



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**HYDROGELY AMINODEXTRAN-TENZID - FÁZOVÝ
DIAGRAM**

HYDROGELS AMINO-DEXTRAN-SURFACTANT: PHASE DIAGRAM

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Kristýna Daňková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1458/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Kristýna Daňková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.**

Název bakalářské práce:

Hydrogely aminodextran–tenzid – fázový diagram

Zadání bakalářské práce:

Seznámit se se základy interakcí mezi polyelektrolyty a tenzidy. Navrhnout jednoduchou vizuální metodiku sledování separace hydrogelů v systému aminodextran–aniontový tenzid a využít ji ke konstrukci schematického fázového diagramu uvedeného systému.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

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

Kristýna Daňková
student(ka)

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o studiu hydrogelových systémů založených na bázi fyzikálních interakcí opačně nabitých částic, konkrétně kladného polyelektrolytu se záporně nabitým tenzidem. Podle vizuálního vyhodnocení výsledků laboratorního experimentu, který je součástí této práce, byly pro vybrané koncentrační řady polymeru diethylaminoethyl-dextranu hydrochloridu a tenzidů dodecylsulfátu sodného a tetradecylsulfátu sodného sestaveny schématické fázové diagramy, charakterizující vzniklé systémy.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with a study about hydrogel systems based on the physical interactions of the oppositely charged particles, specifically interactions between positive polyelectrolyte and negative detergent. The phase diagrams were created based on the visual evaluation of results of the laboratory experiment, which is a part of this thesis, for in advance chosen concentration of the polymer diethylaminoethyl-dextran hydrochloride and detergents sodium dodecyl sulphate and sodium tetradecyl sulphate. These phase diagrams characterize incurred dextran systems.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogel, polyelektrolyt, tenzid, interakce, fázový diagram, diethylaminoethyl-dextran hydrochlorid, dodecylsulfát sodný, tetradecylsulfát sodný

KEYWORDS

hydrogel, polyelectrolyte, detergent, interaction, phase diagram, diethylaminoethyl-dextran hydrochloride, sodium dodecyl sulphate, sodium tetradecyl sulphate

DAŇKOVÁ, Kristýna. Hydrogely aminodextran-tenzid - fázový diagram. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/115873>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Miloslav Pekař.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité zdroje jsem správně a úplně citovala. 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.

.....
Kristýna Daňková

Děkuji vedoucímu této bakalářské práce prof. Ing. Miroslavu Pekařovi, CSc. za všechny odborné rady a informace, pozitivní přístup při vedení a věnovaný čas na konzultacích. Dále patří poděkování Ing. et Ing. Sabíně Jarábkové za ochotu, cenné rady a pomoc v laboratoři a v neposlední řadě taky děkuji své rodině za nekonečnou podporu a trpělivost.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Polyelektrolyty	8
2.2	Dextran	8
2.2.1	Historie	9
2.2.2	Vlastnosti	9
2.2.3	Toxicita	10
2.2.4	Využití dextranu	10
2.2.5	Deriváty dextranu a jejich využití	10
2.3	Tenzidy	11
2.3.1	Micely	11
2.3.2	Klasifikace tenzidů	12
2.3.2.1	Iontové tenzidy	13
2.3.2.2	Neiontové tenzidy	13
2.3.3	Dodecylsulfát sodný	13
2.3.4	Tetradecylsulfát sodný	14
2.4	Interakce polyelektrolytu a tenzidu	14
2.5	Gely	15
2.5.1	Rozdělení gelů	15
2.5.2	Gelace	16
2.5.3	Vlastnosti gelů	16
2.5.4	Hydrogely	17
2.5.4.1	Využití hydrogelů	17
2.6	Fázový diagram	17
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	19
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
4.1	Použité chemikálie	20
4.2	Příprava zásobních roztoků	20
4.2.1	Zásobní roztok chloridu sodného	20
4.2.2	Zásobní roztok DEAE-dextranu hydrochloridu	20
4.2.3	Zásobní roztoky dodecylsulfátu sodného (SDS)	21
4.2.4	Zásobní roztoky tetradecylsírany sodného (STS)	21
4.2.5	Zásobní roztoky barviva Sudan red	21
4.3	Pracovní postup přípravy hydrogelů	21
4.4	Způsob vyhodnocení výsledků	22
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	23
5.1	Hydrogelové systémy na bázi DEAE-dextran a SDS	23

5.2	Hydrogelové systémy na bázi DEAE-dextran a STS.....	26
6	ZÁVĚR.....	30
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	31
8	SEZNAM PŘÍLOH	34

1 ÚVOD

Hydrogely jsou v současné době velmi populárním tématem a jsou předmětem řady zkoumání a vývoje. Díky svým specifickým vlastnostem se dají hojně využívat především v oblasti medicíny a zemědělství. Jejich biodegradabilita, biokompatibilita a schopnost pojmout obrovské množství vody umožňuje jejich využití například při hojení ran, v tkáňovém inženýrství při tvorbě nosičových systémů pro cílený přenos léčiv a v řadě dalších léčebných procesech.

Tato práce se zabývá hydrogely vznikajícími elektrostatickými interakcemi mezi kladně nabitým polyelektrolytem a záporně nabitým tenzidem. Jako zástupce polymerů byl zvolen DEAE-dextran hydrochlorid a z řad tenzidů dodecylsulfát sodný a tetradecylsulfát sodný. Příprava hydrogelů proběhla mokrou cestou za použití 0,15 M roztoku chloridu sodného.

Cílem práce je příprava a následné sledování vytvořených systémů výše uvedených látek, vznikajících při jejich koncentracích v rozmezí 2-20 g/l u polymerů a 10-400 mM u tenzidů, navrhnutí vlastní vizuální metody pro vyhodnocení experimentů a z výsledků měření sestavení jejich schématického fázového diagramu, který by měl usnadnit výběr vhodných koncentrací těchto látek pro budoucí experimenty s hydrogely na bázi DEAE-dextranu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Polyelektrolyty

Polyelektrolyty jsou vysokomolekulární látky, obsahující ve své struktuře postranní funkční skupiny, které mohou být v polárních rozpouštědlech ionizovatelné. Ionizace způsobuje v roztoku vznik polyiontu, makromolekuly nesoucí mnoho nábojů, a k němu ekvivalentní počet opačně nabitých malých iontů. Podle míry disociace můžeme polyelektrolyty rozdělit na silné (disociující téměř úplně) a slabé (disociující pouze do určitého stupně). Podle povahy funkčních skupin rozdělujeme polyelektrolyty dále do tří kategorií:

- *Kyselé*, obsahující například skupiny $-\text{COO}^-$ a $-\text{SO}_3^-$
- *Bazické*, obsahující zásadité skupiny jako je $-\text{NH}_4^+$
- *Amfoterní*, které ve své struktuře nesou jak skupiny zásadité, tak i kyselé a patří mezi ně například bílkoviny [1], [2], [3].

Povaha polyiontu je u amfoterních polyelektrolytů závislá na hodnotě pH prostředí. Při vysokých hodnotách pH jsou disociovány pouze kyselé skupiny a výsledný náboj molekuly je záporný, naopak při nízkém pH disociují pouze skupiny zásadité a molekula nese náboj kladný. Při středních hodnotách pH disociují částečně obě skupiny a vznikají tak obojetné ionty (amfionty) vykazující kladný i záporný náboj. Hodnota pH, při které se kladné i záporné náboje vyrovnají a výsledný náboj celé molekuly je nulový se nazývá izoelektrický bod. V izoelektrickém bodě působí molekula navenek jako elektricky neutrální [3].

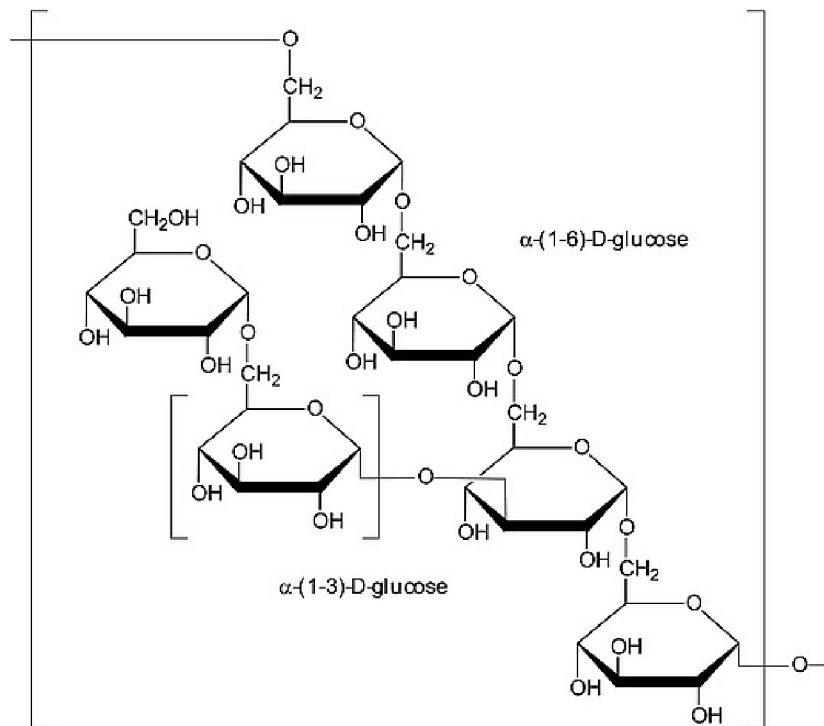
Kombinace chování polymeru a elektrolytu těmito látkám poskytuje řadu užitečných vlastností. Mezi tyto vlastnosti lze zařadit například interakce s malými ionty, jejichž produkty mohou být využity jako změkčovače vody, či interakce s opačně nabitými makromolekulami, jimiž vznikají mimojiné hydrogely [1], [2].

Polyelektrolyty mohou být jak biologického původu (nukleové kyseliny, proteiny), tak původu syntetického [1].

2.2 Dextran

Dextran je homopolysacharid, jehož základem je monomer D-glukopyranóza (D-glukóza). Tyto monomerní jednotky jsou spojeny $\alpha(1,6)$ -glykosidickou vazbou a tvoří hlavní lineární řetězec, který se může dále členit do větvené struktury. To, jak bude větvená struktura vypadat, se odvíjí zejména od způsobu vzniku polymeru a jednotlivé větve mohou být navázány v polohách $\alpha(1,2)$, $\alpha(1,3)$, a/nebo $\alpha(1,4)$. Jedna ze základních struktur dextransu je zobrazena na obrázku 1. [4].

Dextran může být produkován mikroorganismy, konkrétním příkladem jsou bakterie *L. mesenteroides* a *L. dextranicum*, nebo může být vyráběn synteticky pomocí enzymu α -1-6-glukan-D-fruktosa-2-glukosyltransferasy, který štěpí molekulu sacharózy a její glukózové jednotky váže do dextransové struktury [5], [6].



Obrázek 1 Struktura dextransu s větví v poloze α -(1,3) [7]

2.2.1 Historie

První zmínky o zkoumání dextransu jsou již známy ze začátku 19. století. K jeho objevu došlo v cukrovarském průmyslu, kde ve formě takzvaných viskózních slizů způsoboval ucpání filtrů a zasahoval do procesu krystalizace. Na základě tohoto objevu byl stanoven jeho obecný vzorec $(C_6H_{10}O_6)_n$ a byl odstartován jeho výzkum [5].

2.2.2 Vlastnosti

Průmyslově vyrobený dextran je bílá práškovitá látka dobře rozpustná ve vodě za vzniku bezbarvého stabilního roztoku. Rozpustný je dále také například ve formamidu, glycerolu nebo ethylenglykolu. Oproti tomu je dextran nerozpustný v jednosytných alkoholech, jako je methanol, ethanol, isopropanol a ve většině ketonů [8].

Molekulová hmotnost se odvíjí od způsobu vzniku a je odlišná u různých producentů. Obecně se pohybuje v rozmezí od 1 000 Daltonů do 2 000 000 Daltonů. Viskozita roztoků je závislá na koncentraci, teplotě a molekulové hmotnosti [8].

Při skladování v dobře uzavřené nádobě bez přístupu vzduchu a laboratorní teplotě, je dextran ve formě prášku stabilní. Za přístupu vzduchu však dochází k pomalé absorpci vlhkosti. Zvýšení stability dextranových roztoků lze docílit pomocí tepelné sterilizace v autoklávu. Za konstantní teploty jsou takto sterilizované roztoky stabilní po mnoho let. Optimální pH pro skladování je 6-7 [8].

2.2.3 Toxicita

Klinické využívání dextranu za posledních 50 let poskytuje dostatečný důkaz o jeho bezpečnosti. Většina výzkumných studií byla provedena na roztocích o molekulové hmotnosti od 40 000 Daltonů (Dextran 40) do 70 000 (Dextran 70) Daltonů a jeho toxicita nebyla u těchto roztoků prokázána [8].

Enzymy dextransy, přítomné v některých plísních (*Penicillium*, *Verticillium*) a bakteriích (*Lactobacillus*, *Cellvibrio*, *Cytophaga*), rozkládají dextran na cukry s menší molekulovou hmotností. Tyto cukry se snadno vstřebávají do přirozeného prostředí [8].

2.2.4 Využití dextranu

Tento polysacharid našel své uplatnění jak v zemědělství a potravinářství, tak zejména v oblasti medicíny a farmacie. Využití jej lze v tkáňovém inženýrství, a to díky možnosti enzymatické degradace dextransou, která se nachází v tkáni savců [9].

Velké množství volných hydroxylových skupin umožňuje dextran modifikovat tak, aby vytvořil řadu jedinečných sférických, trubicových a 3D síťových struktur. Dextran může být modifikován funkčními skupinami jako je například tyramin, ethylamin, vinylsulfony či thioly za vzniku hydrogelů. Do využití dextranových hydrogelů spadá podpora vaskularizace, hojení ran a popálenin a vývoj chrupavky [9].

