

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STUDIUM SOL-GEL PROCESU AGARÓZY POMOCÍ KLASICKÉ
REOLOGIE A DYNAMICKÉHO ROZPTYLU SVĚTLA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

ŠÁRKA KRŇÁVKOVÁ

Brno 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STUDIUM SOL-GEL PROCESU AGARÓZY POMOCÍ KLASICKÉ REOLOGIE A DYNAMICKÉHO ROZPTYLU SVĚTLA

STUDY ON SOL-GEL PROCESS OF AGAROSE BY CLASSICAL RHEOLOGY AND DYNAMIC
LIGHT SCATTERING

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ŠÁRKA KRŇÁVKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. JIŘÍ SMILEK

BRNO 2015



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0937/2014** Akademický rok: **2014/2015**
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student(ka): **Šárka Krňávková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)
Vedoucí práce: **Ing. Jiří Smilek**
Konzultanti: Ing. Michal Kalina

Název bakalářské práce:

Studium sol-gel procesu agarózy pomocí klasické reologie a dynamického rozptylu světla

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracovat literární rešerši se zaměřením reologii gelových systémů a využití metod pro studium sol-gel procesu.
2. Na základě zpracované rešerše navrhnout vhodnou metodiku pro studium sol-gel procesu vybraných hydrogelových systémů.
3. Ověřit vliv různých parametrů (teplota, koncentrace, stárnutí) na mechanické vlastnosti vybraných materiálů.
4. Ověřit aplikovatelnost vybraných metod pro studium sol-gel procesu zvolených materiálů.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

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

Šárka Krňávková
Student(ka)

Ing. Jiří Smilek
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

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

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřená na charakterizaci hydrogelů jak z reologického hlediska, tak z hlediska metody dynamického rozptylu světla. Reologická část výzkumu se týká zjištění vlivu teploty na jejich mechanické vlastnosti hydrogelů, stanovení teploty gelace a teploty tuhnutí a také vliv stáří gelů na mechanické vlastnosti. Pomocí rozptylové techniky byl zjišťován vliv velikosti částic v roztoku na difúzní koeficient a vliv koncentrace hydrogelu s použitými částicemi na difúzní koeficient. Následně byla zjišťována korelace mezi získanými daty z obou typů měření a diskutována vhodnost použití rozptylových metod k charakterizaci hydrogelů.

ABSTRACT

The main aim of the bachelor thesis was characterization of hydrogels from rheological point of view and by dynamic light scattering. Rheological part of research relates with the determination of the influence of temperature on mechanical properties, gelation temperature and temperature of solidification as well as the effect of aging on mechanical properties of hydrogel. The influence of the particle size on diffusion coefficient was investigated by scattering techniques. The positive correlation between the data obtained by both types of measurement and the potential usage of dynamic light scattering method for the characterization of hydrogels was discussed as well.

KLÍČOVÁ SLOVA

reologie, agaróza, dynamický rozptyl světla, hydrogely

KEY WORDS

rheology, agarose, dynamic light scattering, hydrogels

KRŇÁVKOVÁ, Š. *Studium sol – gel procesu agarózy pomocí klasické reologie a dynamického rozptylu světla*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. s. 43. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jiří Smilek.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny literární 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 práce a děkanem FCH VUT.

.....
Šárka Krňávková

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Jiřímu Smilkovi za rady a pomoc k vypracování bakalářské práce a za pomoc při řešení experimentální části týkající se reologie. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Michalu Kalinovi za pomoc při řešení experimentální části týkající se metody DLS a za osobní konzultace.

OBSAH

1	Úvod.....	7
2	Cíle práce	8
3	Teoretická část	9
3.1	Agaróza.....	9
3.1.1	Struktura agarózy.....	9
3.1.2	Vlastnosti agarózy	9
3.1.3	Využití agarózy.....	10
3.2	Základní disperzních soustav.....	11
3.2.1	Základní dělení disperzních soustav	11
3.2.2	Metody stanovení koloidních soustav	12
3.2.3	Vlastnosti koloidních soustav	13
3.3	Gely.....	13
3.3.1	Vznik gelu.....	13
3.3.2	Ovlivnění gelace	14
3.3.3	Dělení gelů.....	14
3.3.4	Mechanické vlastnosti systémů s koagulačními strukturami	15
3.3.5	Hydrogely	16
3.4	Reologie.....	16
3.4.1	Viskoelasticita	18
3.4.2	Sledování viskoelasticity	19
3.5	Metoda DLS.....	20
4	Současný stav řešené problematiky	22
5	Experimentální část.....	24
5.1	Použité chemikálie.....	24
5.2	Používané přístroje	24
5.3	Reologie.....	24
5.3.1	Příprava hydrogelu agarosy pro reologii	24
5.3.2	Viskoelastické testy	25
5.3.3	Popis jednotlivých experimentů	25
5.4	DLS.....	26
5.4.1	Příprava hydrogelu agarosy pro DLS	26
5.4.2	Optimalizace metody	26
5.4.3	Optimalizace poměru PS částic v měřeném vzorku	26
5.4.4	Měření difúzního koeficientu za použití různých velikostí PS částic.....	27
5.4.5	Difúzní koeficient v závislosti na koncentraci agarózy	27

