experimentů.

Klíčová slova

Polarizační mikroskop, Polymerní roztok, Teplotní komora

ANNOTATION

Polarization microscopy of thin films in biomedical technology

The study of the behaviour of polymer solutions and suspensions at different temperatures will greatly aid the investigation of many phenomena such as crystallization, solubility, thermo-reversible processes, particle aggregation, etc. In this work, an existing temperature chamber will be used to allow work over a wide range of temperatures. This chamber will be mounted on a polarizing microscope. The thesis will mainly deal with the installation and commissioning of the whole equipment, standardization of the observation procedures and especially the image analysis of the experiments taken.

Keywords

Polarizing microscope, Polymer solution, Temperature chamber

Obsah

Seznam symbolů a zkratk	9
1) Úvod	10
2) Pohyb částic	11
2.1 Agregace částic	13
2.2 Brownův pohyb	14
2.3 Polarizační mikroskopie	15
3) Orálně Disperzní filmy (ODF)	17
3.1 Příprava ODF	17
3.1.1 Lití do rozpouštědla	17
3.1.2 Vytlačování za tepla	18
3.1.3 Technika stříkání	18
3.2 PVA + nanocelluloza	18
4) Praktická část	20
4.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky	20
4.2 Metody	20
4.2.1 Systém THMS600	20
4.2.2 CI94	20
4.2.3 LNP94/2	20
4.2.4 Celá měřicí soustava	21
4.2.5 Zapojení THMS600	23
4.2.6 Popis softwaru	24
4.2.7 Specifikace	25
4.3 Analýza výzkumných dat	26
4.3.1 Reverzibilní polyesterová fólie z tekutých krystalů (Teplotní proužky)	26
4.3.2 BaTiO ₃	27
4.3.3 ODF	30
4.4 Vyhodnocení cílů a výzkumných otázek/předpokladů	33
5) Závěr	34

Seznam použité literatury	35
---------------------------------	----

Seznam symbolů a zkratk

ODF	Orálně disperzní filmy
PVA	Polyvinylalkohol
Tf	Bod tání
Tb	Bod Varu
°C	Stupeň Celsia
PC	Počítač

1) Úvod

Problém v dnešní době, a nejen dnešní doby, je držení přesné teploty a její konstantní zvyšování v laboratořích, přičemž na katedře fyziky je už pár let nepoužívaná teplotní komora THMS600, která dokáže držet teplotu s přesností 0,1 °C, a to až do 600 °C. Teplotní komůrka by zde mohla napomoci zkoumání mnoha jevů jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy, agregace částic. Zároveň by mohla velmi napomoci při pozorování a zvláknování Ligninu či pro medicínu při zkoumání orálně disperzních filmů (ODF).

V teoretické části probereme, jak funguje přechod jedné fáze do druhé ODF. Tím se i dozvíme, jak se bude měnit pohyb částic v daném skupenství. Což vede k zajímavým fyzikálním efektům jako je například agregace částic v suspenzi nebo Brownův pohyb. Pro zkoumání těchto efektů bude zapotřebí mikroskop a k vyhledání daných částic nám napomůže polarizační mikroskopie. V poslední kapitole se pokusíme natáhnout orálně disperzní film za pomoci Dany Paličkové a zahřejeme na bod tání. Zde se pokusíme pozorovat dané fyzikální jevy.

V praktické části zprovozníme teplotní komůrku THMS600 a přimontujeme k mikroskopu BX60. Měření vyzkoušíme na teplotních proužkách, které jsou velmi přesné a je předem definováno, jak se teplotní proužky budou chovat při požadovaných teplotách. Další vzorek bude BaTiO₃, u kterého můžeme pozorovat změnu krystalické mřížky pomocí polarizační mikroskopie při změně teplot. V posledním měření použijeme ODF, u něhož budeme pozorovat agregaci částic či Brownův pohyb.

2) Pohyb částic

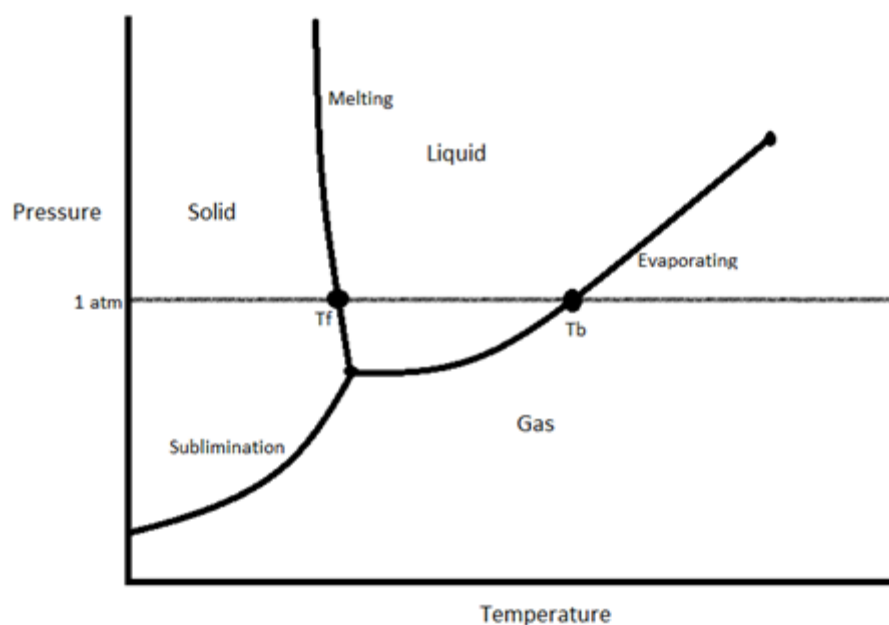
Látky se mohou vyskytovat ve třech různých skupenství (tzv. fáze): pevném, kapalném a plynném. Každá látka se může nacházet při určité teplotě v jednom z těchto skupenství. K tomu, aby došlo ke změně skupenství je potřebná teplota a tlak. Tyto dva faktory závisí na mezimolekulárních změnách, které mají vliv na molekuly a atomy látky. Současně mohou existovat více než jedna fáze. Může nastat dvoufázový stav, kdy přechází látka z jedné fáze do druhé nebo může nastat trojný bod, kdy se vyskytují všechny tři fáze. Například pokud led taje vyskytuje se zde fáze jak kapalná, tak pevná. Pokud zvyšujeme teplotu či tlak tak zvyšujeme zároveň pohyb částic v dané fázi, protože zvyšujeme jejich kinetickou energii. Což způsobí zvýšení rychlosti srážek a difuzi. V pevných látkách jsou částice na sebe vázány v pevných vazbách, díky kterým kmitají okolo své polohy. (Chang, 2002; Adachi, 2018; Papon, 2002)

V plynech se částice pohybují ve všech směrech, a díky tomu se srážejí mezi sebou nebo stěnou nádoby. U každé částice se dá určit skutečná průměrná rychlost částice, která se odvíjí od její hmotnosti a teploty okolí. Zpravidla to bývá, že čím těžší částice je, tím se pomaleji pohybuje při stejné teplotě. Například molekuly kyslíku a dusíku se při pokojové teplotě pohybují rychlostí 300 až 400 m/s. Na rozdíl od srážek mezi makroskopickými objekty, kdy se část kinetické energie přeměňuje na teplo a zvuk, jsou srážky mezi částicemi dokonale pružné (bez ztráty kinetické energie). Díky této vlastnosti částice plynu po každé srážce pokračují bez ztráty rychlosti. (Feynman, 2011)

V kapalném skupenství se částice pohybují náhodným směrem blízko u sebe po celé nádobě. Částice v kapalném prostředí se pohybují pomaleji než v plynném prostředí, protože je vyšší viskozita prostředí. Díky pohybu dochází k rozptylu částic do celého prostoru, kdy se snaží vyrovnat koncentraci po celé nádobě. Tomuto jevu se říká difuze. Částice v pevném skupenství jsou úhledně uspořádané, a to co nejtěsněji pohromadě. Vazby mezi částicemi jsou tak pevné, že neumožňují pohyb z místa na místo. Místo toho vibrují okolo své polohy ve struktuře. Tudiž s přibývajícím teplotou zde nejsou částice rychlejší, jak to bylo u plynu a vody, ale vibrují silněji a rychleji. (Kärger, 2012; Kadajji, 2011; Kalia, 2021)

Látka může přecházet do jednotlivých fází různými procesy, které jsou vratné. Procesy jsou následující:

1. Tání: Přejchod z pevné fáze do kapalné.
2. Zmrazování: Přejchod z kapalné fáze do pevné fáze.
3. Vypařování: Přejchod z kapalné fáze do plynné.
4. Kondenzace: Přejchod z plynné fáze do kapalné.
5. Sublimace: Přejchod z pevné fáze do plynné fáze.
6. Desublimace: Přejchod z plynné fáze do pevné fáze.