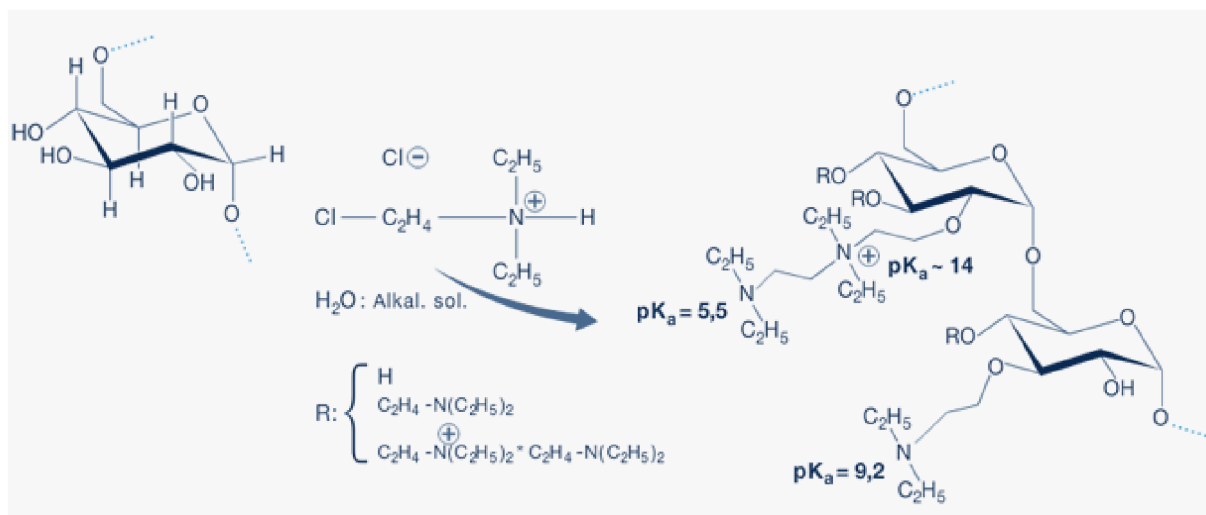
Hojně se dextran v medicíně využívá také jako náhrada krevní plazmy, jelikož je díky své struktuře a vysoké molekulové hmotnosti, podobně jako plazmatické bílkoviny, schopen vázat na sebe vodu a neprostupuje cévami. Mimo to snižuje riziko vzniku trombózy a pooperační plicní embolie [6].

2.2.5 Deriváty dextranu a jejich využití

Dextran železa je derivát sestávající se z centrálního jádra β -FeOOH obklopeného dextranovým pláštěm. Roztok tohoto komplexu obsahující 5% železa a 20% dextranu slouží k intramuskulární a intravenózní aplikaci chybějícího železa při léčbě anémie hospodářských zvířat [6].

Dextran sulfát sodný byl považován za potenciální náhražku heparinu v antikoagulační terapii. Nízkomolekulární produkty okolo $M_w=7000$ Daltonů vykazovaly aktivitu úměrnou samotnému heparinu. Uvádí se, že dextran sulfát navázaný na celulózu, je během plazmaferézy schopen odstranit až 59% LDL cholesterolu z krve. Předběžné klinické studie však odhalily závažné nežádoucí účinky této látky [6].

Diethylaminoethyl dextran hydrochlorid (DEAE-dextran) je polykation vznikající reakcí dextranu s diethylaminoethyl chloridem v alkalickém prostředí, výsledná molekula obsahuje tři aminoskupiny s rozdílnou hodnotou pK_a (obrázek 2). Tato látka snižuje hladinu cholesterolu a triglyceridů v krevním séru. Využívá se při vývoji nosičových systémů s prodlouženým uvolňováním proteinů, při transfekci nukleových kyselin do buněk a může být použit i při imobilizaci buněk v biosenzorech [6], [8], [10].



Obrázek 2 Příprava DEAE-dextranu [6]

2.3 Tenzidy

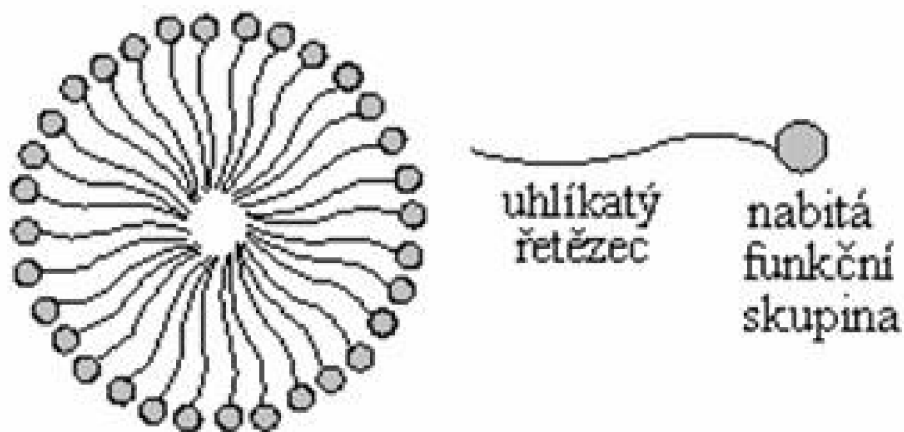
Tenzidy jsou organické povrchově aktivní látky, které jsou už při velmi nízkých koncentracích schopné se adsorbovat, tedy se hromadit na fázovém rozhraní a snižovat tak napětí a energii mezi jednotlivými fázemi soustavy. Směs tenzidů a dalších látek se nazývá detergent. Taková směs je schopna převádět částice nečistot z pevného povrchu do objemové fáze roztoku, tato vlastnost se nazývá detergence [11].

Tenzidy jsou charakteristické svým amfifilním charakterem. Jejich molekula obsahuje polární (hydrofilní) a nepolární (hydrofobní) část. Polární část molekuly je tvořena silně hydrofilní skupinou, kterou může být například $-\text{COOH}$. Nepolární část obvykle tvoří dlouhý uhlovodíkový řetězec, ten může být jak lineární, tak větvený či aromatický [11].

2.3.1 Micely

Po dosažení určité koncentrace tenzidu, která se označuje jako kritická micelární koncentrace (CMC), se začnou jeho molekuly samovolně shlukovat a tvořit agregáty zvané micely. Při koncentraci nižší než je CMC, se v roztoku nachází pouze samostatné molekuly. S rostoucí koncentrací se molekuly samovolně hromadí na mezifázovém rozhraní a snižují jeho povrchové napětí. Při dosažení CMC dochází k výrazným změnám ve fyzikálních a chemických vlastnostech tenzidu a v koncentracích nad touto hodnotou vznikají koloidní micely. Dalším navyšováním koncentrace může dojít ke spojení micel do rozměrné sítě s koagulační strukturou, tzv. gelu [12].

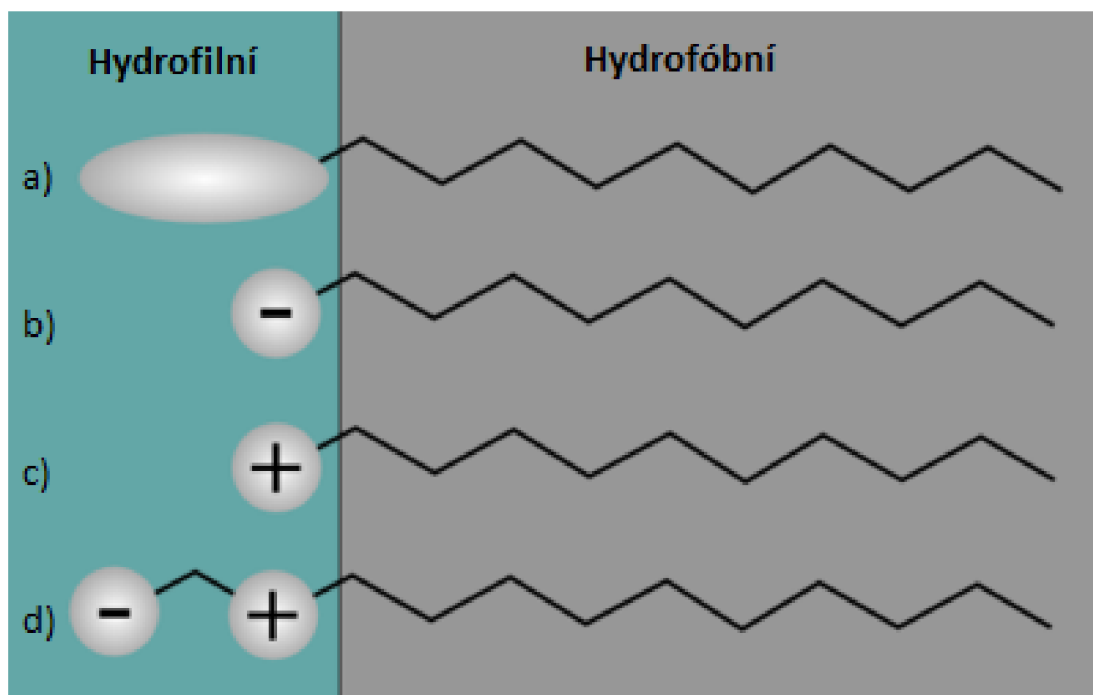
Jádro vzniklé micely má opačný charakter, než má použité rozpouštědlo. Ve vodném roztoku jsou hydrofilní části micely orientovány směrem ven do roztoku a hydrofobní části skryty uvnitř. Vnitřní část micely má tedy nepolární charakter a umožňuje tak tenzidu udržet ve vodném prostředí jinak nerozpustné látky. Tvar a velikost micel jsou ovlivněny jak charakterem molekuly samotného tenzidu, tak vlastnostmi přítomného roztoku (koncentrace, teplota, pH a iontová síla) [12].



Obrázek 3 Struktura a) micely a b) tenzidu [12]

2.3.2 Klasifikace tenzidů

Podle schopnosti disociace ve vodném prostředí lze povrchově aktivní látky rozdělit do dvou skupin na iontové a neiontové. Iontové se dále dělí na aniontové, kationtové a amfoterní [13].



Obrázek 4 Klasifikace tenzidů a) neiontové, b) aniontové, c) kationtové d) amfoterní [14]

2.3.2.1 Iontové tenzidy

Aniontové tenzidy disociují za vzniku povrchově aktivních aniontů. Do této kategorie spadají alkalické soli vyšších mastných kyselin, tedy mýdla. Za jejich rozpustnost ve vodě je zodpovědná skupina -COO^- . Oproti tomu uhlovodíkový řetězec představuje část molekuly, která je ve vodě nerozpustná. Dále zde lze například zařadit dodecylsulfát sodný (SDS), soli alkylsulfonových kyselin a taky samotnou kyselinu sulfonovou se silně kyselou skupinou $\text{-SO}_3\text{H}$ [13].

Kationtové tenzidy tvoří v roztoku disociací povrchově aktivní kationty. Téměř u všech těchto tenzidů je kationtem kvartérní dusíkatý atom. Mezi kladně nabitými tenzidy se tedy řadí kvartérní amoniové soli, a to chloridy nebo methosulfáty. Taktéž alkylamidy vykazují vlastnosti kationtového tenzidu, ale pouze v kyselém prostředí [11].

Aniontové a kationtové tenzidy nelze kombinovat dohromady. Společně v jednom roztoku se vzájemně sráží za vzniku nerozpustného aglomerátu [11].

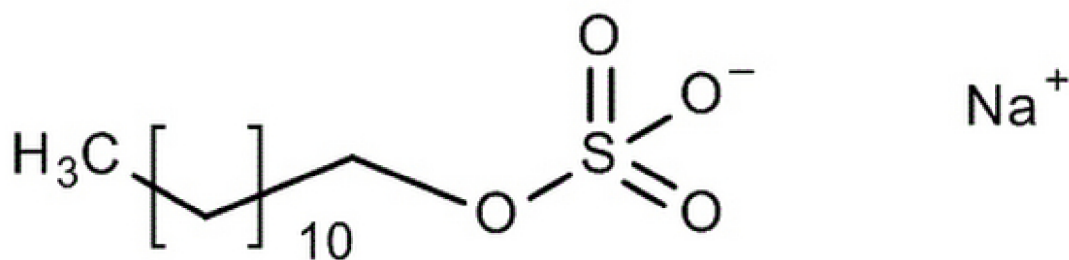
Amfoterní tenzidy mají ve své struktuře jak aniontovou, tak i kationtovou část, tedy obsahují kladnou i záporně nabitou funkční skupinu. Tato vlastnost jim umožňuje kombinaci s kationtovými a aniontovými tenzidy v jednom roztoku, aniž by došlo k vzájemnému vysrážení. Náboj micely závisí na pH a rozpustnost micelárních koloidů klesá a délkou uhlovodíkového řetězce. Zástupcem amfoterních tenzidů je například lecitin [3], [11], [13].

2.3.2.2 Neiontové tenzidy

Povrchově aktivní látky neschopné elektrolytické disociace patří do skupiny neionogenních tenzidů. Obvykle se skládají z dlouhého uhlovodíkového řetězce, který na konci obsahuje několik polárních avšak neiontových funkčních skupin zajišťujících rozpustnost těchto molekul. Nejčastěji jde o hydroxylové nebo esterové skupiny. Příkladem neiontového tenzidů jsou oxyethylenáty. Jejich výhodou je regulovatelnost jejich hydrofility počtem atomů v hydrofóbním řetězci a počtem oxyethylenových skupin. Dalším plusem je, že tyto látky netvoří soli a jsou tedy dobře rozpustné i v tvrdé vodě [13].