6	Diskuze a výsledky	28
6.1	Reologie	28
6.1.1	Vliv stárnutí agarózových gelů na jejich mechanické vlastnosti.....	28
6.1.2	Studium vlivu koncentrace agarózy na mechanické vlastnosti gelů	31
6.1.3	Stanovení teploty tání agarózových hydrogelů.....	35
6.2	Dynamický rozptyl světla	37
6.2.1	Optimalizace množství PS částic pro DLS analýzu	37
6.2.2	Bod gelace v závislosti na difúzním koeficientu	38
6.2.3	Vliv koncentrace na difúzní koeficient.....	39
7	Závěr	41
8	Použitá literatura	42

1 ÚVOD

Reologie je široce využívaná metoda především s ohledem na mechanické vlastnosti polotuhých materiálů, protože reologické chování hraje důležitou roli především v technologických procesech. Znalost základních reologických veličin, jako jsou viskozita, mez toku a modul pružnosti surovin i produktů je velice důležitá při navrhování a zdokonalování zařízení, v chemickém inženýrství, ve fyzice a v jiných průmyslových odvětvích (potravinářském, ropném, chemickém, atd.). Klasická reologie zkoumá mechanické vlastnosti materiálů z makroskopického hlediska.

Reologické vlastnosti materiálů získané pomocí klasické reologie byly korelovány s další rozptylovou metodou, řadící se do metod rozptylových, konkrétně se jedná o metodu dynamického rozptylu světla – DLS (z anglického názvu Dynamic Light Scattering).

Teoretická část předložené bakalářské práce bude zaměřena především na představení materiálů, které budou v rámci experimentální části používány. Bude se jednat o lineární polysacharid – agarózu, jakož hlavní materiál pro přípravu hydrogelů. Z teoretického hlediska budou také popsány použité metody, především tedy reologie a metoda dynamického rozptylu světla.

V experimentální části bude popsána příprava hydrogelových vzorků, nastavení realizovaných experimentů jak pro reologickou část, tak také pro měření dynamického rozptylu světla. Další částí této závěrečné práce bude diskuze výsledků, kde bude mimo jiné i prodiskutována korelace mezi oběma použitými metodami a také využitelnost rozptylových metod pro charakterizaci hydrogelových materiálů.

2 CÍLE PRÁCE

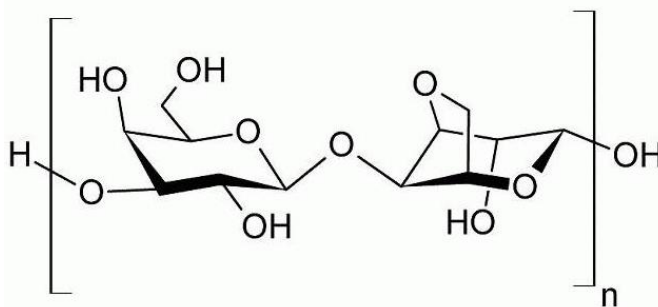
Hlavními cíly této bakalářské práce bylo zpracovat literární rešerši se zaměřením na reologii gelových systémů a využití metod pro studium sol – gel procesů. Dále byla na základě zpracované rešerše navrhována vhodná metodika pro studium sol – gel procesu vybraných hydrogelových systémů. Byl ověřen vliv různých parametrů (teplota, koncentrace, stárnutí) na mechanické vlastnosti vybraných materiálů. Nakonec byla prověřena aplikovatelnost vybraných metod pro studium sol – gel procesu zvolených materiálů.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Agaróza

3.1.1 Struktura agarózy

Agaróza je lineární polysacharid, který se extrahuje z agaru, což je přírodní polysacharid, který je získáván z mořských řas rodu *Floridae* a *Gelidium*. Je tvořený opakujícími se podjednotkami agarobiózy, což je disacharid složený z galaktózy a 3,6 – anhydrogalaktózy. Tyto podjednotky agarobiózy jsou navzájem spojeny α - (1 \rightarrow 3) a β - (1 \rightarrow 4) glykosidickými vazbami.