Obr. 1 Fázový diagram (Olander, 2008)

Každá látka má bod tání (T_f). Bod tání je teplota, při které se pevná látka mění v kapalinu. Každý prvek periodické tabulky má tzv. normální bod tání, což je teplota, při které se prvek stává kapalinou při tlaku 1 atmosféry. (Jin a Lu, 2002; Qiu, 2018)

Každá látka má také bod varu (T_b). Bod varu je teplota, při které se kapalina odpařuje na plyn. Stejně jako u bodů tání, každý čistý prvek má normální bod varu při tlaku 1 atmosféry. (Goldberg, 1988; Wang, 2023)

Při zkoumání fázového přechodu je třeba vzít v úvahu dvě proměnné: tlak (P) a teplotu (T). Pro plynné skupenství je vztah mezi teplotou a tlakem definován níže uvedenými rovnicemi [1,2] (Silbey, 2005):

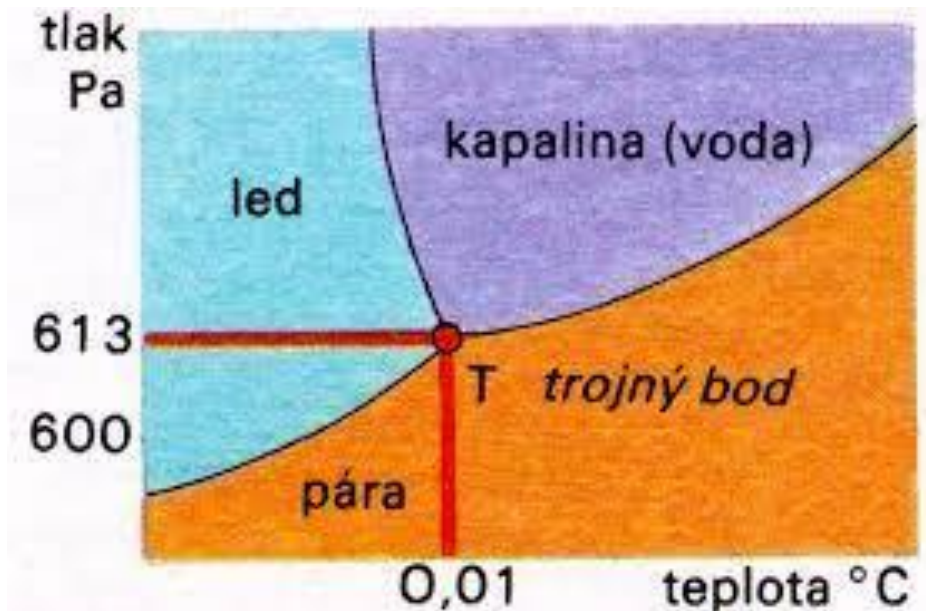
Zákon ideálního plynu:

$$PV = nRT \quad [1]$$

van der Waalsova stavová rovnice:

$$(P + a * n^2 / V^2) * (V - nb) = nRT \quad [2]$$

Kde V je objem, R je plynová konstanta a n je počet molů plynu.



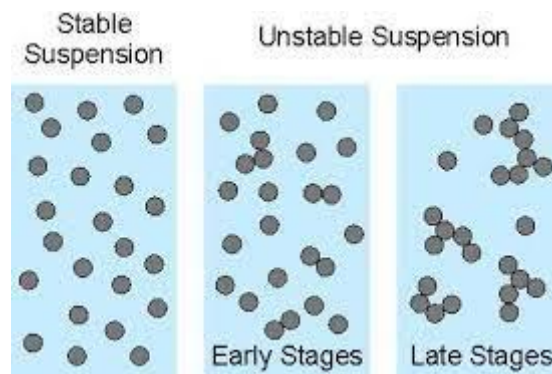
Obr. 2 Fázový diagram vody a trojný bod (Mendelova Univerzita v Brně, 2023)

2.1 Agregace částic

Agregace částic je hlavní příčinou destabilizace orálně disperzních filmů. Tudíž je potřeba vědět, jak se daná suspenze bude chovat, jak při pokojové teplotě, tak i při zvyšování teploty. (Lu, 2018)

Pokud jsou částice suspendovány v kapalině, může snadno dojít k destabilizaci disperzní soustavy. V ideálním případě jsou částice ve stabilní suspenzi dispergovány jednotlivě (homogenně). Ale pokud dojde k destabilizaci částice se agregují (shlukují). Nejprve vytvářejí dublety, následně aglomeráty (částice jsou spojeny slabými vazbami)

a nakonec agregáty (částice jsou spojeny silnými vazbami). Aglomeráty se vyskytují v tzv. raných fázích agregace, a naopak agregáty v pozdní fázi agregace. U větších agregátů dochází k procesu sedimentace, kdy vztlaková síla prostředí je menší než gravitační síla. Zde se budeme zabývat pouze agregací a budeme předpokládat, že s procesem agregace nejsou spojeny žádné další destabilizační mechanismy. (Lin, 1989; Kobayashi, 2005)



Obr. 3 Agregace částic (Trefalt, 2014)

2.2 Brownův pohyb

ODF by měly být homogenní, protože je zapotřebí léčivé látky vstřebat rovnoměrně a nejrychleji. K tomu nám napomůže Brownův pohyb, který mikroskopickým pohybem přesouvá částice v suspenzi z nasyceného prostředí do nenasyceného.

Pokud dochází k náhodnému pohybu mikroskopických částic v plynném nebo kapalném prostředí, jde o Brownův pohyb. K pohybu dochází díky srážkám částic s molekulami prostředí. Jakmile dojde v jednom místě nádoby k vyšší koncentraci, pak v průběhu určitého časového období budou mít částice tendenci se rovnoměrně rozprostřít po celém prostředí. Tomuto jevu se říká indukovaná difúze, která je vyvolána koncentračním gradientem. K tomuto pohybu dochází, když se částice přesouvají z vysokých koncentrací do nízkých. Jsou-li tedy A a B dvě sousední oblasti a v čase t se v A nachází dvakrát více částic než v B, je v tomto okamžiku pravděpodobnost, že částice opustí A a vstoupí do B, dvakrát větší než pravděpodobnost, že částice opustí B a vstoupí do A. Můžeme si to představit na případu ponoření sáčku čaje do vroucí vody. Po čase se čaj zbarví po celém objemu, aniž bychom ho nijak míchali. Difuzi lze tedy považovat za makroskopický projev Brownova pohybu na mikroskopické úrovni. Je ji tedy možné

studovat simulaci pohybu Brownovy částice a výpočtem jejího průměrného chování. (Chakravarti a Sebastian, 1997; Dolez, 2015; Hao, 2005)

2.3 Polarizační mikroskopie

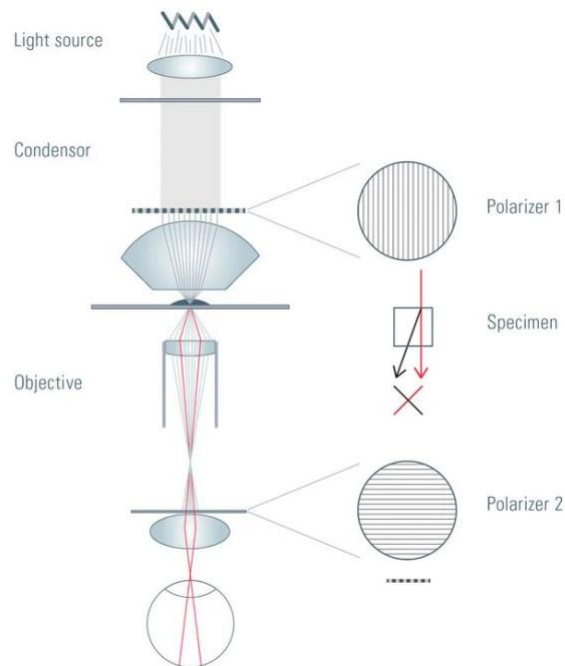
Abychom mohli pozorovat agregaci částic, Brownův pohyb a homogenitu připravených vzorků je zapotřebí mikroskop. Pokud bychom chtěli vidět částice v roztoku, polarizovatelné světlo nám je lépe pomůže naléznout.

Mikroskop s polarizovaným světlem je určen k pozorování opticky aktivních látek, které jsou viditelné díky své opticky anizotropní povaze. Aby bylo možné tento úkol splnit, musí být mikroskop vybaven jak polarizátorem, umístěným v dráze světla před vzorkem, tak analyzátozem (druhým polarizátorem), který je umístěný v optické dráze mezi zadní clonou objektivu a pozorovacím okulárem nebo vstupem kamery. (Olympus, 2023)

Kontrast obrazu vzniká interakcí rovinně polarizovaného světla s dvojlomným vzorkem za vzniku dvou jednotlivých vlnových složek, které jsou polarizovány ve vzájemně kolmých rovinách. Rychlosti složek jsou různé a mění se dle směru šíření. Po výstupu ze vzorku jsou složky fázově posunuty, při průchodu analyzátozem se opět spojí konstruktivní a destruktivní interferencí. (Olympus, 2023)

Když se anizotropní vzorek zaostří a otočí o 360° , bude se v závislosti na poloze otáčení postupně jevit jako světlý a tmavý (vyhaslý). Pokud je hlavní osa vzorku orientována pod úhlem 45° k ose polarizátoru, bude dosaženo maximálního stupně jasu a největšího stupně zhasnutí, když se obě osy shodují. Během otáčení v rozsahu 360° bude vzorek oscilovat mezi světlem a tmou čtyřikrát v 90° krocích. To je způsobeno dopadajícím polarizovaným světlem na dvojlomný vzorek se směrem kmitů rovnoběžným s optickou osou. Budou-li se osvětlovací kmity shodovat s hlavní osou vzorku, pak se vzorek bude jevit jako izotropní (tmavý nebo vyhaslý). Pokud se změní orientace vzorku o 45° , dopadající světelné paprsky se vzorkem rozdělí na řádnou a mimořádnou složku, které se pak v analyzátozem spojí a vzniknou interferenční obrazce. K interferenci dochází pouze tehdy, když mají polarizované světelné paprsky shodný směr kmitání, maximální dvojlom se projeví, když se úhel mezi hlavní rovinou vzorku a směrem povoleného kmitání osvětlení překrývá. Interference mezi rekombinujícími paprsky bílého světla v rovině vibrací analyzátozem často vytváří barevné spektrum, které

je způsobeno barvami vznikajícími destruktivní interferencí bílého světla. Barvy pozorované při osvětlení bílým světlem v okuláru mikroskopu lze využít ke kvantitativním závěrům o rozdílech drah a hodnotách tloušťky vzorku, pokud jsou známy indexy lomu vzorku pro řádný a mimořádný svazek. (Olympus, 2023; Nikon, 2023)



Obr. 4 Funkce Polarizační mikroskopie (Ockenga, 2011)

3) Orálně Disperzní filmy (ODF)

Zkoumání orálně disperzních filmů při různých teplotách by mohlo napomoci s jeho skladováním, či při jeho výrobě. Z toho důvodu jsme filmy zahřívali až k bodu tání a pozorovali chování připravených vzorků.