2.3.3 Dodecylsulfát sodný

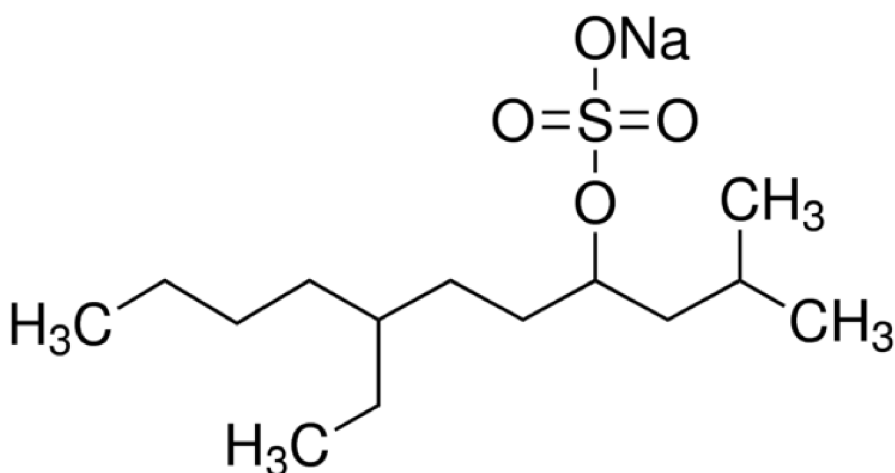
Dodecylsulfát sodný (SDS) je povrchově aktivní organická látka řadící se mezi aniontové tenzidy, které byly zmíněny výše. Ve vodném prostředí tato bílá práškovitá látka tvoří micely. Kritická micelární koncentrace SDS se při 25°C pohybuje mezi 7 až 10 mM. Je využíván v biochemii k buněčné lýze, solubilizaci proteinů nebo jako denaturační činidlo při jejich elektroforetické separaci. V chemii je obecně součástí většiny mycích prostředků a detergentů. Využití nachází taktéž například v molekulární biologii či kosmetice. Jeho obecný vzorec je $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_2\text{ONa}$ a strukturu tvoří dvanáctiuhlíkatý nepolární řetězec na jehož konci se nachází záporně nabitá síranová skupina, na kterou je navázán sodík, jak je možné vidět na obrázku 4 [15], [16].



Obrázek 5 Struktura dodecylsulfátu sodného [15]

2.3.4 Tetradecylsulfát sodný

Tetradecylsulfát sodný (STS) se stejně jako SDS řadí mezi aniontové organické povrchově aktivní látky. Je biokompatibilní a používá se jako sklerotizující činidlo při léčbě hemeroidů a křečových žil. Po injekci do křečové žíly interaguje s lipidy na žilních stěnách a vede k obnově její standardní funkce. Obecný vzorec této látky je $C_{12}H_{25}NaO_4S$ a vyskytuje se buď v lineární nebo větvené formě, která je známá pod názvem Niaproof [17].



Obrázek 6 Struktura větveného tetradecylsulfátu sodného [18]

2.4 Interakce polyelektrolytu a tenzidu

Nabité amfifilní molekuly, mezi které patří lipidy nebo povrchově aktivní látky, tvoří s opačně nabitými polyelektrolyty stabilní komplexy. Tyto komplexy mají širokou variabilitu struktur a vlastností a díky tomu našli své uplatnění zejména ve farmaceutickém průmyslu a biomedicínských aplikacích [19].

Interakce mezi polyelektrolyty a opačně nabitými koloidními částicemi jsou velmi důležitým fenoménem v mnoha biologických úlohách jako je imobilizace enzymů v polyelektrolytových komplexech či nespécifické asociaci DNA s jednoduchými proteiny. Experimenty posledních dvou století se zabývaly jak interakcemi mezi elektrolyty a opačně nabitými tenzidy, tak asociacemi neutrálních polymerů s iontovými micelami tenzidů. V prvním případě interakcím dominují elektrostatické síly, síly hydrofobní mají pouze vedlejší roli. Navázáním

iontového tenzidu na opačně nabitý polyelektrolyt vzniká neutrální částice a náboj zaniká. Tento proces je mnohem výhodnější než navázání na neutrální polymer [20].

Povaha interakcí závisí na mnoha vlastnostech polyelektrolytu. Rozhodujícími faktory jsou chemické složení, hustota a umístění nábojů a flexibilita polymerního řetězce. K agregaci nabitých tenzidů dochází již při nízkých koncentracích polyelektrolytů [20].

2.5 Gely

Pod pojmem gely jsou obecně označovány systémy tvořené trojrozměrnou makromolekulární sítí s elastickými vlastnostmi, která vytváří souvislou strukturu, prostupující celým disperzním prostředím. I když je disperzní prostředí kapalné a může tvořit až 99,9 hm.% gelu, mají gely v důsledku svého uspořádání mechanické vlastnosti charakteristické pro tuhý stav. Gel obsahující ve svém objemu disperzní prostředí je označován jako lyogel. Vysušením tohoto gelu vznikají systémy zvané xerogely [3], [13].

Schopnost vytvářet gelové soustavy mají některé koloidní roztoky pevných látek v kapalinách. Proces vzniku gelu je označován jako gelace. Strukturu gelu drží pohromadě uzly, které mohou mezi molekulami polymeru vznikat dvojím způsobem. Vzniknou-li spoje chemickou reakcí, pak jsou gely označovány jako kovalentně síťované gely. Druhou možností je propojení mezimolekulárním působením fyzikálních sil. Touto formou vznikají fyzikálně síťované gely [3], [13].

Převod lyogelu zpět na roztok polymeru je možný pouze u fyzikálních gelů, nikoli však u gelů kovalentních. Fyzikálně síťované gely vznikají z roztoku změnou podmínek, toutéž změnou podmínek avšak v opačném směru dochází k jejich ztekucení. Pokud tedy gel vzniká například ochlazením roztoku, jeho zahříváním přejde zpět na původní roztok. Takový gel je označován jako termoreverzibilní gel [3].

2.5.1 Rozdělení gelů

Gely je možné rozdělit podle řady vlastností. Kromě rozdělení na chemicky a fyzikálně síťované podle způsobu gelace, je jedním z dalších možných dělení rozdělení podle chování gelu ve vysušeném stavu na reverzibilní a ireverzibilní [13].

- *Gely reverzibilní* zmenšují svůj objem při vysoušení a vytváří kompaktní xerogely, které jsou po přidání disperzního prostředí opět schopné vrátit se do původního stavu takzvaným bobtnáním. Tyto vlastnosti vykazují makromolekulární gely [13].
- *Gely ireverzibilní* vysoušením téměř nemění svůj objem, tvoří porézní strukturu, která při styku s disperzním prostředím sorbuje část kapaliny, ale není schopna opětovně vytvořit původní lyogel. Jde tedy o nevratnou přeměnu. K této skupině patří gely lyofobních solů [13].

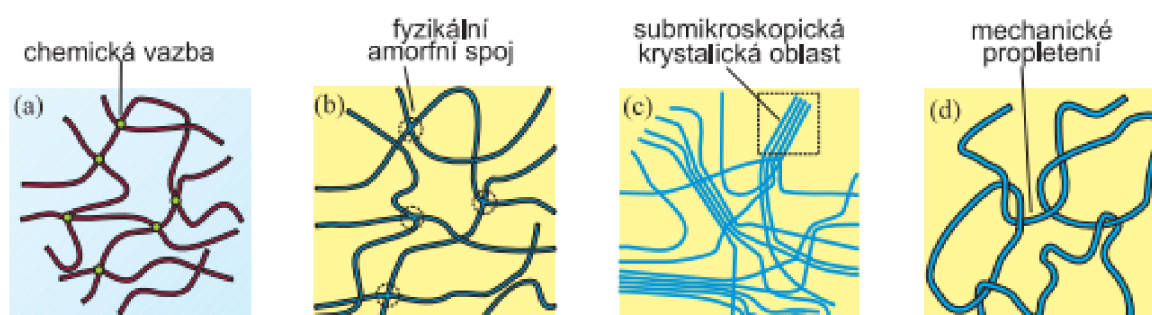
Dále je možné gely dělit podle chemického složení disperzního podílu na anorganické a organické, podle charakteru disperzního prostředí na hydrogely v případě vodného prostředí a organogely, jejichž disperzním prostředím je organická kapalina [13].

2.5.2 Gelace

Prostorovou strukturu reverzibilního gelu tvoří síť makromolekulárních řetězců propojených v uzlových bodech. Touto cestou vznikají chemicky i fyzikálně síťované gely. Reverzibilní gely dostaneme buď gelací z roztoků vysokomolekulárních látek nebo bobtnáním xerogelů. Bobtnání je samovolný děj, při kterém xerogel pohlcuje rozpouštědlo za vzniku lyogelu, v němž pohlcovaná kapalina tvoří disperzní prostředí. Dochází k zvětšení objemu i hmotnosti gelu [19].

Chemické gely vznikají polymerací monomerů nebo zesíťováním lineárních polymerů za pomoci vhodného síťovacího činidla. Struktura chemických gelů je velmi pevná. Xerogely bobtnají pouze omezeně a zpět na roztok není možné je převést, jelikož by muselo dojít k narušení a odbourání chemických vazeb vzniklých gelací, což však nejde, aniž by došlo i k narušení jiných chemických vazeb v molekulách [21].

Fyzikálně síťované gely vznikají spojováním řetězců polymerních úseků působením fyzikálních sil, jako jsou van der Waalsovy síly, dipolární interakce či vodíkové vazby. Spouštěčem je v tomto případě snížení afinity makromolekulárních řetězců k rozpouštědлу, což vyvolána například snížením teploty nebo zvýšením koncentrace. Pokud dochází k nepravidelné asociaci makromolekul, vznikají amfoterní gely. Rovnoběžným ukládáním lineárních řetězců makromolekul dochází k vytvoření krystalické mřížky a vzniku takzvaným krystalitům. Speciálním případem tvorby gelu je geometrické síťování, kde dochází k mechanickému proplétání řetězců v důsledku tepelného pohybu [21].



Obrázek 7 Gelace (a) chemickými vazbami, (b) fyzikálními amfoterními spoji, (c) fyzikálními spoji s krystalickými oblastmi, (d) geometrickým síťováním [21]

2.5.3 Vlastnosti gelů

Gel je schopen odolávat tečnému napětí do určité hodnoty, pod kterou se chová jako elastické tuhé těleso. Tato hodnota závisí na koncentraci uzlů a jejich pevnosti. Čím více vazeb je ve struktuře mezi řetězci vytvořeno tím méně poddajná a tvarovatelná je prostorová síť gelu. Gely se slabými fyzikálními uzly po protřepání přechází zpět na sol. V klidovém stavu dochází opět k vytvoření vazeb a struktury gelu. Tento jev se nazývá tixotropie. Elektrická vodivost gelů, jejichž disperzní prostředí obsahuje disociované nízkomolekulární elektrolyty, zůstává téměř totožně vysoká jako v původním solu. Taktéž difuzivita nízkomolekulárních látek je jen o něco málo menší než v původním solu, ačkoli při gelaci prudce stoupá viskozita soustavy.

U čerstvých gelů dochází k řadě samovolných jevů, jelikož jsou tyto systémy v termodynamické nerovnováze. Roste počet styčných bodů a síťová struktura se smršťuje. Projevuje se jev synergeze, což je vytlačování přebytečné kapaliny z objemu gelu [13].

2.5.4 Hydrogely

Pro hydrofilní gely zvané hydrogely je charakteristická schopnost absorpce velkého množství vody, aniž by docházelo k jejich rozpuštění. Množství vody mnohonásobně převyšuje hmotnostní část polymeru. Tuto vlastnost jim poskytují hydrofilní funkční skupiny (např. -OH, -COOH, -SO₃H), které jsou navázány na polymerním řetězci a jsou také jako první hydratovány. Odolnost vůči rozpustnosti zajišťují vazby mezi jednotlivými řetězci. Voda obsažena v hydrogelu poskytuje volnou difúzi rozpuštěných látek, zatímco struktura polymeru má za úkol držet vodu pohromadě. Zajímavostí je, že hydrogel tvoří jedna velká makroskopická molekula, což zajišťuje vzájemné propojení polymerních řetězců tvořících síť. Hydrogely mohou být citlivé a reagovat na změny teploty, pH a přítomnost elektrolytu [22], [23].

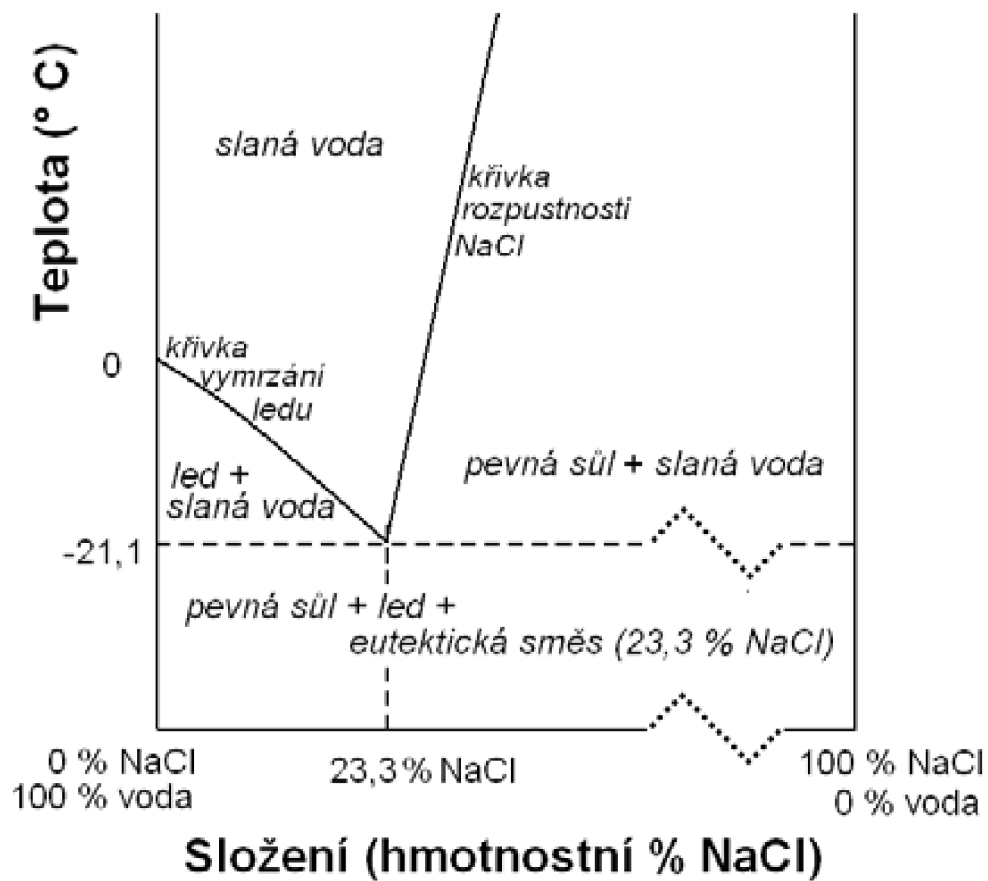
Jednou z nejdůležitějších vlastností hydrogelů je jejich biokompatibilita. Vytvořený hydrogel a jeho produkty degradace by měli být netoxické a kompatibilní s imunitním systémem. Obecně jsou hydrogely velmi biokompatibilní díky tomu, že má jejich hydrofilní povrch při kontaktu s tělními tekutinami nízkou mezifázovou volnou energii a okolní buňky a bílkoviny tak nemají tendenci se k jeho povrchu vázat. Jemná a gumovitá povaha gelů navíc minimalizuje podráždění okolní tkáně [22], [23].