Obrázek 1: Struktura agarózy [1]

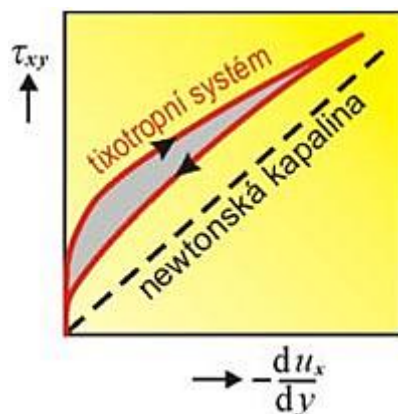
Relativní molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí od 630 do 120 000 (podle toho, zda se jedná o nízkomolekulární nebo vysokomolekulární agarózu). Je nenabitá, ale může obsahovat příměsi nabitých sulfátových nebo pyruvátových skupin.

3.1.2 Vlastnosti agarózy

Běžně se po extrakci a purifikaci vyskytuje ve formě bílého prášku, který není rozpustný ve vodě při laboratorní teplotě, zatímco po zahřátí nad kritickou rozpouštěcí teplotu dochází k rozplétání agarózových řetězců, což vede k zvýšení rozpustnosti. Teplota rozpouštění je závislá na typu, šarži a koncentraci agarózy v suspenzi. Postupným ochlazením solu dochází k proplétání jednotlivých agarózových řetězců, které jsou následně stabilizovány vodíkovými můstky. Stabilizace vodíkovými můstky vede ke vzniku polotuhého materiálu v podobě termoreverzibilního gelu.

Termoreverzibilita je schopnost gelu se opětovně vrátit do stavu solu po jeho zahřátí nad určitou teplotu (nad teplotu tání). Existuje několik typů agarózy rozlišené podle teploty tání. Jeden typ je s nízkým bodem tání (*low melting point*), který má teplotu tání kolem 65°C. Naopak druhý typ agarózy má vysoký bod tání (*high melting point*) a taje při teplotě 95°C [2].

Teplota tání není ovšem shodná s teplotou tuhnutí; ta je i o několik desítek stupňů nižší, než teplota tání. Tento jev se nazývá hystereze. Hystereze je charakterizována hysterezní křivkou (příklad hysterezní křivky je uveden na Obrázku 3), ze které je patrné, že při zvyšování teploty nejsou naměřeny stejné hodnoty jako při ochlazení. V kapitole 3.3.4 jsou zmíněny tixotropní gely, které hysterezi podléhají také. U nich je ovšem sledována změna tokové křivky naměřené při postupném zvyšování a následném snižování napětí [3].

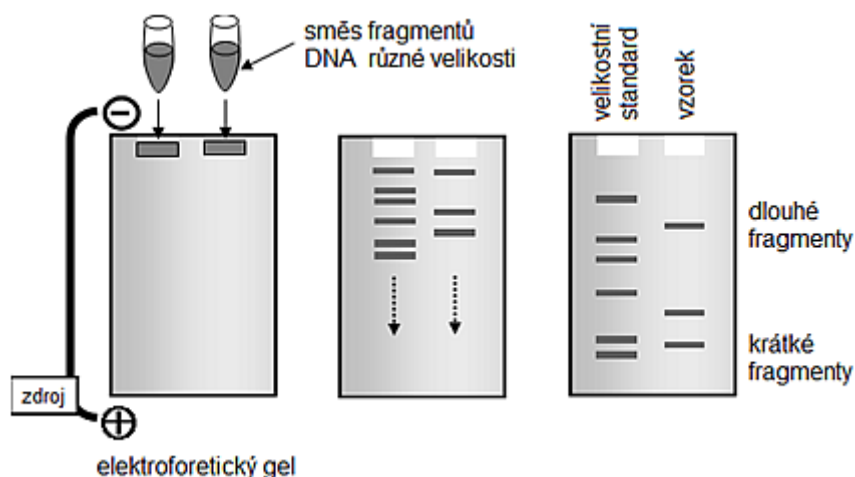


Obrázek 2: Průběh tokové křivky pro tixotropní a newtonskou kapalinu [3]

Co se týče mechanických vlastností čistého agarózového gelu, závisí podle práce [4] na jeho molekulové hmotnosti a na koncentraci. Pro zlepšení jeho mechanických vlastností se přidávají například nanovlákná celulózy, kde se prokazatelně navýšila pevnost gelu [5].