Ústý rozpustný film se stává novou lékovou formou k perorálnímu podávání léčiv, protože poskytuje pohodlí a snadné použití oproti jiným formám, jako jsou tablety rozpádající se v ústech, bukalní tablety a sublingvální tablety. Proto se o filmy rozpustné v ústech zajímá velké množství farmaceutických firem. Film rozpustný v ústech byl vyvinut na základě technologie transdermální náplasti. Ústý rozpustná fólie jsou tenké a pevné formy, které se po vložení do ústní dutiny rozpustí během několika sekund bez žvýkání a příjmu vody, a to díky produkci slin slinnými žlázami, které film snadno rozpustí. Vzhledem k tomu, že sliznice dutiny ústní je vysoce vaskularizovaná, mohou se léčivé látky vstřebávat přímo a ihned se dostat do systémového oběhu, aniž by byla část léčivé látky metabolicky zničena v játrech, kde se léčivá látka může snadno zničit. Tuto výhodu lze využít při přípravě přípravků se zvýšenou perorální biologickou dostupností molekul, které podléhají first pass efektu. Tyto filmy nabízejí pohodlný způsob dávkování léčivých přípravků dětem, geriatrickým pacientům a pacientům upoutaným na lůžko. Sublingvální a bukalní podávání léčiva prostřednictvím tenkého filmu má potenciál zlepšit nástup účinku, snížit dávkování a zlepšit profil účinnosti a bezpečnosti léku. Ideální film by měl mít vlastnosti, jako je příjemná chuť, vysoká stabilita a snadné podávání. Hlavní nevýhodou je jejich komplikované skladování a zajištění stability ODF před podáním pacientovi. (DeMerlis, 2003; Salawi, 2022)

3.1 Příprava ODF

ODF má různé metody přípravy. Zohledňuje se ekonomická náročnost a dostupnost prostředků u výrobce. Výroba může být průmyslová nebo laboratorní. (Musazzi, 2020)

3.1.1 Lití do rozpouštědla

Metoda lití do rozpouštědla (v angl. solvent-casting) je nejčastěji používanou metodou přípravy ODF. Hlavním důvodem je jednoduchá příprava, která je ekonomicky výhodná na zpracování. Nejprve se ve vodě rozpustné složky připravují mícháním v

zahřátém magnetickém míchadle. Poté se k této směsi přidá léčivo a další pomocné látky (např. zahušťovadla), které zaručují vhodné viskózní prostředí. Připravený roztok se nalije do Petriho misky a rozpouštědla obsažená v roztoku se nechají odpařit. V závislosti na rozpouštědlech se ODF uchovávají po dobu 20-25 hodin nebo 24-48 hodin při pokojové teplotě, nebo po kratší dobu při teplotě 40-50 °C v sušárně. Filmy získané po odpaření rozpouštědel mají průměr 15-20 mm, tloušťku 0,2-0,3 mm. Nakonec jsou ODF pečlivě odděleny od Petriho misky. V závislosti na množství účinné látky, kterou obsahují, se rozřežou na kousky požadované velikosti. Alternativní metodou u solvent castingu je tzv. polotuhá technika, kdy se polotuhá gelová hmota nalije do vhodných forem a nechá se vypařit pomocí gelotvorných polymerů. Nakonec se opět připraví rozřezáním na požadované velikosti. (Rashid, 2021; Jose, 2019)

3.1.2 Vytlačování za tepla

Vytlačování za tepla (v angl. hot melt extrusion) je technika, při níž se směs obsahující léčivo, polymer a pomocné látky vytlačuje za vysoké teploty za vzniku homogenní hmoty, která se následně odlévá a vytváří hladké filmy. Při tomto procesu se nepoužívají rozpouštědla. Hlavní nevýhodou je limitace zpracování možných látek, kvůli použití vysokých teplot nemůžeme použít termolabilní látky. (Tambe, 2021; Hanada, 2023)

3.1.3 Technika stříkání

Technika stříkání (v angl. spray technique) využívá čirý roztok, ve kterém jsou rozpuštěny všechny potřebné složky (léčivá látka, polymerový nosič, změkčovadla, dochucovadla atd.) Tento čirý roztok se poté nastříká na vhodný materiál (sklo, polyethylenová fólie z nesilikonizovaného kraftového papíru nebo teflonová fólie). Opět necháme zaschnout a uchováme ve vhodném prostředí před použitím. (He, 2021; Yamasaki, 2019)

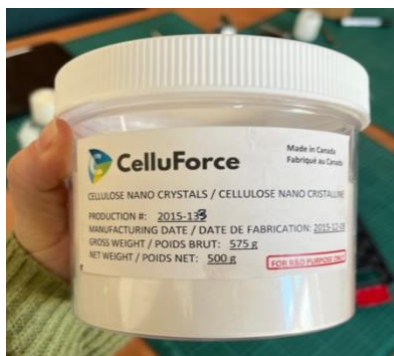
3.2 PVA + nanoceluloza

Nanocelulóza funguje jako opticky aktivní látka, která je dobře viditelná pod polarizačním mikroskopem. Polyvinylalkohol (PVA) se využívá ve farmaceutickém průmyslu jako nosič léčivé látky nebo nově i při výrobě náplastí na hojení ran. Pokud

vytvoří z těchto dvou látek suspenzi, můžeme tím vytvořit simulaci ODF, přes který se dá sledovat pohyb částic ve filmu. (Zhu, 2022)

PVA je vodorozpustný polymer, který je biodegradabilní, biokompatibilní. To i přesto, že je syntetický, protože novodobé trendy ve farmacii se snaží opustit od syntetických polymerů. Jeho další výhodou je, že je ekonomicky dostupný, proto se často využívá ve farmaceutickém průmyslu. (Cerchiara et al., 2003) je bezbarvý a bez zápachu. Poznáme ho ve formě bílých až průhledných krystalků. Kvůli hydroxylové skupině je PVA snadno rozpustný ve vodě. Hydroxylová skupina dále ovlivňuje bod tání 200 °C a bod varu 228 °C. Stále ale platí pravidlo rozpustnosti látky v roztoku. Jakmile dojde k přesycenosti roztoku, PVA se přestane ve vodě rozpouštět a začne krystalizovat. Rozpustnost PVA je závislá na teplotě a tlaku. PVA želírováním získává pevnou, odolnou a čirou strukturu. Stává se z něho hydrogel, ze kterého se můžou vyrábět chrupavky, stenty či čočky. (Adelnia, 2022; Tang, 2011; Sin, 2023)

Celulózu nacházíme jako přirozenou součástí buněčné stěny všech rostlin a stromů. Považuje se za jeden z nejrozšířenějších a nejobnovitelnějších biopolymerů. Hojně se používá jako výztužní materiál u různých kompozitů (např. polymerních). Nanocelulóza je to samé, akorát se pohybujeme v měřítku nanometrů. I když je nanocelulóza velice náročná na výrobu, získává se stále větší oblibě nejen v medicíně. Používá se jak jako výztuž do plastů (aby byly pevnější) Je opticky anizotropní, a tedy opticky aktivní pod polarizačním mikroskopem. Na rozdíl od PVA je vysoce hydrofobní a těžko se rozpustí ve vodě. (Nasir, 2017; Trache, 2020; Heise, 2021; Solhi, 2023) Na poli biomedicíny plní funkci na úrovni molekulové struktury, kdy se využijí jako bioskládky pro buněčné kultury nebo pomocné nosiče léčiv. Na úrovni makromolekulární se mohou využít u náhrad cév, při výrobě materiálů na obnovu kůže atd. (Lin, 2014)



Obr. 5 Nanocelulóza od značky CelluForce (Zdroj: Autor)

4) Praktická část

4.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky

Pomocí teplotní komůrky THMS600, která dokáže kontrolovat teplotu s přesností 0,1 °C/min, a to v rozsahu -196 až 600 °C, budeme zkoumat chování ODF, suspenzí a polymerních roztoku při různých teplotách a zároveň výrazně napomůže zkoumání řady jevů jako jsou například krystalizace, rozpustnost, teplotní stabilita vzorků atd..

4.2 Metody

V této kapitole se budeme zabývat, jak měření probíhá. Dále také zapojení a zprovoznění celé teplotní komory THMS600 plus nastavení a popis softweru.

4.2.1 Systém THMS600

Systém se skládá ze THMS600, přístroje CI94/2 a volitelného systému LNP94/2. chladičho čerpadla na kapalný dusík. Řídicí software systému Linksys32. Fotky a digitální video je požito z mikroskopu BX60.

THMS600 se k mikroskopu připevňuje buď pomocí speciálních svorek nebo pomocí adaptérové desky nebo jednoduchým umístěním na držák XY mikroskopu pomocí oboustranné lepicí pásky.

4.2.2 CI94

Zařízení na obrázku 5 dole je CI94. Rozhraní CI94 (Computer Interface) bylo speciálně navrženo tak, aby umožňovalo přesnou regulaci teploty. Regulovat teplotu lze buď manuálně za pomoci CI94 nebo pomoci softwaru Lynksys32.