2.5.4.1 Využití hydrogelů

V dnešní době mají hydrogely velký potenciál a využití hlavně v oblasti medicíny. Jedna z prvních biomedicínských aplikací hydrogelů byla díky jejich mechanické odolnosti a vhodnému indexu lomu na výrobu kontaktních čoček. Hydrogely jsou taktéž vhodné pro výrobu biomateriálů, které přicházejí do styku s krví. Další možnou aplikací je jejich využití jako nosičové systémy pro cílený přenos léčiv a pro tkáňové inženýrství [23].

2.6 Fázový diagram

Fázový diagram je základní charakteristikou vícesložkových směsí a slouží k popisu jejich chování za určitých podmínek (teplota, tlak, složení směsi). Příkladem takového typického fázového diagramu je graf na obrázku 8, který zobrazuje fáze a jejich rozhraní pro směs NaCl-voda při různých teplotách v závislosti na jejím složení. Směsi polyelektrolytů a opačně nabitých povrchově aktivních látek tvoří ve vodných roztocích samovolně komplexy, které lze taktéž modifikovaným fázovým diagramem charakterizovat a vymezit tak například hranice jednotlivých fází systému [24], [25].

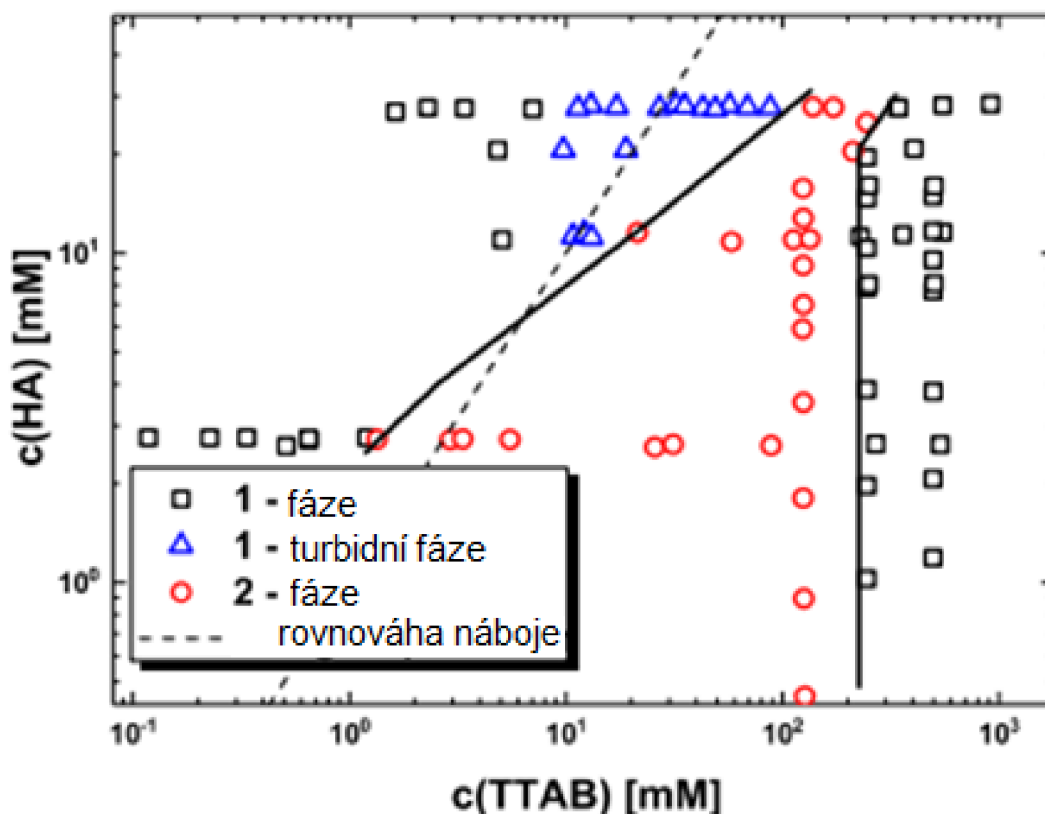


Obrázek 8 Fázový diagram soustavy NaCl-voda [24]

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Jak již bylo v úvodu této práce zmíněno, využití hydrogelů má velký potenciál v mnoha oblastech a největší důraz je kladen zejména na jejich aplikaci v medicíně, od hojení ran až po přípravu nosičových systému pro cílený přenos léčiv. Proto se přípravou, zkoumáním a vývojem různých druhů hydrogelů z různých látek v dnešní době zabývá spousta výzkumných pracovníků.

Inspirací pro téma této bakalářské práce byl článek zabývající se interakcemi záporně nabitého hyaluronanu s opačně nabitým tenzidem tetradecyltrimethylammonium bromidem (TTAB). Autoři v publikaci uvedli modifikovaný fázový diagram pro směs výše uvedených látek, aby mohli lépe charakterizovat její chování v závislosti na koncentracích jednotlivých složek. Zmíněný fázový diagram (obrázek 9) vymezuje jednotlivé fáze směsi, černým znakem je označen homogenní roztok, modrým je označen zakalený roztok a červeným systém, který se po 48 hodinách rozdělil do dvou jasně rozlišitelných fází, a to do zakaleného hustého gelu a tekuté fáze s viskozitou čistého rozpouštědla [25].



Obrázek 9 Fázový diagram systému HA/TTAB v 160 mM NaBr v D₂O při 25°C [25]

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

<i>DEAE-dextran hydrochlorid</i>	CAS: 9064-91-9, Sigma Aldrich s.r.o., č. šarže: SLBG2923V
<i>Dodedylsulfát sodný (SDS)</i>	CAS: 151-21-3, Sigma Aldrich s.r.o., č. šarže: SLBX4474
<i>Tetradecylsulfát sodný (STS Niaproof)</i>	CAS:139-88-8, Sigma Aldrich s.r.o., č. šarže: MKBT1006V
<i>Chlorid sodný</i>	CAS: 7647-14-5, Penta s.r.o., č. šarže: 2106210616
<i>Voda</i>	deionizovaná voda; Purelab: ELGA
<i>Ethanol</i>	CAS: 64-17-5, Penta s.r.o., č. šarže: 1904150416
<i>Aceton</i>	CAS: 200-662-2, Lach-Ner, s.r.o., č. šarže: 304350304
<i>Sudan Red G</i>	CAS: 1229-55-6, Sigma Aldrich s.r.o., č. šarže: BCBN5381V

4.2 Příprava zásobních roztoků

4.2.1 Zásobní roztok chloridu sodného

Jako rozpouštědlo pro DEAE-dextran i tenzidy byl v této bakalářské práci použit 0,15 molární roztok chloridu sodného. Tento roztok byl připraven rozpuštěním 8,766 g v 1000 ml ultra čisté deionizované vody.

4.2.2 Zásobní roztok DEAE-dextranu hydrochloridu

Pro tento experiment byla vytvořena koncentrační řada DEAE-dextranu o čtyřech koncentracích. Příslušné množství DEAE-dextranu podle Tabulka 1 bylo rozpuštěno v příslušném množství 0,15 M NaCl a umístěno na 24 hodin na třepačku. Poté byly roztoky umístěny do lednice, jelikož je nelze skladovat při laboratorní teplotě.

Tabulka 1: Koncentrace DEAE-dextranu

Číslo roztoku	c (g/100 ml)	c (g/l)
1	0,2	2
2	0,5	5
3	1,0	10
4	2,0	20

4.2.3 Zásobní roztoky dodecylsulfátu sodného (SDS)

Pro koncentrační řadu tenzidu SDS bylo zvoleno celkem 12 koncentrací, viz tabulka 2. Byl vytvořen 400 mM zásobní roztok rozpuštěním navážky 57,676 g SDS v 500 ml 0,15 M roztoku NaCl. Roztok byl pro dosažení úplného rozpuštění umístěn na 24 h na magnetickou míchačku.

Z tohoto zásobního roztoku byly dále vytvořeny ostatní roztoky koncentrační řady odměřením příslušného objemu 400 mM roztoku SDS podle tabulky 2 a doplněním 0,15 M roztokem NaCl na požadovaný objem, čili 50 ml. Zásobní roztoky byly na 24 hodin umístěny na třepačku a skladovány při laboratorní teplotě.

4.2.4 Zásobní roztoky tetradecylsulfát sodného (STS)

Koncentrační řada pro tetradecylsulfát sodný byla zvolena stejná jako u předchozího tenzidu. Výchozím roztokem byl 0,8507 M Niaproof, jehož naředěním 20 ml 0,15 M roztokem NaCl podle tabulky 2 byly vytvořeny všechny zásobní roztoky koncentrační řady. Roztoky byly umístěny na 24 hodin na třepačku a byly skladovány za laboratorní teploty.

Tabulka 2 Koncentrace a objemy pro zásobní roztoky SDS a STS

c (mM)	SDS		STS	
	V (400 mM SDS) (ml)	V (0,15 M NaCl) (ml)	V (0,8507 M Niaproof) (ml)	V (0,15 M NaCl) (ml)
10	1,250	48,750	0,24	19,76
15	1,875	48,125	0,35	19,65
25	3,125	46,875	0,59	19,41
50	6,250	43,750	1,18	18,82
75	9,375	40,625	1,76	18,24
100	12,500	37,500	2,35	17,65
150	18,750	31,250	3,53	16,47
200	25,000	25,000	4,70	15,30
250	31,250	18,750	5,88	14,12
300	37,500	12,500	7,05	12,95
350	43,750	6,250	8,23	11,77
400	50,000	0,000	9,40	10,60

4.2.5 Zásobní roztoky barviva Sudan Red G

Sudan red je červené lipofilní barvivo nerozpustné ve vodě. Pro tento experiment byly zvoleny rozpouštědla ethanol a aceton. Bylo naváženo příslušné množství barviva v sypké podobě, převedeno do 100 ml ethanolu. Výsledná koncentrace roztoku byla 0,2 mM. Stejným způsobem byl připraven 1 mM roztok Sudanu Red v acetonu.

4.3 Pracovní postup přípravy hydrogelů

V prvním kroku byly zváženy a označeny potřebné vialky. Poté do nich bylo napipetováno 200 μ l 0,2 mM roztoku Sudanu Red G v ethanolu a byly umístěny do digestoře k odpaření rozpouštědla. Po úplném odpaření ethanolu byly do vialky přidány a zváženy 3 ml příslušného roztoku DEAE-dextranu. Poté byly přidány a zváženy 3 ml příslušného roztoku SDS. Vialka byla uzavřena víčkem a roztok důkladně promíchán na vortexu. Všechny vialky byly umístěny na 24 hodin na třepačku.

U pokusu s STS došlo ke změně postupu barvení. Byly napipetovány 3 ml 1 mM roztoku Sudanu Red G v acetonu do lékovek připravených pro zásobní roztoky tenzidu, které byly následně vloženy do digestoře k odpaření. Poté byly do lékovek připraveny zásobní roztoky, viz odstavec *Zásobní roztoky tetradecylsíranu sodného STS* a v přípravě gelů se postupovalo stejným způsobem jako v případě SDS hydrogelů.

4.4 Způsob vyhodnocení výsledků

Vyhodnocení vzniklých systémů proběhlo vizuálně a následovala mechanická zkouška vlastností špachtlí. Nejprve byla určena přítomnost vytvořeného systému. Mohl vzniknout zákal, sraženina gelová fáze či pouze holý roztok. Dále se hodnotily vlastnosti vzniklých hydrogelů a to konkrétně jejich kompaktnost, homogenita, jemnost, lepivost a tažnost. Taktéž charakter a zbarvení supernatantu hraje ve vyhodnocení svou roli. Přítomnost barviva slouží k zviditelnění micel, které se tvoří agregací přebytečného tenzidu v roztoku.

Výsledky byly fotograficky zaznamenány a sepsány do tabulky. Vzorky byly na 7 dní uloženy při laboratorní teplotě. Po týdnu došlo opět k vizuálnímu vyhodnocení změn ve vzorcích, zaznamenání do tabulky a k porovnání výsledků. U vzorků s gelovými systémy byl odlit supernatant, samotný gel byl zvážen a ve vialce umístěn na 5 dní do sušárny při teplotě 50 °C. Vysušený gel byl opět zvážen a z obou hmotností byl vypočítán obsah vody v hydrogelu. Rovněž proběhla zkouška na rehydrataci gelu přidáním čisté vody k sušině gelu. Z vizuálních výsledků byl sestaven fázový diagram vzniklých směsí, graf vyjadřující množství vytvořeného gelu ve vysušené formě a diagram zobrazující přítomnost micel.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V experimentální části této bakalářské práce šlo o přípravu a pozorování hydrogelových systémů vznikajících zesíťováním kladného polymeru DEAE-dextranu s jednotlivými záporně nabitými tensidy (SDS, STS) při různých koncentracích těchto látek a na základě výsledků byl pak sestaven schématický fázový diagram popisující koncentrační rozhraní pro vzniklé systémy, což následně slouží pro snadnější odvození koncentrací, ve kterých vzniká homogenní kompaktní hydrogel. V této části práce jsou zaznamenány, vyhodnoceny a porovnány výsledky jednotlivých experimentů pro oba tensidy.

Příprava hydrogelů probíhala podle postupu, který je popsán v předchozí kapitole Experimentální část. Oba typy dextranových hydrogelů byly připraveny dvakrát, aby mohla být vyhodnocena jejich reprodukovatelnost.