3.1.3 Využití agarózy

Agaróza nachází své uplatnění v mnohých vědeckých i průmyslových aplikacích jako je například potravinářský průmysl, biochemické laboratoře (kultivace, dělicí techniky), atd. Díky tomu, že je prakticky bez náboje nachází své uplatnění v laboratořích analytické chemie a biochemie. Používá se k separaci velkých biomolekul, jako je DNA, RNA a jejich fragmentů s využitím metody planární gelové elektroforézy. Ta se dělí podle geometrie na vertikální elektroforézu a horizontální elektroforézu. Vzorek DNA má záporný náboj (hlavní nositelé záporného náboje jsou zbytky fosfátové skupiny), proto se nanáší ke katodě. Po zapojení do elektrického pole putují segmenty DNA k anodě a vzorek se separuje. Dělení se uskutečňuje v pórech gelu podle molekulové hmotnosti. Průměrná velikost pórů agarózových gelů je výrazně ovlivněna jejich koncentrací. Čím vyšší koncentrace agarózy v gelu je, tím je velikost pórů menší (1 % agaróza – velikost pórů cca 150 nm, 0,16 % agaróza – velikost pórů 500 nm) [5].



Obrázek 3: Gelová elektroforéza [5]

V potravinářském průmyslu se agarosa využívá jako zahušťovací a želírovací látka. Patří tedy do řady aditiv přidávaných do potravin pro zlepšení trvanlivosti, barvy, chuti, vzhledu aj. Pro to využití jsou vhodnější nižší koncentrace agarosy.

Agarózové gely se také využívají pro kultivaci mikroorganismů v biochemických laboratořích jako vhodné tuhé kultivační médium pro samotné namnožení mikroorganismů nebo se do gelu může přidat i jiný substrát, například antibiotikum, kdy se zjišťuje rezistence vůči antibiotikům.

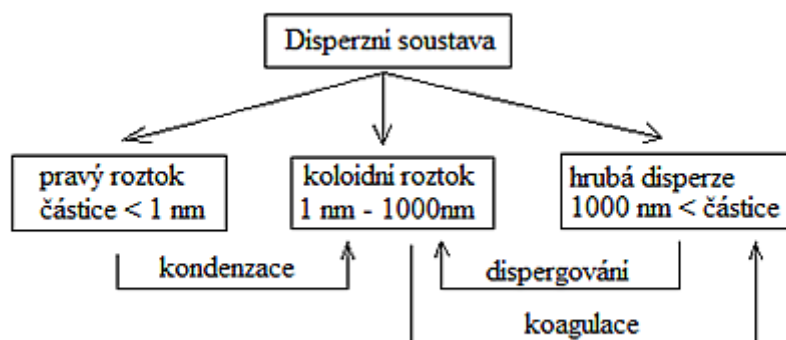
3.2 Základní disperzních soustav

Jedná se o systémy, které jsou tvořeny alespoň dvěma druhy hmoty, přičemž jeden druh je rozptýlen ve druhém ve formě méně či více jemných částic. Částice, které jsou rozptýleny v jiném prostředí, se nazývají *disperzní podíl* (neboli *disperzum*). Druhá skupina částic tvořící kontinuum, ve kterém je tento disperzní podíl rozptýlen, se nazývá *disperzní prostředí* (neboli *dispergens*). Disperzní systémy mají mnoho dělení, a to podle počtu fází, velikostí částic, tvaru částic nebo podle skupenství disperzního prostředí a disperzního podílu [7].

3.2.1 Základní dělení disperzních soustav

Podle velikostí disperzního podílu:

- Analyticky disperzní – částice mají velikost pod 1 nm
- Koloidně disperzní – velikost částic se pohybuje v rozmezí 1 – 1000 nm
- Hrubo disperzní – částice nad 1000 nm



Obrázek 4: Rozdělení disperzních soustav

Jak ukazuje Obrázek 4, přípravu koloidního roztoku lze rozdělit podle toho, jestli je připravován z pravého roztoku nebo z hrubé disperze. Proto lze koloidní roztoky připravovat buď spojením jednotlivých molekul, tzn. kondenzací, do větších agregátů, nebo rozptýlením částic, čili dispergováním. Tyto metody přípravy jsou *kondenzační* (na tuto metodu se pohlíží jako na krystalizační děj a vzniklé částice se považují za drobné krystalky) a *disperzní* (zvyšování stupně disperzity látek v prostředí, kdy se vlivem vnější práce naruší a překonají mezimolekulové síly). Některé koloidní roztoky mohou také vznikat i samovolnou dispergací případně kondenzací.