4.2.3 LNP94/2

Zařízení na obrázku 5 nahoře. LNP94/2 je zařízení pro chlazení teplotní komůrky THMS600. Velká výhoda je, že je zcela automatizované, tudíž jediné, co obsluha musí řešit je nastavení teploty na „chlazení“ (menší, než je aktuální) a musí být přítomen tekutý dusík.



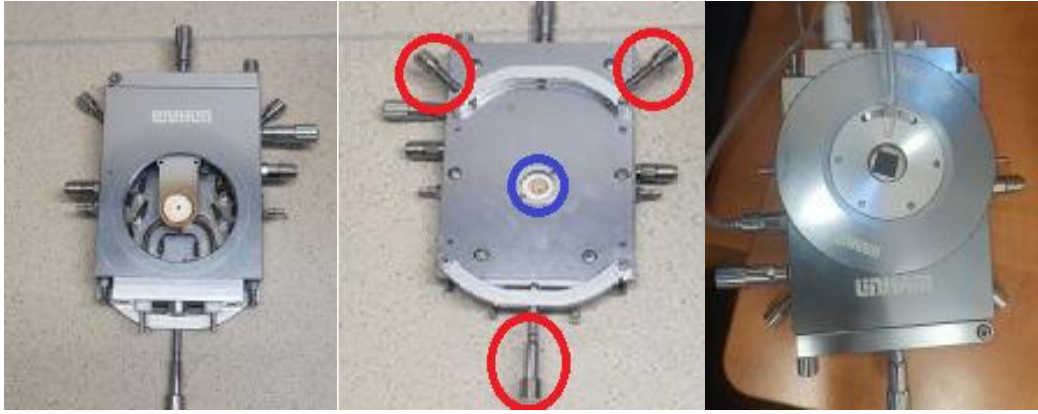
Obr. 6 LNP94/2 CI94

4.2.4 Celá měřicí soustava



Obr. 7 Celá měřicí soustava

Na obr. 6 vidíme celou měřicí soustavu. Vlevo je PC, CI94, LNP94/2 a nádobu na kapalný dusík. Následuje mikroskop s teplotní komůrkou THMS600 a nejvíc vpravo je počítač, kde pozorujeme obraz z mikroskopu.

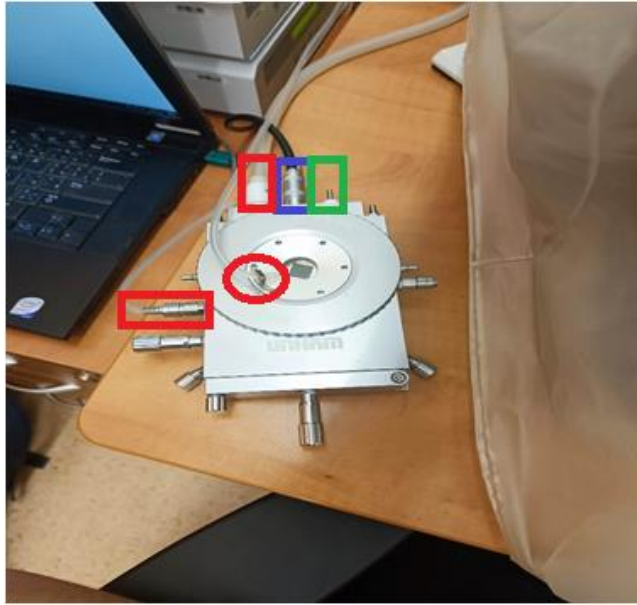


Obr. 8 nalevo je THMS600 z přední strany, uprostřed bez vrchní víka a vpravo ze zadní strany (zdroj: autor)

Na obrázku vlevo vidíme celou komůrku složenou. Pokud chceme vložit vzorek do komůrky odmontujeme vrchní víko (kruhový kryt). Tím se dostaneme k obrázku uprostřed. Zde je kruhový prstenec s cílem držení sklíček/sklíčka a vzorku. Prstenec je zároveň držen držákem, pomocí kterého zároveň pohybujeme vzorkem v XY systému.

Po zapnutí a propojení LNP94/2 a CI94 přimontujeme teplotní komůrku THMS600 za pomoci držáků, které vidíme označené na obrázku červenými kroužky (viz. obr. 7 vpravo). Je důležité, pokud chceme použít mikroskop se spodním osvětlením, abychom našli průchozí bod (označený modře viz. obr. 7 vpravo), skrz který prochází světlo. Není to ale nutné, pokud vám stačí horní osvětlení nebo máme látku či vzorek, kterým neprochází světlo (např. teplotní proužky). Pokud by došlo ke zničení ochranného skla W22G na kruhovém krytu je zde možnost ho vyměnit rozmontováním krytu.

4.2.5 Zapojení THMS600



Obr. 9 Zapojení THMS600

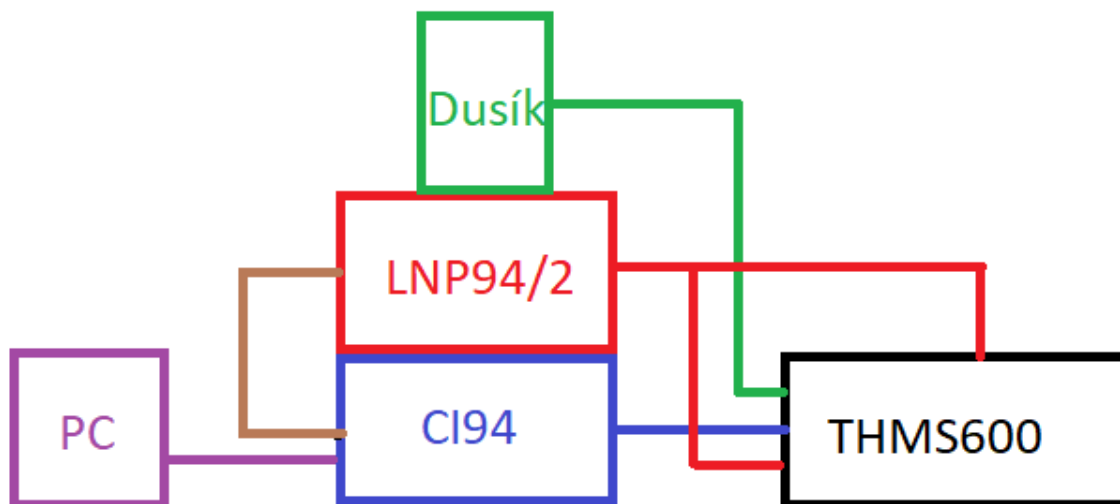
Červeně označené hadice (viz. Obr. 10 a 12) přivádějí chladicí vzduch z přední strany přístroje LNP94/2 (viz. Obr. 11). Zeleně označená hadice (na obr. 10 není připojena) přivádí tekutý dusík. Černý kabel, označený modře, slouží pro komunikaci mezi komorou a CI94(viz. Obr. 11).



Obr. 10 LNP94/2 a CI94(vlevo) zadní strana (vpravo)

Dva vývody vycházející z LNP94/2 (viz. Obr. 11 vlevo) vedou do teplotní komory THMS600. Širší vrchní vývod se dělí na dva (viz. Obr. 10 červené obdélníkové ohraničení). Spodní vývod je připojen na kruhový kryt (viz. Obr. 10 červené kruhové ohraničení). Na obr. 11 vidíme tři různé kabely. Šedivý kabel propojující LNP94/2 a CI94

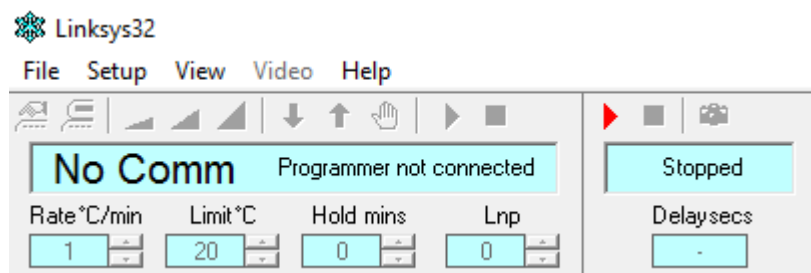
slouží k vzájemné komunikaci (hnědě značený na obr. 12). Černý kabel vpravo dole propojuje CI94 a THMS600 (modře značený na obr. 12). Bílý kabel vlevo dole propojuje CI94 a PC (fialově značený na obr. 12).



Obr. 11 schéma zapojení teplotní komůrky THMS600

4.2.6 Popis softwaru

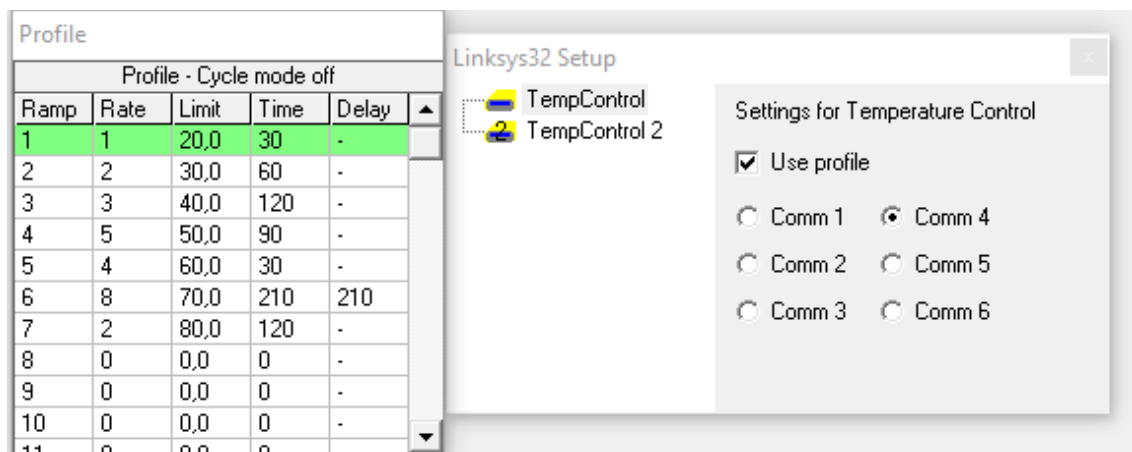
Teplotní komůrku lze ovládat dvěma způsoby. První ovládání systému lze manuálně pomocí přístroje CI94. Druhý způsob je přes PC za pomoci systému linksys32 (viz. obr. 12).