5.1 Hydrogelové systémy na bázi DEAE-dextran a SDS

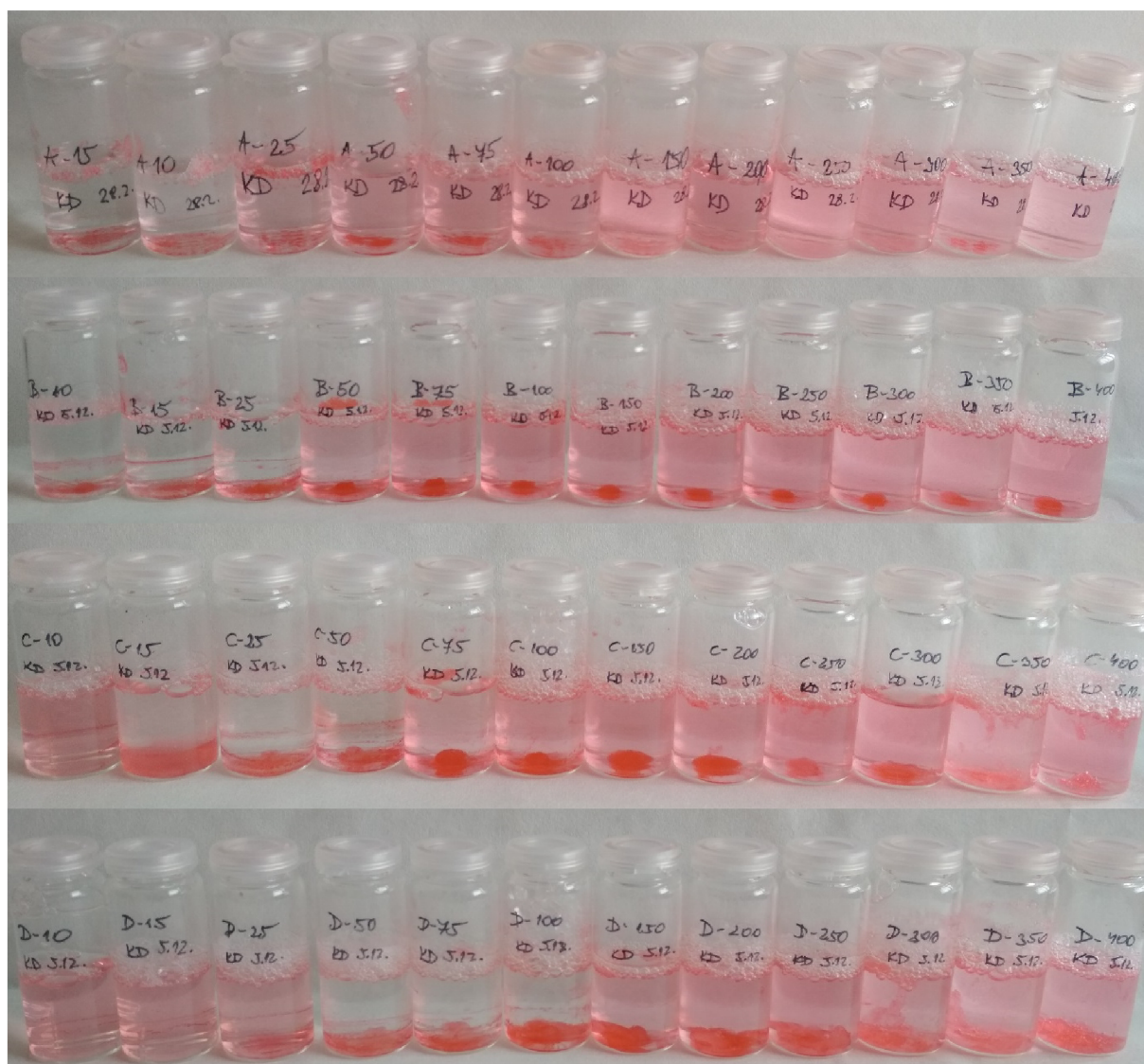
Vzorky byly připraveny ze zásobních roztoků daných koncentrací DEAE-dextranu a SDS, viz kapitola 4. Po 24 hodinách umístěných na třepačce bylo uskutečněno první vizuální vyhodnocení a porovnání. Vialky byly rozděleny do čtyř řad podle koncentrací DEAE-dextranu a seřazeny podle vzrůstající hodnoty koncentrace přítomného tensidu SDS, viz obrázek 9. Pro každý vzorek bylo do tabulky zaznamenáno několik parametrů. Byla hodnocena barevnost a průhlednost supernatantu, přítomnost hydrogelu, sraženiny či jiného vzniklého systému a charakter jeho zbarvení.

V nejnižší koncentraci 2 g/l DEAE-dextranu nedošlo k vyloučení žádné viditelné fáze při prvním měření, ve druhé měření se vytvořil u koncentrací od 25 mM do 350 mM pouze gelový povlak na dně vialky. Tato koncentrace je tedy pro přípravu hydrogelů příliš nízká a není vhodná. U ostatních koncentrací se množství gelovité fáze zvyšovalo s rostoucí koncentrací DEAE-dextranu, což dokazuje i graf na obrázku 11 a nejvhodnější koncentrační rozpětí SDS je pro přípravu hydrogelů 50–250 mM. U koncentrací pod 50 mM a nad 250 mM většinou nedojde k vyloučení hydrogelové fáze. Po vizuálním vyhodnocení výsledků, byly vzorky ponechány na 7 dní při laboratorní teplotě a poté byly zaznamenány jejich změny. Tímto způsobem byla prověřena stabilita připravených hydrogelů. U většiny vzorků nedošlo k žádným změnám a mohou tedy být označeny jako stabilní v tomto časovém úseku. Oproti tomu u koncentrací 300 a 350 mM SDS vzorků při dvou nejvyšších koncentracích DEAE dextranu došlo k vytvoření bílé sraženiny a gel v těchto vzorcích tedy nemůže být považován za stabilní.

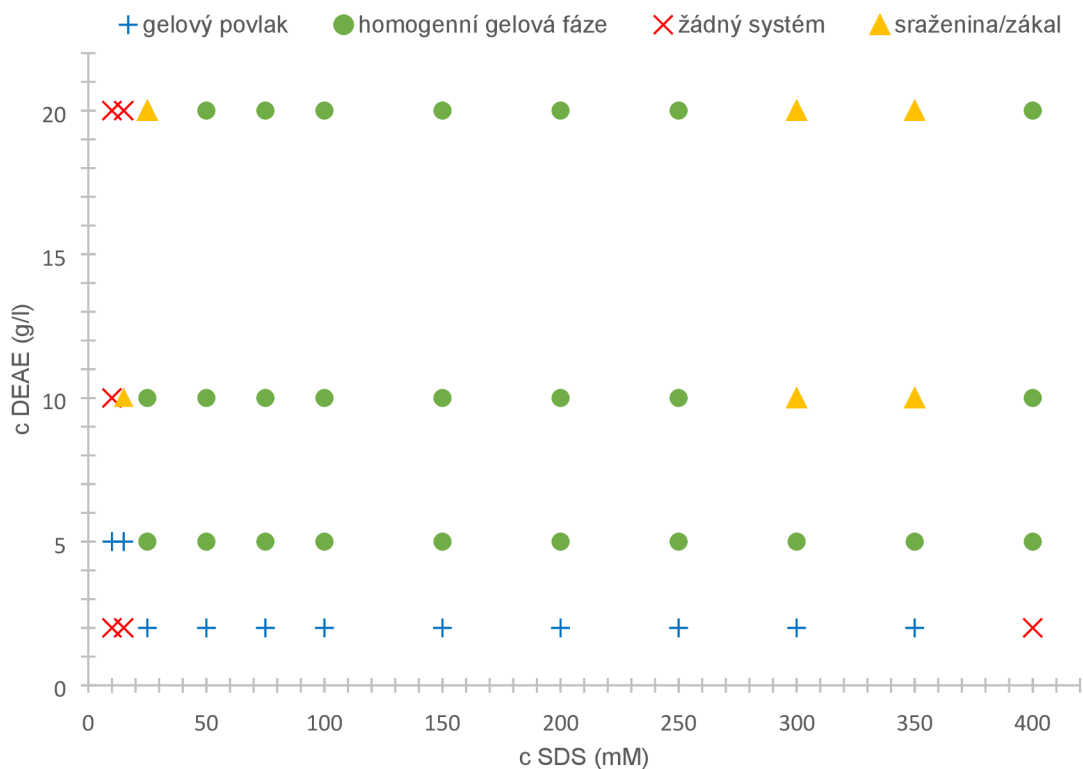
Na základě výsledků z obou měření byl vytvořen fázový diagram (obrázek 10), do kterého byly zaznamenány vzniklé fáze systému SDS-DEAE-dextran. Červeným křížkem jsou označeny vzorky, ve kterých nedošlo k vytvoření žádného systému, modrým křížkem vzorky s tenkým gelovým povlakem na stěnách vialky. Žlutý trojúhelník označuje přítomnost sraženiny, případně zákalu a zeleným kolečkem je zaznamenána stabilní hydrogelová fáze.

Druhý diagram byl vytvořen na základě zbarvení supernatantu, viz obrázek 12. Jelikož je Sudan Red lipofilní barvivo, není rozpustné ve vodě. U vzorků s barevným supernatantem, je barvivo rozpuštěno v hydrofobních částech micel tenzidů, které vznikly agregací přebytečného SDS ve vzorku. Tím je prokázáno, že bylo do roztoku přidáno nadbytečné množství SDS oproti DEAE-dextranu, potřebné k vytvoření hydrogelu.

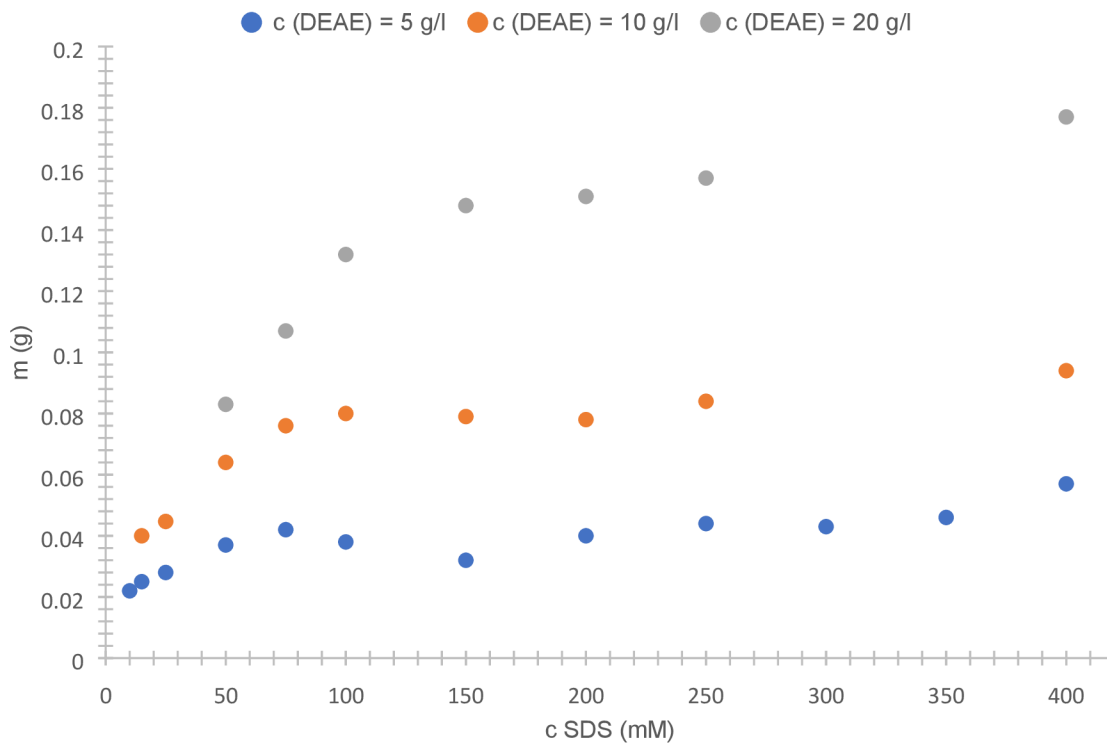
U vzorků s hydrogely byl odlit supernatant, samotné gely byly zváženy a umístěny na 5 dní do sušárny při 50°C. Výsledná sušina byla zvážena a byl vyhodnocen obsah vody v připravených hydrogelech, který se pohyboval v rozmezí 63-96 %. Po zalití sušiny vodou došlo k opětovnému nabobtnání gelu do původního stavu. SDS hydrogely jsou tedy schopny rehydratace.