Další způsob dělení koloidních soustav je například podle toho, zda je disperzní prostředí a disperzní podíl ve stejné či v různé fázi:

Lyofóbní disperze (koloidní disperze) jsou systémy, ve kterých je disperzní prostředí a disperzní podíl v různé fázi, jedná se tedy o heterogenní systém, kde jsou od sebe prostředí a rozptýlené částice odděleny fázovým rozhraním. Jsou připravovány dispergací hrubodisperzních soustav nebo kondenzací pravých roztoků a jsou nestabilní (samovolně zanikají). Dělení heterogenních koloidních disperzí s příklady je uvedeno v Tabulce 1.

Tabulka 1: Rozdělení heterogenních koloidních disperzí.

disperzní podíl		<i>plyn</i>	<i>kapalina</i>	<i>pevná látka</i>
disperzní prostředí	<i>plyn</i>	netvoří	aerosol (<i>mlha</i>)	aerosol (<i>dým, kouř</i>)
	<i>kapalina</i>	pěna (<i>šlehačka</i>)	emulze (<i>mléko</i>)	sol (<i>krev, barviva</i>)
	<i>pevná látka</i>	tuhá pěna (<i>aerogel, pemza</i>)	tuhá emulze (<i>černý fosfor</i>)	tuhý sol (<i>drahokamy</i>)

V případě *lyofilních disperzí* (lyofilní roztok) se jedná o homogenní systémy, takže disperzní podíl a disperzní prostředí jsou ve stejné fázi. Připravují se samovolným rozpouštěním makromolekul a jsou termodynamicky stálé.

Asociativní micelární koloidy jsou systémy, kde je disperzní prostředí tvořeno kapalinou a disperzní podíl je z micel koloidních roztoků, které jsou utvořeny z amfifilních molekul. Vznikají samovolným rozpouštěním polymerů [8].

3.2.2 Metody stanovení koloidních soustav

Optické metody patří k nejpoužívanějším metodám studia koloidních systémů. Slouží hlavně ke stanovení velikosti, tvaru a struktury koloidních částic. Hrubodisperzní systémy, jako jsou suspenze, emulze, pěny a prachy, lze díky své velikosti pozorovat v klasickém mikroskopu. Nejmenší vzdálenost, kdy lze pozorovat dva oddělené body, odpovídá asi polovině vlnové délky světla, což činí vzdálenost asi 0,2 μm (při použití světelného mikroskopu, kde se vlnová délka světla pohybuje v rozmezí od 400 do 700 nm). Vysokodisperzní soustavy jsou viditelné pouze v elektronovém mikroskopu (používá se svazek rychle letících elektronů, což zvyšuje rozlišovací schopnost a lze přímo fotografovat částice) nebo ultramikroskopu, nikoli však v běžném světelném mikroskopu.

Ultramikroskop umožní detekovat přítomnost koloidních částic, zjistit jejich počet a pozorovat jejich pohyb. Lze také zjistit jejich velikost, ale pouze nepřímou cestou. Pracuje na principu soustředění intenzivních světelných paprsků s následným pozorováním rozptýleného světla klasickým mikroskopem (pozoruje se vlastně Tyndallův jev, který je popsán v kapitole 3.2.3).

Další metodou na charakterizaci koloidního systému na principu rozptylování světla je například nefelometrie. Je nutné ale dodat, že všechny metody, které fungují na principu rozptylu světla, je možné použít pouze u bílých (bezbarvých) solí [9].

3.2.3 Vlastnosti koloidních soustav

Koloidní systémy jsou velmi často barevné, což dokazuje například zbarvení drahokamů a polodrahokamů, kde je jejich charakteristické zbarvení dáno malým množstvím koloidně rozptýlených těžkých kovů a jejich oxidů. Zbarvené jsou například i koloidní systémy, kde barevnou složkou je kapalná disperzní fáze například u kovových solí, což je dáno různým indexem lomu disperzní fáze a disperzního prostředí. Je tedy patrné, že barvu koloidního systému určuje jak disperzní fáze, tak i disperzní prostředí. Dále to může být také stupeň disperzity částic, jejich tvar a také jejich struktura, protože tyto vlastnosti ovlivňují rozptyl i absorpci světla [9].