Obr. 12 Program linksys32

Systém Linksys32 nejprve propojíme s CI94 tím způsobem, že klikneme na file → connect. Pomocí systému Linksys32 nastavujeme požadovanou teplotu. Teplotu si lze nastavit buď pomocí panelu, který vidíme na obrázku, kde zleva máme stupně za minutu (Rate °C/min), požadovanou teplotu (Limit °C), držení požadované teploty (Hold mins). Pokud bychom chtěli držet teplotu na neomezený čas lze použít ručička pod tlačítkem Help a poslední je LNP (foukání) na vrch sklíčka W22G, ale to je nastavené na

automatické. Pokud chceme od komůrky odejít nebo ji nechceme nastavovat ručně bod po bodu, je zde funkce Profile pod tlačítkem View. Tuto funkci si nastavíme podle svého uvážení bod po bodu pak už jen daný Profile spustíme za pomoci Setup, kde nalezneme port, přes který je propojený PC a CI94 a zároveň spuštění Profilu. Po plném zapojení, vložení vzorku a nastavení systému mohou začít samotná měření.



Obr. 13 vlevo nastavený Profile, vpravo aktivování Profile

4.2.7 Specifikace

Maximální teplota: 600 °C

Minimální teplota: -196 °C s LNP94/2

Maximální rychlost ohřevu: 150 °C/min

Šířka objektivu: 4,5 mm

Šířka kondenzátorové čočky: 12,5 mm

Zdvih XY-manipulátorů: 16 mm

Clonový otvor: 2 mm

Hmotnost: 0,62 kg

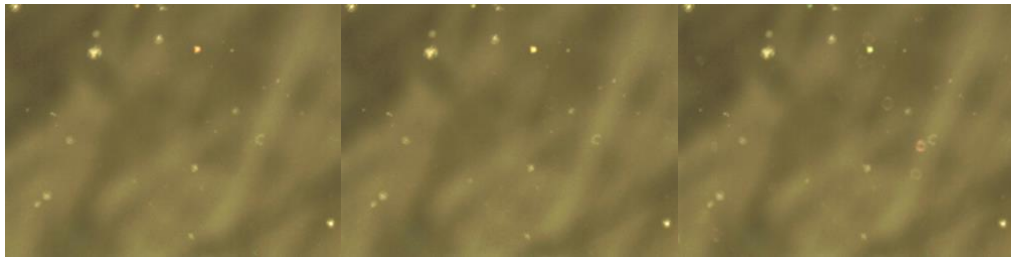
4.3 Analýza výzkumných dat

4.3.1 Reverzibilní polyesterová fólie z tekutých krystalů (Teplotní proužky)

Výrobce Omega Engineering vyrábí přesné teploměry. Jeden z jejich produktů jsou teplotní proužky. Ty jsme použili z důvodu vyzkoušení, přesnosti teplotní komory. Zda dokáže mít krok 0.1 °C/min , jak udává výrobce a zda teplota co nám ukazuje program linkam32 je správná. Teplotní proužky při dosažení dané teploty změni svou barvu, což pod polarizačním mikroskopem lze dobře pozorovat.

Teplotní proužek s rozsahem teploty 35 ± 1

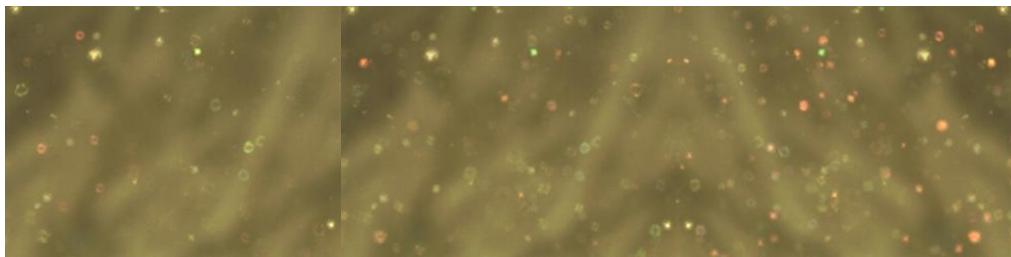
První teplotní proužek se mění od $35\text{ °C}\pm 1\text{ °C}$. tím to pokusem jsme vyzkoušeli, zda komora dokáže mít takto malý teplotní krok 0.1 °C a stabilně ho udržovat po požadovaný čas.



Obr. 14 35 °C

Obr. 15 $35,1\text{ °C}$

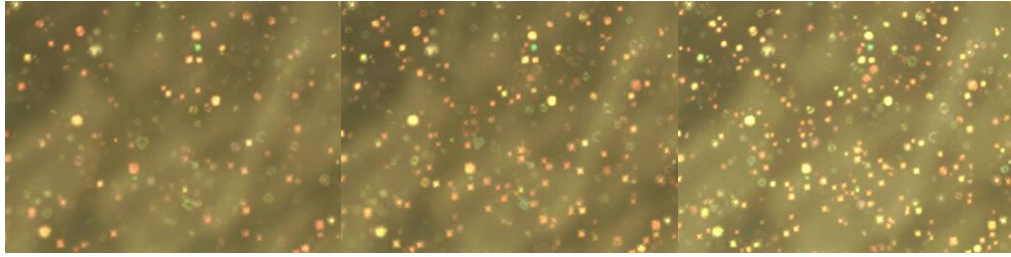
Obr. 16 $35,2\text{ °C}$



Obr. 17 $35,3\text{ °C}$

Obr. 18 $35,4\text{ °C}$

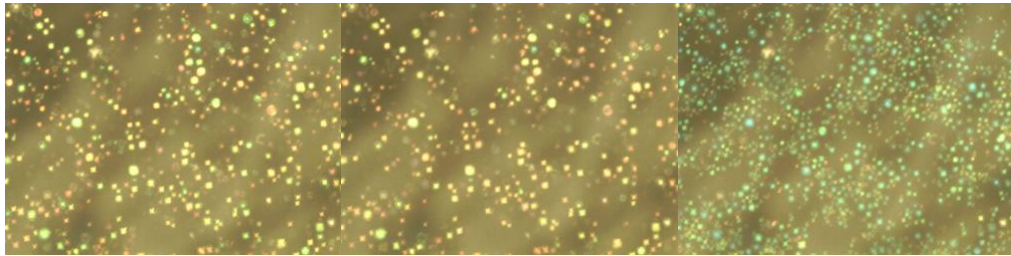
Obr. 19 $35,5\text{ °C}$



Obr. 20 35,6 °C

Obr. 21 35,7 °C

Obr. 22 35,8 °C



Obr. 23 35,9 °C

Obr. 24 36 °C

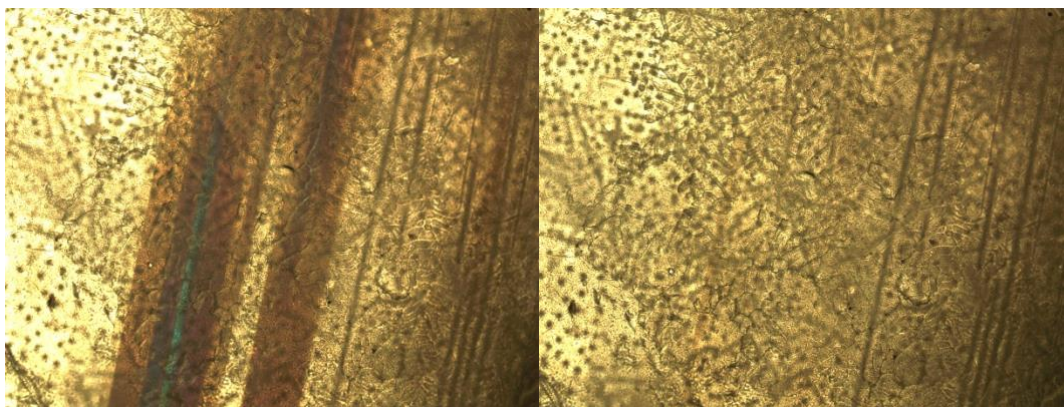
Obr. 25 37 °C

Teplotní krok na obrázkách je 0,1 °C/min až na poslední ten je 37 °C. Z první trojice obr. 14-16 jde pozorovat, že jsme se teprve dostali na požadovanou teplotu 35 °C. Pomalu se začínají ukazovat barevné změny na folii. Další obrázky už mají větší změnu z obr. 19 už můžeme říct, že jsme trochu za půlkou rozsahu z důvodu jasného změny tekutých krystalků. Obrázky 20-24 bychom měli vidět, už okem, a to změnou barvy do zelena. Z parametrů výrobce víme, že pokud se dostaneme na požadovanou teplotu tak proužek zezelená a pokud teplotní proužek přesáhne teplotu, než na jakou je vyrobený zmodrá, a to krásně vystihuje obrázek 25, což znamená, že daná teplotní komora THMS600 pracuje podle svých predispozicí a udávaná teplota souhlasí.