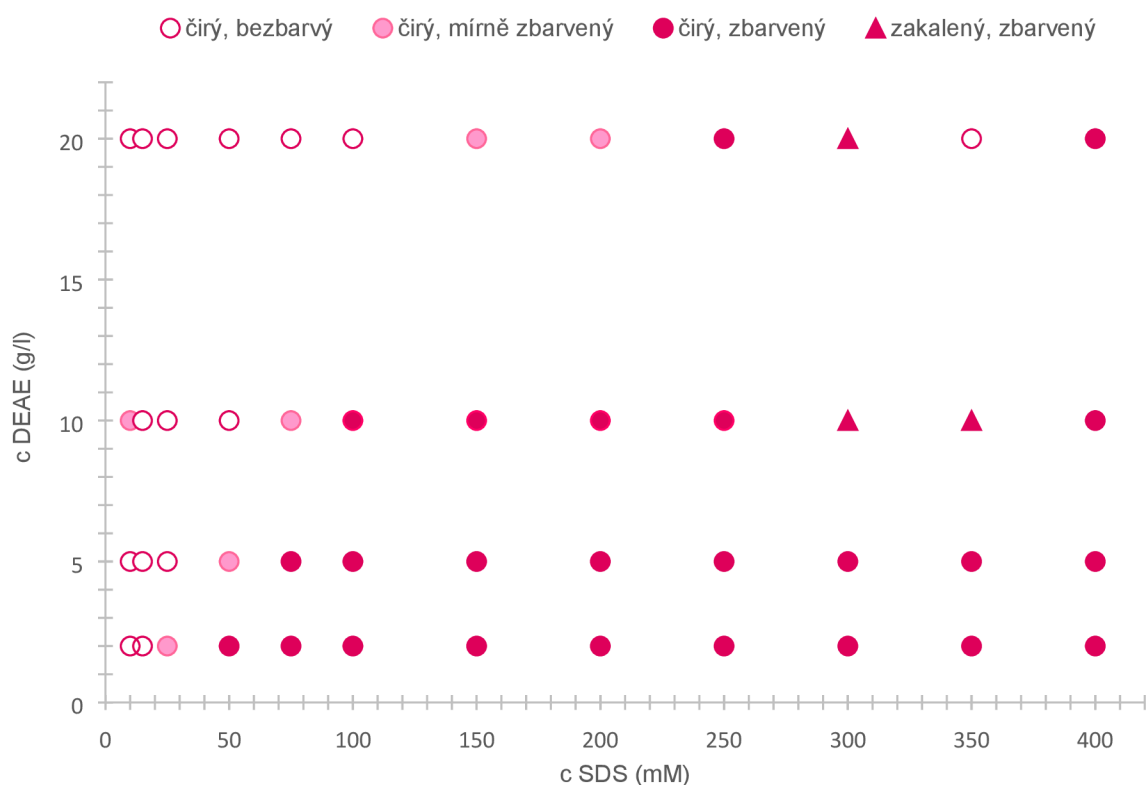
Obrázek 10 Vzorky vzrůstajících koncentračních řad tenzidu SDS pro roztoky DEAE-dextranu (A: 2 g/l, B: 5 g/l, C: 10 g/l, D: 20 g/l)



Obrázek 11 Fázový diagram směsi DEAE-dextran-SDS



Obrázek 12 Množství sušiny připravených SDS hydrogelů pro jednotlivé koncentrace DEAE-dextranu



Obrázek 13 Fázový diagram směsi DEAE-dextran-SDS zobrazující přítomnost micel v supernatantu

5.2 Hydrogelové systémy na bázi DEAE-dextran a STS

Vzorky STS hydrogelů byly připraveny ze zásobních roztoků STS a DEAE-dextranu taktéž podle postupu uvedeného v kapitole 4 a způsob jejich vyhodnocení byl totožný jako v případě SDS gelů. Opět byly vzorky rozděleny do čtyř řad podle koncentrace DEAE-dextranu a seřazeny podle vzrůstající koncentrace tenzidu STS a byly vizuálně vyhodnoceny výsledky. Totéž bylo provedeno po 7 dnech. Na základě výsledků z obou pozorování byl sestaven fázový diagram směsi STS-DEAE-dextran, který je zobrazen na obrázku 15. Stejně jako u SDS vzorků je červeným křížem označen vzorek bez přítomnosti jakéhokoliv vzniklého systému, modrým křížkem gelový povlak na dně vialky a žlutý trojúhelník značí přítomnost sraženiny. U STS gelů se navíc při nejmenších koncentracích objevil ve vzorcích v celém objemu růžový zákal, který je v diagramu označen oranžovým kosočtvercem. Nepravidelné gelové kousky označuje fialové kolečko a kompaktní gel zelené kolečko.

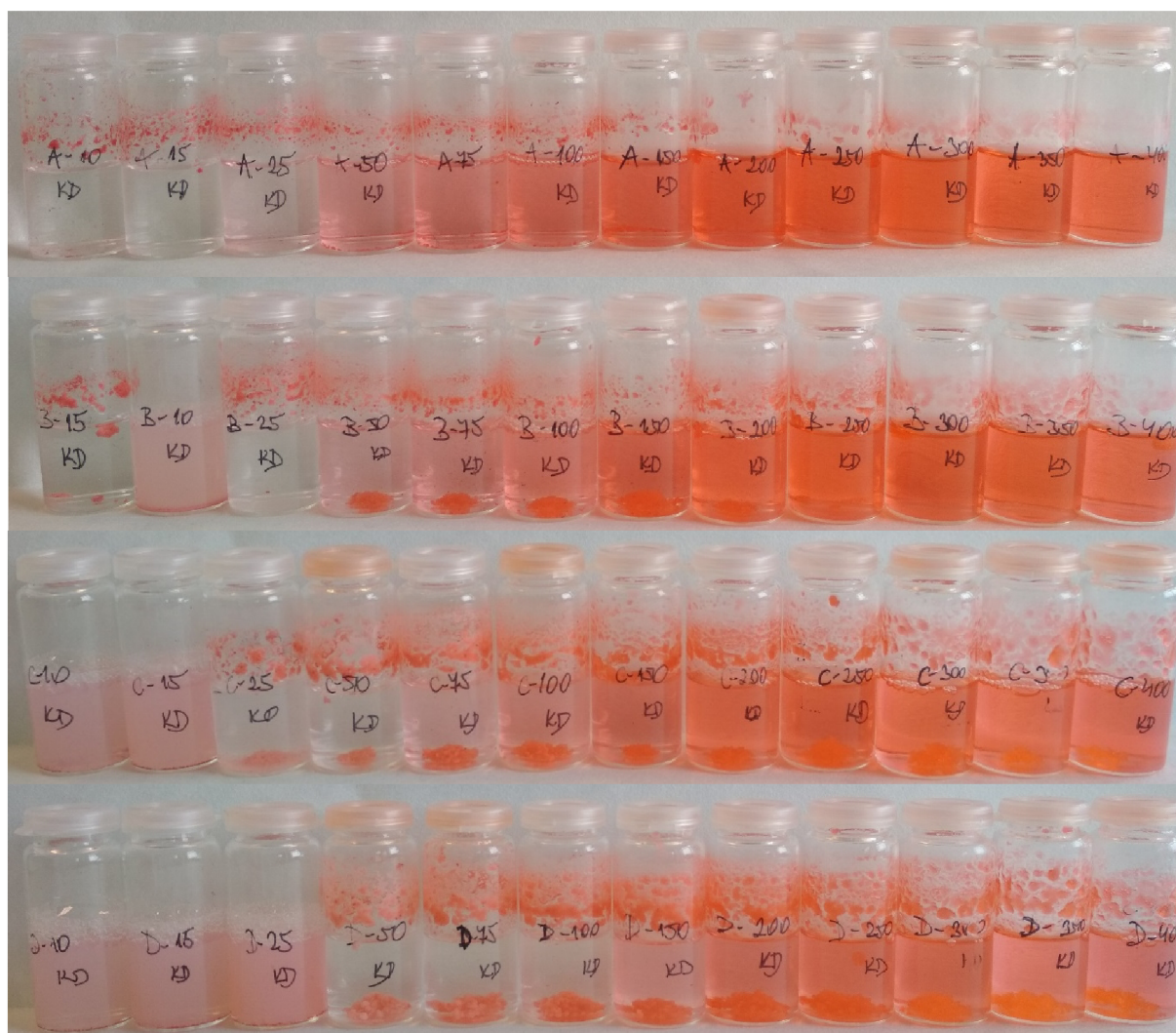
Příprava a následné měření vzorků bylo provedeno dvakrát, aby byla ověřena reprodukovatelnost vzniklých výsledků. Obě měření se od sebe téměř nelišila. Rozdílem bylo pouze množství vytvořených systémů.

V nejnižší koncentraci DEAE-dextranu nedošlo k vyloučení žádné hydrogelové fáze, u některých vzorků bylo přítomno pouze malé množství sraženiny nebo gelového povlaku na dně vialky. U ostatních řad došlo k vytvoření nepravidelných kousků gelového charakteru, které při vyšších koncentracích STS přecházeli do homogenního, více lepivého a kompaktnějšího gelové fáze. Taktéž došlo k zvýšení barevnosti, čirosti a jemnosti gelů. S rostoucí koncentrací DEAE-dextranu narůstala velikost nepravidelných kousků a celkové množství vytvořeného

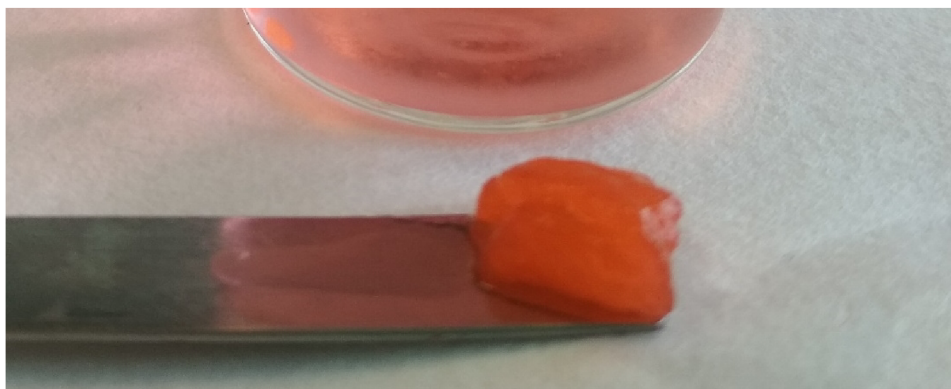
systému, což dokazuje i graf s obsahem sušiny na obrázku 16. Za pomoci špachtle bylo možné gelovité kousky spojit do jediné kompaktní hmoty, viz obrázek 14.

Stejně jako u hydrogelů na bázi SDS, tak i u hydrogelů na bázi STS byl vytvořen diagram (obrázek 17) zobrazující přítomnost tenzidových micel v supernatantu a tím přebytek STS nad DEAE-dextranem. Lze pozorovat, že čiré roztoky, ve kterých přebytek STS není, se v koncentrační řadě s postupným nárůstem množství DEAE-dextranu posunuly k vyšším koncentracím tenzidu.

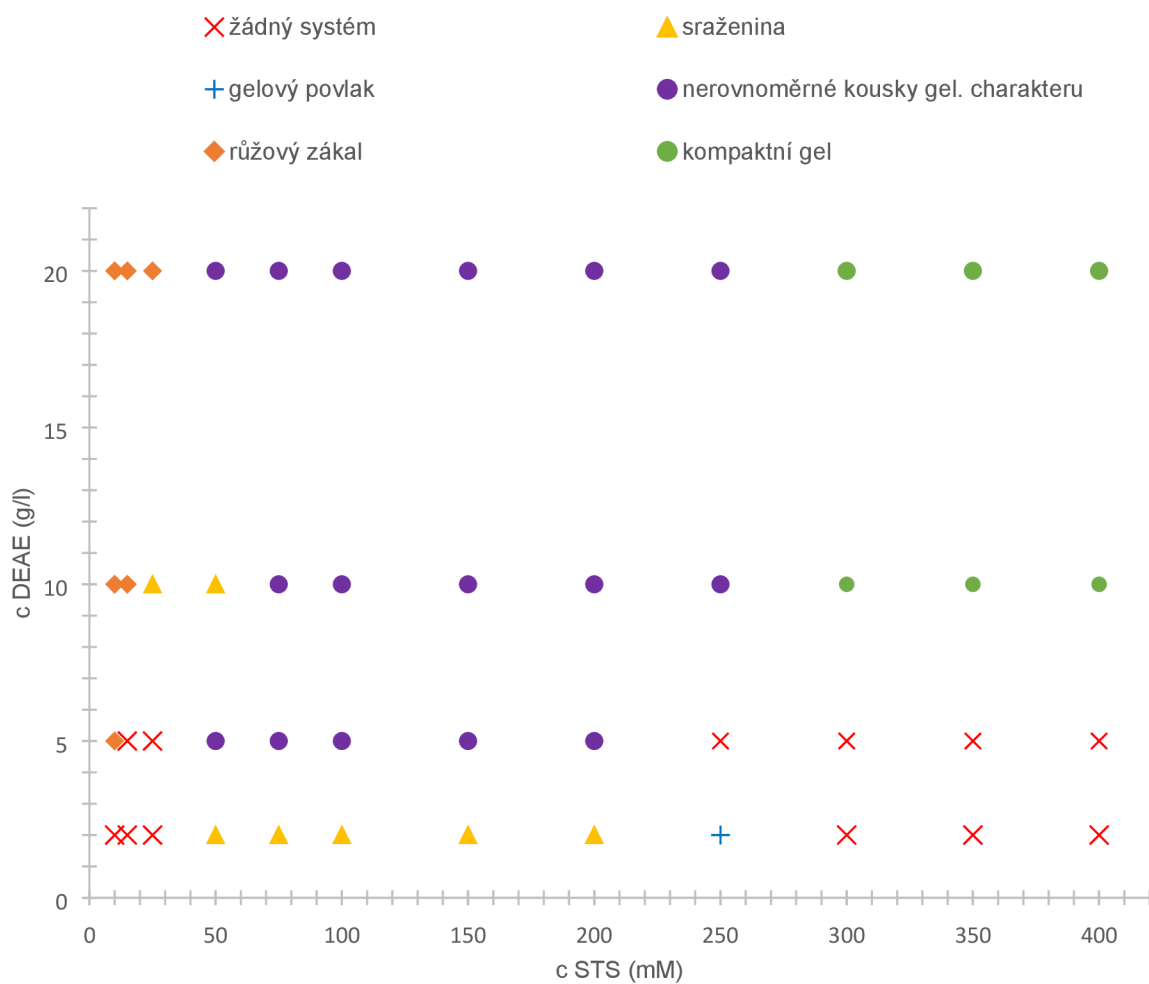
U vzorků s přítomným hydrogelem byl odlit supernatant a gely byly zváženy za mokra, vysušeny a opět zváženy jako sušina. Obsah vody v STS hydrogelech byl na základě hmotnostního měření stanoven na 61-84%. Po přidání vody k sušině došlo podobně jako u SDS gelů k nabobtnání a utvoření homogenní čiré gelové hmoty. Hydrogely na bázi STS lze tedy taktéž rehydratovat z jejich sušiny zpět na gelovou fázi. To, zda po vysušení a rehydrataci dojde i k zachování původních vlastností, by mohlo být předmětem budoucího pozorování a měření.



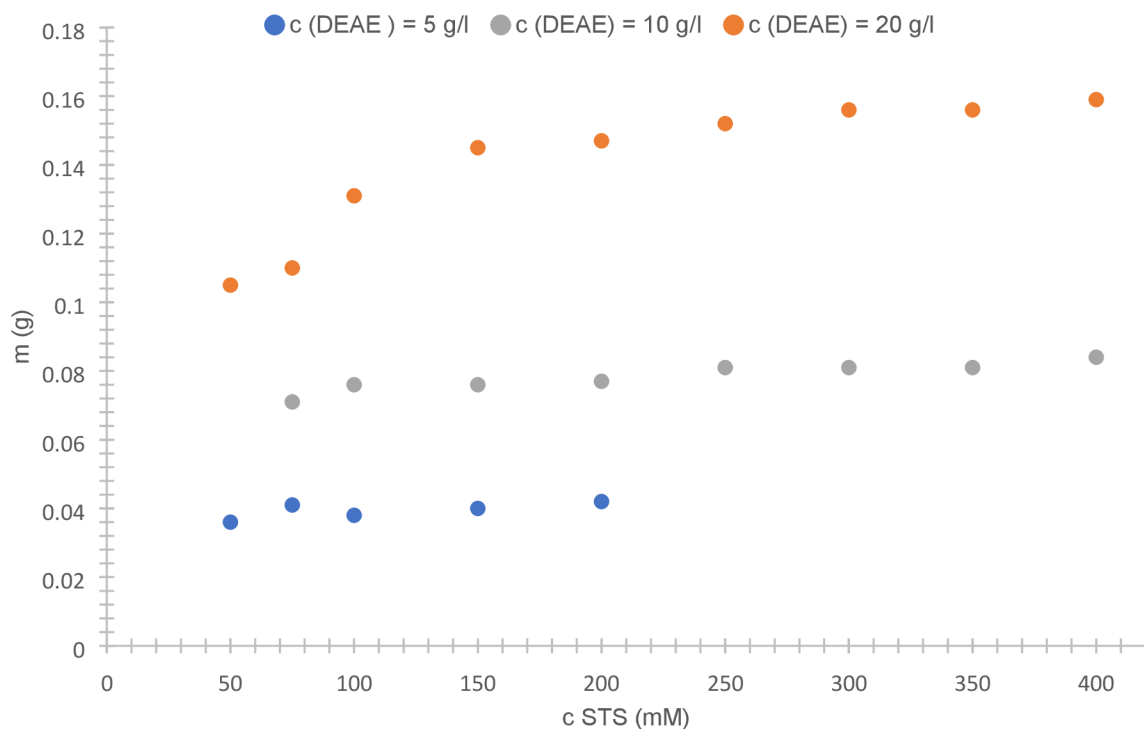
Obrázek 14 Vzorky vzrůstajících koncentračních řad tenzidu STS pro roztoky DEAE-dextranu (A: 2 g/l, B: 5 g/l, C: 10 g/l, D: 20 g/l)



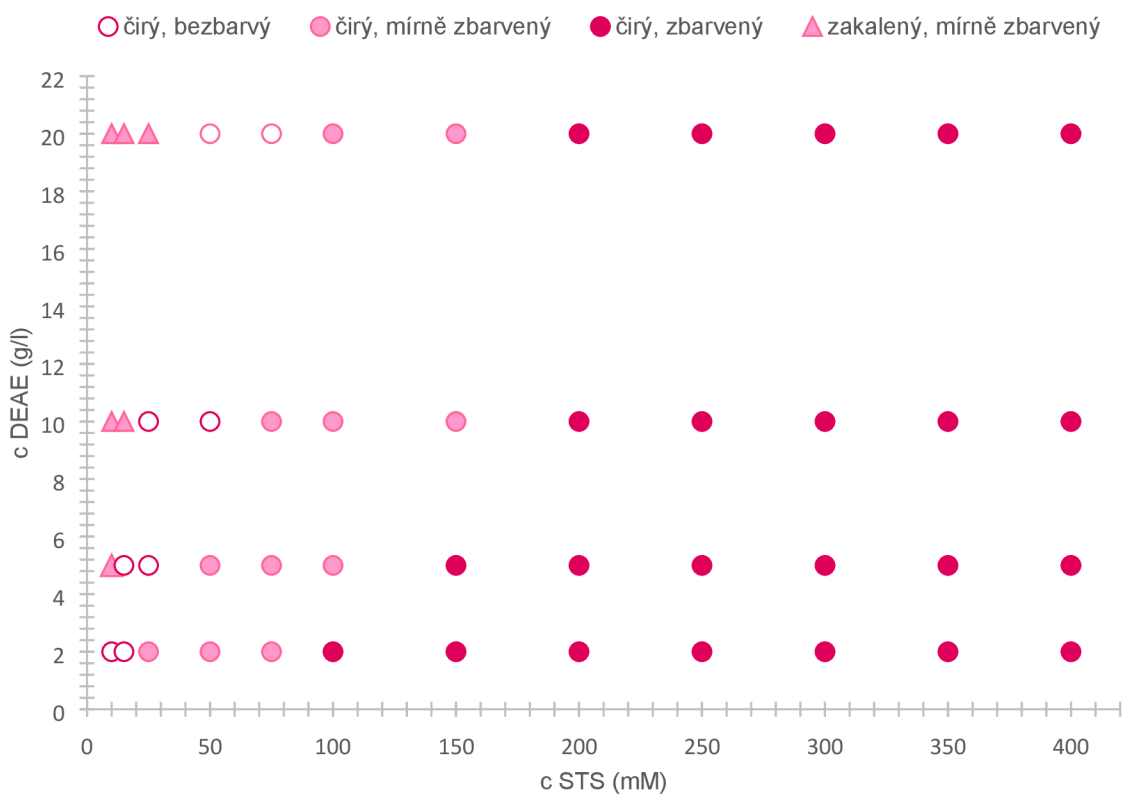
Obrázek 15 Hmotá vzniklá po spojení nepravidelných gelových kousků



Obrázek 16 Fázový diagram směsi STS-DEAE-dextran



Obrázek 17 Množství sušiny připravených STS hydrogelů pro jednotlivé koncentrace DEAE-dextranu



Obrázek 18 Fázový diagram směsi DEAE-dextran-STS zobrazující přítomnost micel v supernatantu

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce byla příprava a charakterizace hydrogelů vznikajících interakcí kladného polymeru DEAE-dextranu hydrochloridu se záporně nabitými povrchově aktivními látkami dodecylsíránem sodným a tetradecylsíránem sodným, navrhnutí jednoduché vizuální metody pro vyhodnocení výsledků experimentálního měření a z nich následné sestavení schématického fázového diagramu pro vzniklý systém.

Příprava hydrogelů byla provedena mokrou cestou v prostředí 0,15 M roztoku NaCl, které mělo jednak simulovat prostředí fyziologické a také je pro přípravu hydrogelů vhodnější než čistá voda. Mnou navrhnutá vizuální metoda pro vyhodnocení vzniklého systému zahrnuje několik kroků. Zaprvé určení a pojmenování vyloučené fáze. Může jít o zákal, sraženinu nebo gel. U některých vzorků k interakcím nedojde a pozorujeme tedy pouze roztok. Ze zabarvení supernatantu jsme schopni určit, zda daný tenzid převyšuje své potřebné množství k interakci s určitým množstvím DEAE-dextranu pro vznik hydrogelu. Je to dáno tím, že použité barvivo Sudan Red G je lipofilního charakteru a není tedy rozpustné ve vodě. Pokud však dojde k agregaci povrchově aktivních látek na micely, může být barvivo rozpuštěno v jejich hydrofobním středu a roztok se tedy vizuálně jeví zabarveně. Poté se hodnotí vlastnosti vzniklých hydrogelů, jejich kompaktnost, homogenita, čírost, jemnost, lepivost a tažnost.

Ať už jde o hydrogely na bázi SDS nebo STS, nejmenší koncentrace DEAE-dextranu 2 g/l je příliš malá pro jejich přípravu. U ostatních vzorků množství gelové fáze rostlo se zvyšující se koncentrací DEAE-dextranu. Minimální dostatečná koncentrace roztoku SDS je pro přípravu kompaktních hydrogelů 50 mM. U vzorků STS je určení složitější, ve většině případů totiž na rozdíl od SDS nevznikal kompaktní gel, nýbrž pouze nesouměrné gelové kousky. Zda mají taktéž vlastnosti gelu nebo pouze tak vypadají, by se muselo ověřit pomocí reologického měření. Snadno je však šlo spojit do jedné kompaktní hmoty. Samovolně vznikal souvislý gel až od koncentrace 300 mM STS a to pouze u vzorků s koncentrací 10 g/l a 20 g/l DEAE-dextranu. Hydrogely na bázi SDS byly pevnější, lepivější a více se tahaly než hydrogely na bázi STS. Větší množství vody ve své struktuře obsahovaly gely s tenzidem SDS. Prokázalo se, že oba typy hydrogelů jsou poměrně stabilní a po 7 dnech u nich nebyla pozorována žádná vizuální změna. Pouze ve dvou případech došlo k přeměně na bílou sraženinu. Pozitivní taktéž byla reprodukovatelnost jejich přípravy. Zkouška na rehydrataci proběhla u obou druhů gelů úspěšně a potenciálně by se tedy dala při jejich aplikaci využít sušina, která by se v případě potřeby zalila vodou a nechala nabobtnat.

Schématické fázové diagramy, sestavené z vizuálních výsledků měření, zobrazují vzniklé fáze systémů v závislosti na jednotlivých koncentracích obou látek. Diagram pro systém obsahující STS tenzid je více rozmanitý. Společně s diagramem zobrazujícím přítomnost micel může být užitečný pro volbu správného poměru koncentrací při přípravě hydrogelů právě na bázi DEAE-dextranu s SDS a STS tenzidy.

Jelikož nebyla prokázána toxicita DEAE-dextranu hydrochloridu ani použitých tenzidů, naopak lze právě DEAE-dextran využít v medicíně například jako nosičový systém pro cílený transport léčiv, je zde možnost, že by se daly hydrogely na bázi těchto látek využít pro medicínské aplikace. Hydrogely tohoto typu jsou tedy předmětem řad zkoumání a experimentů stejně jako tomu bylo v této bakalářské práci.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] STUART, Martien Cohen, Renko DE VRIES a Hans LYKLEMA. Polyelectrolytes. Soft Colloids. Elsevier, 2005, 2.1-2.84. *Fundamentals of Interface and Colloid Science*. DOI: 10.1016/S1874-5679(05)80006-6. ISBN 9780124605305.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1874567905800066>
- [2] BUDD, Peter M., Renko DE VRIES a Hans LYKLEMA. Polyelectrolytes. Comprehensive Polymer Science and Supplements. Elsevier, 1989, 215-230. *Fundamentals of Interface and Colloid Science*. DOI: 10.1016/B978-0-08-096701-1.00011-2. ISBN 9780080967011.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080967011000112>
- [3] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [4] VARSHOSAZ, Jaleh. Dextran conjugates in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012, 9(5), 509-523. DOI: 10.1517/17425247.2012.673580. ISSN 1742-5247.
Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425247.2012.673580>
- [5] NEELY, W. Brock. Dextran: Structure and Synthesis. Elsevier, 1961, 341-369. *Advances in Carbohydrate Chemistry*. DOI: 10.1016/S0096-5332(08)60191-5. ISBN 9780120072156.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0096533208601915>
- [6] De BELDER, A. N. Dextran. *Handbooks from Amersham Biosciences*.
Dostupné z: <http://pro.unibz.it/staff2/sbenini/documents/Protein%20purification%20handbooks/Don't%20move/18116612AA.pdf>
- [7] Dextranase for Dextran Hydrolysis. Merck KGaA [online]. 2019 [cit. 2019-05-01].
Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical-products.html?TablePage=111677732>
- [8] Dextran Chemistry. Pharmacosmos [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.dextran.com/about-dextran/dextran-chemistry>
- [9] ROBERTS, J.J. a P.J. MARTENS. Engineering biosynthetic cell encapsulation systems. *Biosynthetic Polymers for Medical Applications*. Elsevier, 2016, 205-239. DOI: 10.1016/B978-1-78242-105-4.00009-2. ISBN 9781782421054.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781782421054000092>

- [10] DEAE-Dextran hydrochloride. *Merck KGaA* [online]. [cit. 2019-05-06]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/d9885?lang=en&ion=CZ>
- [11] Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické Listy* 93 [online]. 1999, 421-427 [cit. 2019-05-01]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_07_421-427.pdf
- [12] Studium tvorby micel: 24.5.2012. In: ChemPoint: Vědci pro průmysl a praxi [online]. 2012 [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/studium-tvorby-micel>
- [13] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005 [cit. 2019-05-01]. ISBN 80-708-0579-X. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/
- [14] Surfactant. *Wikipedia* [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Surfactant>
- [15] SDS. *G-BIOSCIENCES* [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.gbiosciences.com/Protein-Research/SDS>
- [16] Dodecylsulfát sodný. *Merck KGaA* [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: http://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/Dodecyl-sulfate-sodium-salt,MDA_CHEM-822050?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.cz%2F
- [17] 1-Tetradecanol, hydrogen sulfate. *PubChem* [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5248>
- [18] Niaproof 4. *Merck KGaA* [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/n1404?lang=en&ion=CZ&gclid=EAlaIQobChMImbbd0LPA4QIVy5ztCh0VMwNfEAAYASAAEgKVxvD_BwE
- [19] RAMOS, Laurence, Monika SCHÖNHOF, Yuxia LUAN, Helmuth MÖHWALD a Gerald BREZESINSKI. Electrostatic interactions between polyelectrolyte and amphiphiles in two- and three-dimensional systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007, 303(1-2), 79-88. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2007.03.010. ISSN 09277757. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777570700218X>
- [20] KÖTZ, J, S KOSMELLA a T BEITZ. Self-assembled polyelectrolyte systems. *Progress in Polymer Science*. 2001, 26(8), 1199-1232. DOI: 10.1016/S0079-6700(01)00016-8. ISSN 00796700. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670001000168>

- [21] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008 [cit. 2019-05-01]. ISBN 978-80-7080-675-3. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-978-80-7080-675-3/pages-img/
- [22] H. GULREZ, Syed K., Saphwan AL-ASSAF a Glyn O. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications*. InTech, 2011, 2011-08-01. DOI: 10.5772/24553. ISBN 978-953-307-268-5. Dostupné také 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>
- [23] PEPPAS, Nicholas A. a Allan S. HOFFMAN. Hydrogels. *Biomaterials Science*. Elsevier, 2013, 166-179. DOI: 10.1016/B978-0-08-087780-8.00020-6. ISBN 9780123746269. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080877808000206>
- [24] CÍDLOVÁ, H., Barbora VALOVÁ a Z. MOKRÁ. Obecná chemie. *Is.muni* [online]. 2018 [cit. 2019-05-22]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/pedf/js18/obecna_chemie/web/pages/20-skupenske-stavy-latek.html
- [25] BUCHOLD, Philipp, Ralf SCHWEINS, Zhenyu DI a Michael GRADZIELSKI. Structural behaviour of sodium hyaluronate in concentrated oppositely charged surfactant solutions. *Soft Matter*. 2017, 13(11), 2253-2263. DOI: 10.1039/C6SM02742C. ISSN 1744-683X. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6SM02742C>