4.3.2 BaTiO₃

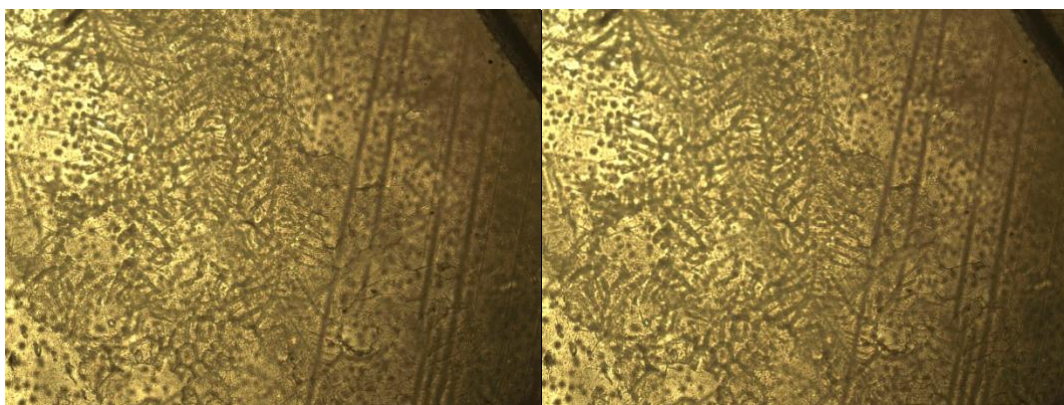
Bylo v této práci zvoleno kvůli své změně polarizace při dané teplotě a změně doménové struktury. Tento jev lze pozorovat pouze pomocí polarizační mikroskopie.

Doménové struktury při teplotě 120 °C jsou v pohybu a nelze je pozorovat. Této teplotě se nazývá Curieho teplota (TC). Pokud se dostaneme nad teplotu 120 °C BaTiO₃ změní své doménové struktury. Doménové struktury se znovu uspořádají a budou pozorovatelné pod polarizačním mikroskopem.



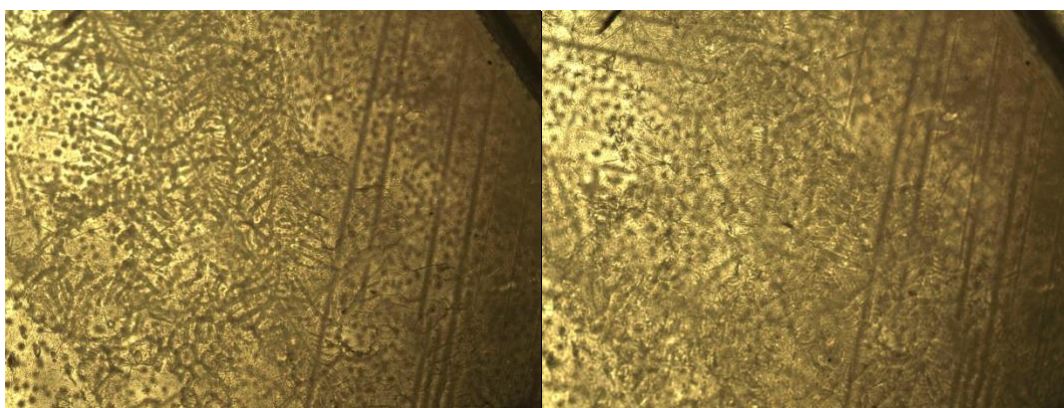
Obr. 26 BaTiO₃ 29 °C

Obr. 27 BaTiO₃ 64 °C



Obr. 28 BaTiO₃ 100 °C

Obr. 29 BaTiO₃ 115 °C

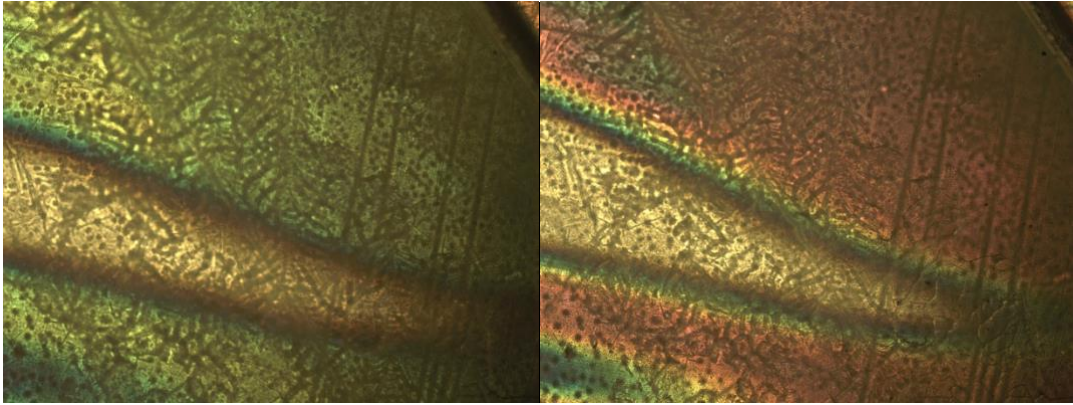


Obr. 30 BaTiO₃ 125 °C

Obr. 31 BaTiO₃ 130 °C

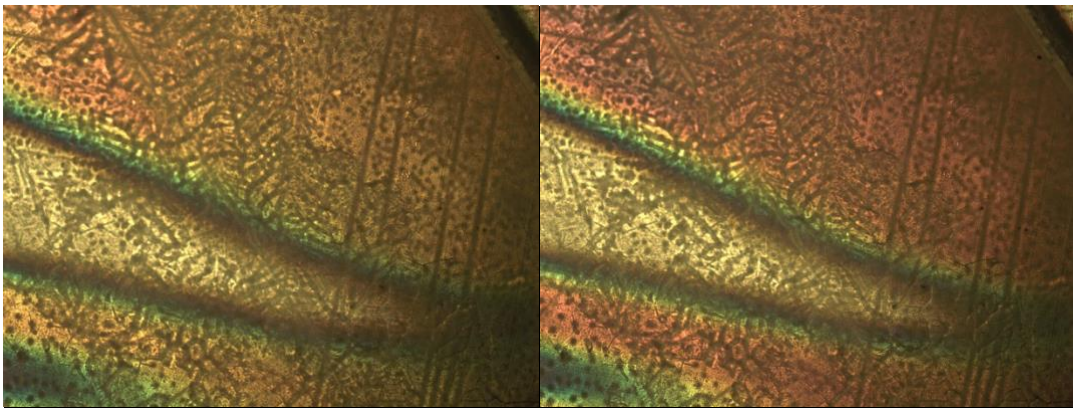
Z obr. 26 lze vidět doménové struktury BaTiO₃ v polarizovatelném světle. Ta nám ovšem hned v obr. 27 zmizí. Pokračujeme s teplotou až na 130 °C, kde by už měla proběhnout přeměna doménové struktury. Tento jev by měl být pozorován až BaTiO₃

schladíme pod 120 °C, kde by se nám měla lišit doménové struktura obrázku č. 26 a obr. 32 zchlazeného pod 120 °C.



Obr. 32 BaTiO₃ 95 °C

Obr. 33 BaTiO₃ 80 °C



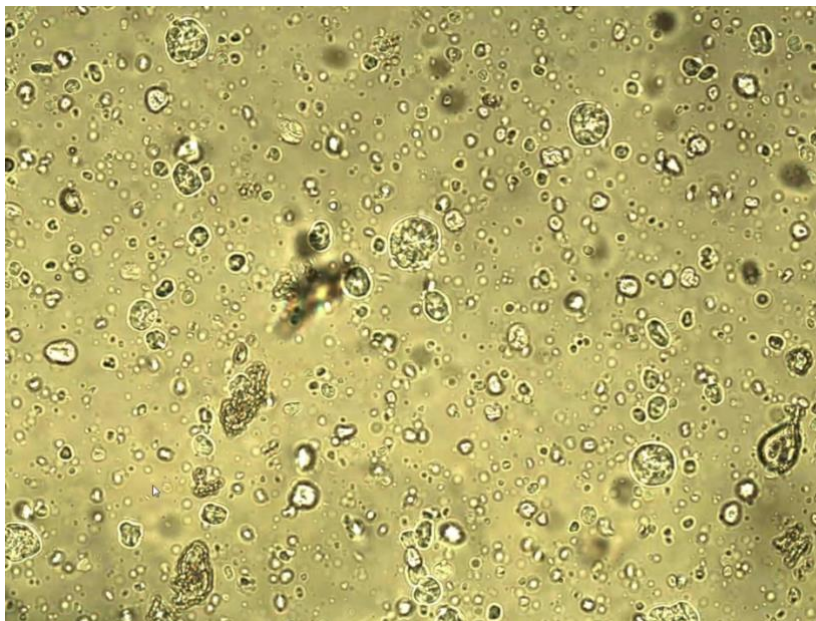
Obr. 34 BaTiO₃ 70 °C

Obr. 35 BaTiO₃ 45 °C

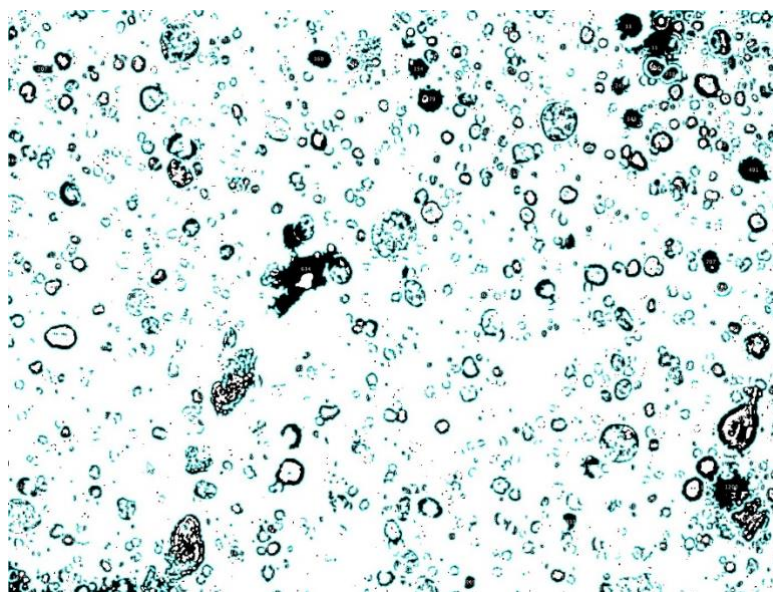
Z těchto obrázků č. 32-35 lze pozorovat, že měření dopadlo podle očekávání. BaTiO₃ změnilo doménové struktury a uspořádali se znovu ale v jiných místech.

4.3.3 ODF

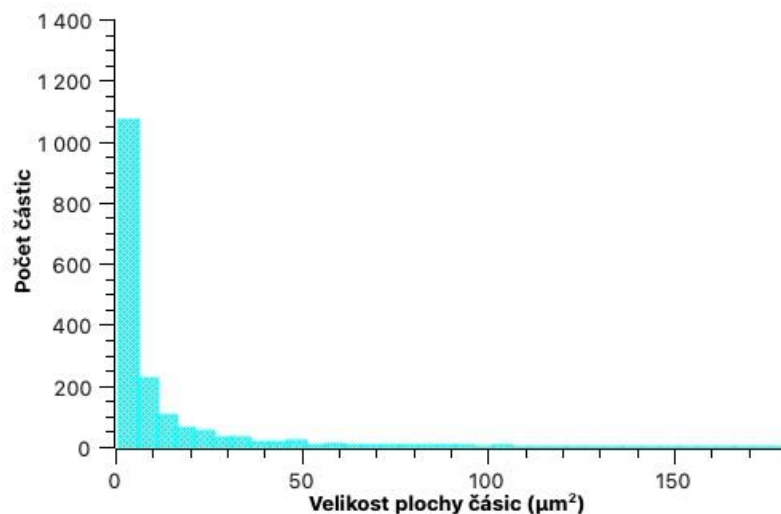
Jsme připravili za pomoci metody lití do rozpouštědla, kde hlavní látkou je nanocelulóza, jejíž nosičem je PVA. Tato suspenze simuluje strukturu ODF. Filmy jsme natáhli za pomoci natahovacího pravítka. Zároveň tloušťka filmu byla udána také natahovacím pravítkem. Po evaporaci filmu je nezbytné použít film co nejdříve z důvodu vypaření vody. Jakmile film zcela zatuhne je obtížné ho dostat ze skla.



Obr. 36 zpracovávány obrázek

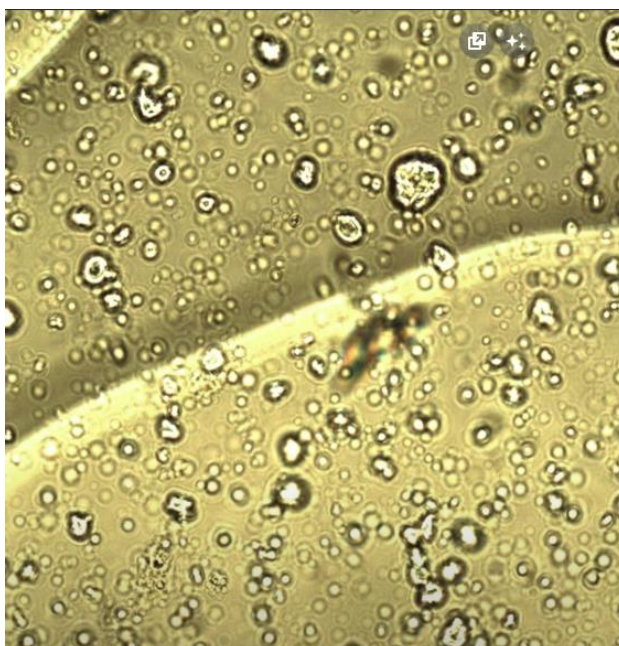


Obr. 37 Thrashehold a analyze particles



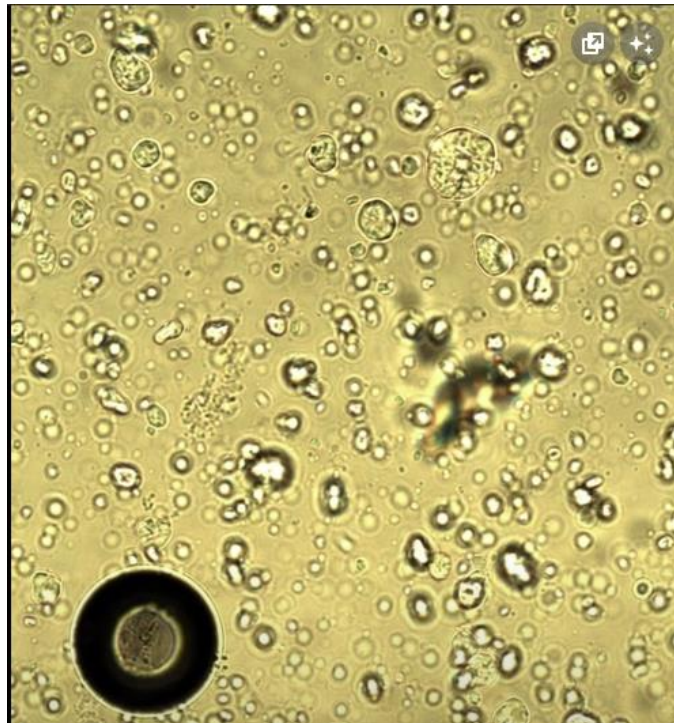
Graf 1 Histogram

Obr. č. 36 bude zpracován a to tím, že za pomoci programu Imagej ho převedeme do 8bitového obrazu, aby mohla být použita a mohly být detekovány částice a v následujících obrázku č. 37 vidíme danou úpravu a za pomoci Obr. č. 37 jsme vyhodnotili histogram (graf 1).



Obr. 38 Bod tání 225,1 °C

Z obr. 38 lze krásně pozorovat bod tání (Bf) při 225,1 °C. Což se nám liší ku teorii, kde má být bod tání PVA 200 °C, to ale může způsobit složení suspenze. Tání nám zde znázorňuje „vlna“, která svítí uprostřed obrázku a v svítivě levém rohu se snaží spojit s další „vlnou“. Jakmile se dané vlny spojí, můžeme spolehlivě říct, že PVA přešlo do kapalného skupenství a může zde dojít k pohybu částic.



Obr. 39 Bod varu 251 °C

Na tomto obr. 39 se nám teplota dostala na bod varu (Tb) 251 °C. Což nám zde dokazuje vytvoření bubliny v levém dolním rohu. Pokud bychom zde pokračovali na vyšší teploty potom by se nám PVA odpařil či by došlo k jeho zničení. Bod varu se zde také liší, ale pokud porovnáme hodnoty naše ku hodnotám teoretickým zjistíme, že se obě hodnoty navýšili o přibližně 25 °C. Z toho bychom mohli usoudit, že složení suspenze nám změnilo Bf a Tb.

4.4 Vyhodnocení cílů a výzkumných otázek/předpokladů

Dokázali jsme popsat a zprovoznit teplotní komoru THMS600 a zpracovat její schéma zapojení. Pomocí teplotních zkoušek jsme potvrdili teplotní rozmezí, které komora snese bez jejího poškození (-196–600 °C). Pomocí teplotních proužků a titaničitanu barnatého, které sloužili k ověření teploty v komůrce, jsme také potvrdili její přesnost, která vyšla $\pm 0,1$ °C. Po ověření funkčnosti a manipulace s komůrkou jsme začali s pozorováním chování ODF.

Polyvinylalkoholové filmy s přidanými nanocelulózovými částicemi jsme rozřezali do malých čtverečků, které velikostně vyhovovaly teplotní komůrce. Při sledování filmů jsme dokázali stanovit bod tání a varu, kdy k těmto bodům došlo zhruba o 25 °C vyšší teplotě, než stanovují tabulky pro PVA. Zde může hrát faktor vysušování filmu a jeho skladování a fakt, že jsme nesledovali čistý roztok polyvinylalkoholu. Strukturní vazby nanocelulózy mohly narušit charakter samotného polyvinylalkoholu, a proto k bodům tání i varu došlo až při vyšších teplotách.

5) Závěr

Cílem této práce je zprovoznění teplotní komůrky THMS600 a vyzkoušení, zda pracuje podle parametrů, které uvádí výrobce. Další částí je metodika. Což znamená sepsání zásad jak nejlépe a nejefektivněji s danou komůrkou pracovat. Jeden ze stěžejních bodů k zprovoznění Teplotní komůrky bylo získání licence pro program linksys32 a seznámení se softwarem. V poslední řadě natažení ODF a poté zahřání na bod varu a pozorování částic.