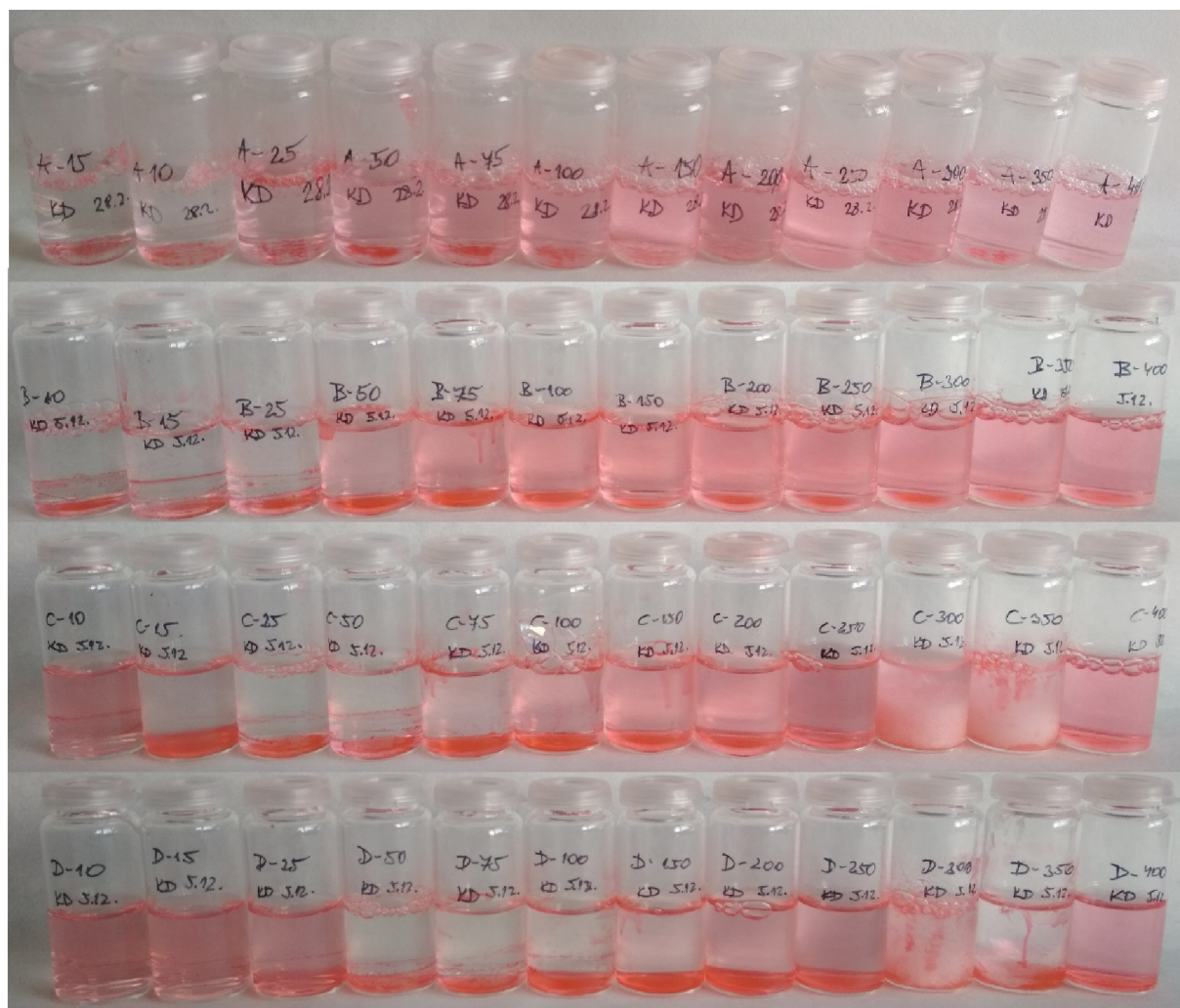
8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Výsledky vizuálního vyhodnocení vzorků s SDS pro koncentrace DEAE-dextranu 2 a 5 g/l

Složení		Vzniklý systém	Supernatant	Barvivo
DEAE-dextran	SDS			
2 g/l	10 mM	žádný	čirý bezbarvý	nerozpuštěno
	15 mM	žádný	čirý bezbarvý	nerozpuštěno
	25 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	50 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	75 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	100 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	150 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	200 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	250 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	300 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	350 mM	gelový povlak na dně vialky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	400 mM	žádný	narůžovělý	částečně rozpuštěno
5 g/l	10 mM	gelový povlak na dně vialky	čirý bezbarvý	nerozpuštěno
	15 mM	gelový povlak na dně vialky	čirý bezbarvý	nerozpuštěno
	25 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	čirý bezbarvý	částečně rozpuštěno
	50 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	75 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	100 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	150 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	200 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	250 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	300 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	350 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno
	400 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	narůžovělý	rozpuštěno

Příloha 2 Výsledky vizuálního vyhodnocení vzorků s SDS pro koncentrace DEAE-dextranu 10 a 20 g/l

Složení		Vzniklý systém	Supernatant	Barvivo
DEAE-dextran	SDS			
10 g/l	10 mM	žádný	růžový roztok	částečně rozpuštěno
	15 mM	jemná průhledná gelovitá sraženina, nelepí, netahá se	čirý bezbarvý	částečně rozpuštěno
	25 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	čirý bezbarvý	částečně rozpuštěno
	50 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	čirý bezbarvý	částečně rozpuštěno
	75 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	růžový roztok	rozpuštěno
	100 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	růžový roztok	rozpuštěno
	150 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	růžový roztok	rozpuštěno
	200 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	růžový roztok	rozpuštěno
	250 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	růžový roztok	rozpuštěno
	300 mM	světlé pěnovité cucky, nelepí se, netahají se	růžový, zakalený	rozpuštěno
	350 mM	světlé pěnovité cucky, nelepí se, netahají se	růžový, zakalený	rozpuštěno
	400 mM	gelová fáze, lepí se, tahá se	Růžový roztok	rozpuštěno
20 g/l	10 mM	žádný gel	růžový	částečně rozpuštěno
	15 mM	žádný gel	růžový, více viskózní	částečně rozpuštěno
	25 mM	jemná průhledná gelovitá sraženina, nelepí, netahá se	růžový roztok	částečně rozpuštěno
	50 mM	tuhá gelová fáze, lepí se, tahá se	bezbarvý čirý	částečně rozpuštěno
	75 mM	tuhá gelová fáze, lepí se, tahá se	bezbarvý čirý	částečně rozpuštěno
	100 mM	gelová fáze, nelepí se, tahá se	bezbarvý čirý	rozpuštěno
	150 mM	gelová fáze, nelepí se, tahá se	čirý růžový	rozpuštěno
	200 mM	průhledná gelová fáze, zbarvena nerovnoměrně, moc se nelepí a netahá	čirý růžový	rozpuštěno
	250 mM	průhledná gelová fáze, zbarvena nerovnoměrně, moc se nelepí a netahá	čirý růžový	rozpuštěno
	300 mM	nehomogenní gelová fáze, tolik se netahá	čirý růžový	rozpuštěno
	350 mM	nelepivá gelová fáze, rozpadá se	čirý růžový	rozpuštěno
	400 mM	tuhá gelová fáze, lepí se, tahá se	čirý růžový	rozpuštěno



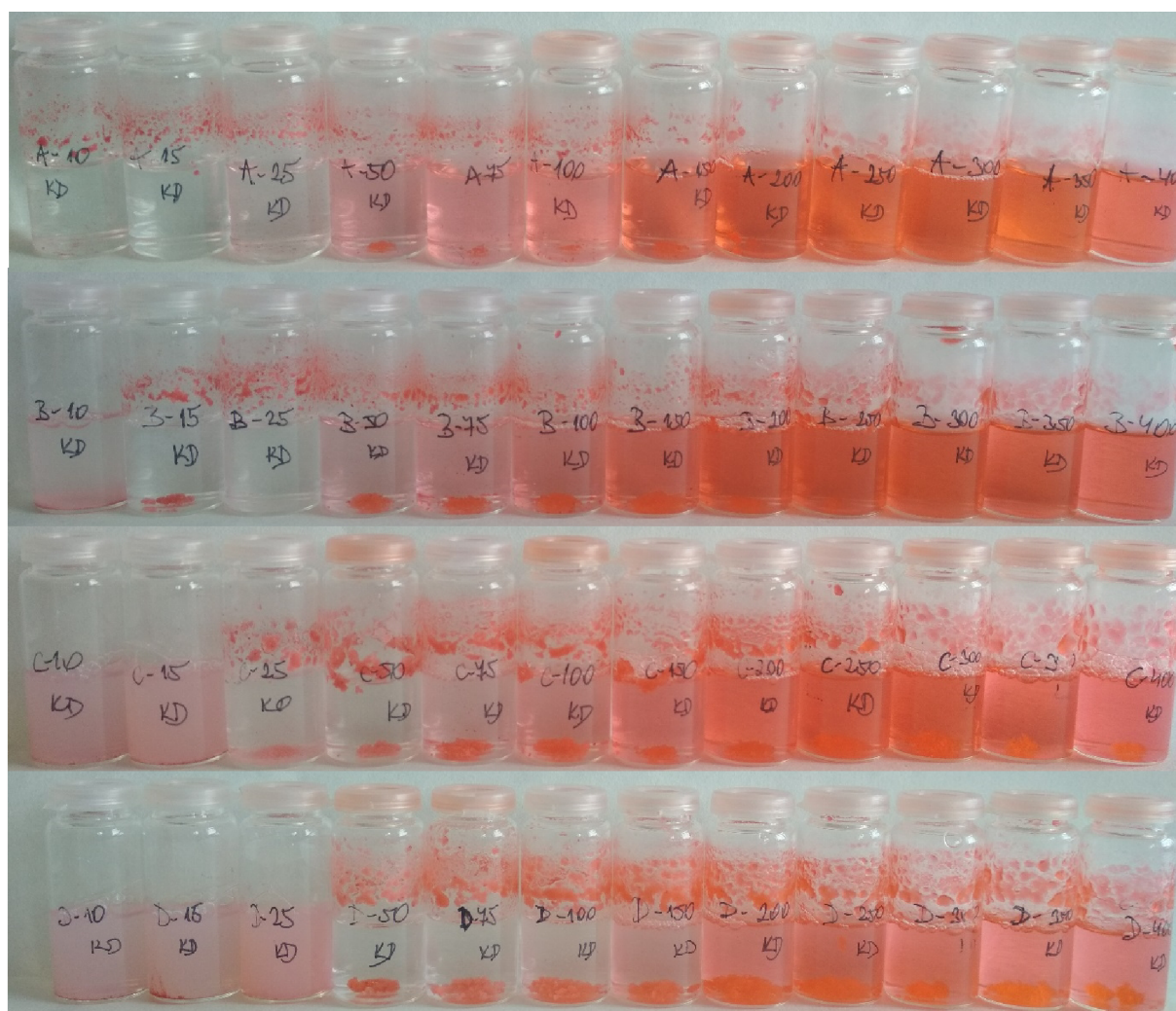
Příloha 3 Vzorky vzrůstajících koncentračních řad tenzidu SDS pro roztoky DEAE-dextranu (A: 2 g/l, B: 5 g/l, C: 10 g/l, D: 20 g/l) po týdnu

Příloha 4 Výsledky vizuálního vyhodnocení vzorků s STS pro koncentrace DEAE-dextranu 2 a 5 g/l

Složení		Vzniklý systém	Supernatant	Barvivo
DEAE-dextran	STS			
2 g/l	10 mM	žádný	čirý	nerozpuštěno
	15 mM	žádný	čirý	nerozpuštěno
	25 mM	žádný	narůžovělý	nerozpuštěno
	50 mM	sraženina	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	75 mM	sraženina	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	100 mM	sraženina	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	150 mM	sraženina	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	200 mM	sraženina	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	250 mM	gelový povlak na dně	červený	rozpuštěno
	300 mM	žádný	červený	rozpuštěno
	350 mM	žádný	červený	rozpuštěno
	400 mM	žádný	červený	rozpuštěno
5 g/l	10 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	15 mM	žádný	čirý	nerozpuštěno
	25 mM	žádný	čirý	nerozpuštěno
	50 mM	nelepivé gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	75 mM	nelepivé gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	100 mM	nelepivé gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	150 mM	nelepivé gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	200 mM	nelepivé gelové cucky	narůžovělý	rozpuštěno
	250 mM	žádný	narůžovělý	rozpuštěno
	300 mM	žádný	červený	rozpuštěno
	350 mM	žádný	červený	rozpuštěno
	400 mM	žádný	červený	rozpuštěno

Příloha 5 Výsledky vizuálního vyhodnocení vzorků s STS pro koncentrace DEAE-dextranu 10 a 20 g/l

Složení		Vzniklý systém	Supernatant	Barvivo
DEAE-dextran	STS			
10 g/l	10 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	15 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	25 mM	sraženina	čirý	částečně rozpuštěno
	50 mM	gelové cucky	čirý	částečně rozpuštěno
	75 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	100 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	150 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	200 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno
	250 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno
	300 mM	kompaktní gelová fáze, lepí se a tahá	červený	rozpuštěno
	350 mM	kompaktní gelová fáze, lepí se a tahá	červený	rozpuštěno
	400 mM	kompaktní gelová fáze, lepí se a tahá	červený	rozpuštěno
20 g/l	10 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	15 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	25 mM	žádný/zákal	narůžovělý zakalený	nerozpuštěno
	50 mM	gelové cucky	čirý	částečně rozpuštěno
	75 mM	gelové cucky	čirý	částečně rozpuštěno
	100 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	150 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	200 mM	gelové cucky	narůžovělý	částečně rozpuštěno
	250 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno
	300 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno
	350 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno
	400 mM	gelové cucky	červený	rozpuštěno



Příloha 6 Vzorky vzrůstajících koncentračních řad tenzidu STS pro roztoky DEAE-dextranu (A: 2 g/l, B: 5 g/l, C: 10 g/l, D: 20 g/l) po týdnu