Po seznámení a zapojení všech zařízení se podařilo zprovoznit teplotní komůrku THMS600. Po domluvě s firmou linkám nám poslali kód na licenci, která již nebyla podporována a již nepoužívána. Jakmile se odemknul software pro linksys32 bylo možné měřit. Pomocí teplotních proužků jsme kalibrovali přesnost teplotní komory THMS600. Po naměření teplotních proužků lze říci, že teplotní komora THMS600 pracuje podle předepsaných specifikací. U BaTiO₃ jsme vyzkoušeli změnu doménových struktur za pomoci polarizační mikroskopie. Toto měření dopadlo úspěšně. Doménové struktury se změnili po dosažení potřebné teploty. ODF jsme natáhli za pomoci přesného natahovacího pravítka. Po evaporaci filmu jsme odřízli kus filmu a zahřáli. Zde se nepotvrdili výzkumné předpoklady. Nelze pozorovat agregaci částic ani Brownův pohyb, kvůli nanocelulose, která je moc malá na to, aby šla pozorovat pod mikroskopem BX60.

Teplotní komora THMS600 by mohla být v budoucnu prospěšná pro zkoumání ligninu při různých teplotách zvláknování, krystalizace, term reverzibilní procesy.

Seznam použité literatury

ADACHI, Masayuki et al. 2018. Aggregation-phase diagrams of β 2-microglobulin reveal temperature and salt effects on competitive formation of amyloids versus amorphous aggregates. *Journal of Biological Chemistry*. **293**(38), 14775–14785. DOI 10.1074/jbc.RA118.004683.

ADELNIA, Hossein et al. 2022. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. *European Polymer Journal*. **164**, 110974. DOI 10.1016/j.eurpolymj.2021.110974.

ANON. [b.r.]. *Movement of particles* [online]. [Cit. 2022a-11-29]. Dostupné z: <https://www.education.vic.gov.au:443/school/teachers/teachingresources/discipline/science/continuum/Pages/particles.aspx>

CERCHIARA, Teresa et al. 2003. Substituted polyvinylalcohol as a drug carrier for β -carotene. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **56**(3), 401–405. DOI 10.1016/S0939-6411(03)00135-8.

DEMERLIS, C. C a D. R SCHONEKER. 2003. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). *Food and Chemical Toxicology*. **41**(3), 319–326. DOI 10.1016/S0278-6915(02)00258-2.

DOLEZ, Patricia I. 2015. *Nanoengineering: global approaches to health and safety issues*. Amsterdam Boston: Elsevier. ISBN 978-0-444-62747-6.

FEYNMAN, Richard P., Robert B. LEIGHTON a Matthew L. SANDS. 2011. *The Feynman lectures on physics*. New millennium ed. New York: Basic Books. ISBN 978-0-465-02414-8.

GOLDBERG, David E. 1988. *3,000 Solved Problems in Chemistry*. B.m. .: McGraw-Hill. ISBN 0-07-023684-4.

HANADA, Naho et al. 2023. Preparation of a ternary amorphous solid dispersion using hot-melt extrusion for obtaining a stable colloidal dispersion of amorphous probucol nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. **640**, 122959. DOI 10.1016/j.ijpharm.2023.122959.

HAO, Tian. 2005. *Electrorheological fluids: the non-aqueous suspensions*. 1st ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier. ISBN 978-0-444-52180-4.

HE, Mengning et al. 2021. Recent advances of oral film as platform for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. **604**, 120759. DOI 10.1016/j.ijpharm.2021.120759.

HEISE, Katja et al. 2021. Nanocellulose: Recent Fundamental Advances and Emerging Biological and Biomimicking Applications. *Advanced Materials*. **33**(3), 2004349. DOI 10.1002/adma.202004349.

CHAKRAVARTI, Nalini a K. L. SEBASTIAN. 1997. Fractional Brownian motion models for polymers. *Chemical Physics Letters*. **267**(1), 9–13. DOI 10.1016/S0009-2614(97)00075-4.

CHANG, Raymond. 2002. *General Chemistry: The Essential Concepts*. 3rd Edition. Dubuque, Iowa: McGraw-Hill Companies. ISBN 978-0-07-241067-9.

JIN, Z.-H. a K. LU. 2002. Melting. In: *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. B.m. ; Elsevier, s. 1–8. DOI 10.1016/B0-08-043152-6/01844-1. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0080431526018441>

JOSE, Jobin et al. 2019. Oral Dispersible Films, Novel Technology for the Delivery of Drugs. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. **12**(1), 425–428. DOI 10.5958/0974-360X.2019.00077.5.

KADAJJI, Veeran Gowda a Guru V. BETAGERI. 2011. Water Soluble Polymers for Pharmaceutical Applications. *Polymers*. **3**(4), 1972–2009. DOI 10.3390/polym3041972.

KALIA, Susheel, ed. 2021. *Natural polymers-based green adsorbents for water treatment*. 1. vyd. Cambridge: Elsevier. ISBN 978-0-12-820541-9.

KÄRGER, Jörg, Douglas M. RUTHVEN a Doros Nicolas THEODOROU. 2012. *Diffusion in nanoporous materials*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH. ISBN 978-3-527-31024-1.

KOBAYASHI, Motoyoshi et al. 2005. Effects of heat treatment on the aggregation and charging of Stöber-type silica. *Journal of Colloid and Interface Science*. **292**(1), 139–147. DOI 10.1016/j.jcis.2005.05.093.

LIN, M. Y. et al. 1989. Universality in colloid aggregation. *Nature*. **339**(6223), 360–362. DOI 10.1038/339360a0.

LIN, Ning a Alain DUFRESNE. 2014. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*. **59**, 302–325. DOI 10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025.

LU, Xiaomeng a Regina M. MURPHY. 2018. Nanoparticle Tracking for Protein Aggregation Research. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. **1777**, 145–158. DOI 10.1007/978-1-4939-7811-3_7.

MENDEL PVA UNIVERZITA V BRNĚ. 2023. *Technologické laboratoře 2*. Dostupné také z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=8648

MUSAZZI, Umberto M. et al. 2020. Trends in the production methods of orodispersible films. *International Journal of Pharmaceutics*. **576**, 118963. DOI 10.1016/j.ijpharm.2019.118963.

NASIR, Mohammed et al. 2017. Nanocellulose. In: *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites*. B.m. ; Elsevier, s. 261–276. DOI 10.1016/B978-0-08-100957-4.00011-5. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081009574000115>

NIKON. 2023. Polarized Light Microscopy | Nikon's MicroscopyU. *Nikon's MicroscopyU* [online]. [Cit. 2023-05-01]. Dostupné z: <https://www.microscopyu.com/techniques/polarized-light/polarized-light-microscopy>

OCKENGA, Wymke. 2011. Polarization Contrast. Dostupné také z: <https://www.leica-microsystems.com/science-lab/microscopy-basics/polarization-contrast/>

OLANDER, Donald R. 2008. *General thermodynamics*. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-0-8493-7438-8.

OLYMPUS. 2023. Polarized Light Microscopy - Microscope Configuration | Olympus LS. *Olympus* [online]. [Cit. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/techniques/polarized/configuration/>

PAPON, Pierre, Jacques LEBLOND a Paul H. E. MEIJER. 2002. *The physics of phase transitions: concepts and applications*. Berlin ; New York: Springer. ISBN 978-3-540-43236-4.

QIU, Fenghe. 2018. Practical Considerations. In: *Accelerated Predictive Stability*. B.m. ,: Elsevier, s. 75–103. DOI 10.1016/B978-0-12-802786-8.00004-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128027868000048>

RASHID, Aisha et al. 2021. Development and evaluation of oral fast disintegrating film of ranitidine HCl by solvent casting method. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. **34**(4(Supplementary)), 1527–1534. ISSN 1011-601X.

SALAWI, Ahmad. 2022. An Insight into Preparatory Methods and Characterization of Orodispersible Film—A Review. *Pharmaceuticals*. **15**(7), 844. DOI 10.3390/ph15070844.

SILBEY, Robert J., Robert A. ALBERTY a Mounqi Gabriel BAWENDI. 2005. *Physical chemistry*. 4th ed. Hoboken, NJ: Wiley. ISBN 978-0-471-21504-2.

SIN, Lee Tin a Bee Soo TUEEN. 2023. Biopolymers and challenges. In: *Plastics and Sustainability*. B.m. ,: Elsevier, s. 205–253. DOI 10.1016/B978-0-12-824489-0.00008-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128244890000088>

SOLHI, Laleh et al. 2023. Understanding Nanocellulose–Water Interactions: Turning a Detriment into an Asset. *Chemical Reviews*. **123**(5), 1925–2015. DOI 10.1021/acs.chemrev.2c00611.

TAMBE, Srushti et al. 2021. Hot-melt extrusion: Highlighting recent advances in pharmaceutical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. **63**, 102452. DOI 10.1016/j.jddst.2021.102452.

TANG, Xiaozhi a Sajid ALAVI. 2011. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. *Carbohydrate Polymers*. **85**(1), 7–16. DOI 10.1016/j.carbpol.2011.01.030.

TRACHE, Djalal et al. 2020. Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. *Frontiers in Chemistry*. **8**, 392. DOI 10.3389/fchem.2020.00392.

TREFALT, Gregor, Istvan SZILAGYI a Michal BORKOVEC. 2014. *Measuring particle aggregation rates by light scattering*. B.m. ,: Creative Commons Attribution 4.0 International License. Dostupné také z: <https://colloid.ch/index.php?name=aggregation>

WANG, Xilin et al. 2023. Molecular dynamics simulation of liquid film boiling on solid metal and liquid metal surfaces. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **200**, 123528. DOI 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2022.123528.

YAMASAKI, Keishi et al. 2019. Enhanced dissolution and oral bioavailability of praziquantel by emulsification with human serum albumin followed by spray drying. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **139**, 105064. DOI 10.1016/j.ejps.2019.105064.

ZHU, Hong et al. 2022. Adhesive, injectable, and ROS-responsive hybrid polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel co-delivers metformin and fibroblast growth factor 21 (FGF21) for enhanced diabetic wound repair. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **10**. ISSN 2296-4185. Dostupné také z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2022.968078>