Tyndallův jev je typickou optickou vlastností koloidních soustav. Jedná se o difúzní rozptyl světla, při kterém světlo prochází koloidním prostředím, kde přítomné disperzní částice způsobují rozptyl procházejícího světla a to je pak viditelné ve formě Tyndallova kužele. Tento efekt je možné pozorovat, například pokud paprsky Slunce procházejí skrz mlhu (což je lyofobní disperze, konkrétně aerosol) či kouř nebo pokud posvítíme laserem skrz koloidní roztok (u pravého roztoku nevidíme žádné rozptýlené světlo) [10].

3.3 Gely

Jednou podkapitolou, řadící se do disperzních systémů, jsou gely. Gely jsou disperze tuhých látek v kapalině, kde tuhá látka rozptýlená v kapalině vytváří při změně ze solu na gel strukturu, která je vyplněna disperzním prostředím. Tyto struktury se rozlišují na *koagulační* (tixotropně vratné) a *kondenzačně – krystalizační* (nevratně se rozpadající). Vznik koagulačních struktur začíná snížením agregátní stálosti disperzních soustav, spojují se navzájem a vytvářejí agregáty. Po dosažení určitého stupně velikosti tvoří tyto agregáty koagulát. Na několika místech částic dojde ke snížení stability částic a v důsledku toho se tyto částice spojují v místech snížení stability. Tímto procesem vzniká trojrozměrná prostorová síť, která je vyplněna disperzním prostředím. Tímto způsobem vzniká gel, přesněji lyogel.

Kondenzačně – krystalizační struktura je tvořena částicemi, mezi kterými působí chemické síly. Buď jde o pevnou chemickou vazbu, nebo se jedná o srůstání krystalků při krystalizaci nové fáze. Tyto gely jsou velmi křehké, nejsou plastické ani elastické a nemohou jevit tixotropii ani synerezi (popsanou v kapitole 3.3.4) a nemohou bobtnat. Tato struktura má velký význam pro tvrdnutí minerálních spojovacích materiálů na bázi cementu, sádry nebo vápna. Velký význam na tyto struktury má modifikace povrchově aktivních látek.

Disperzní podíly nejsou schopny pohybu v disperzním prostředí díky již zmiňované vnitřní struktuře. Ale mohou vykonávat tzv. vibrační pohyby. Síly, které takto poutají disperzní částice, se nazývají *adhezí síly* [10]

3.3.1 Vznik gelu

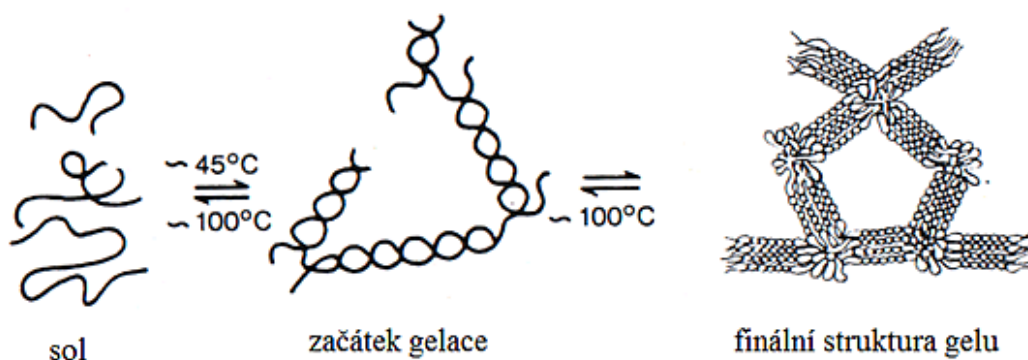
Gel ve své vnitřní struktuře obsahuje třídídimenzionální síť, která prochází celým disperzním systémem. Disperzní podíl je tedy spojitý. Gely vznikají procesem zvaným *gelace*, který je charakterizován bodem gelace, což je časový údaj, kdy vzniká vnitřní struktura gelu.

Proces vzniku gelu závisí na tom, o jaké gely se jedná. Pokud se jedná o gely *fyzikální* (s koagulační strukturou), tak ty vznikají změnou fyzikálních podmínek, jako je změna pH, iontová síla solu, změna rozpouštědla. Pokud se jedná o gely *chemické* (kondenzačně – krystalizační), tak ty vznikají buď fotochemickým vytvrzováním, nebo chemickou reakcí. V případě reverzních gelů *bobtnáním* – přidáním disperzního prostředí ke xerogelu (vysušenému gelu).

Obecně je pro vznik gelu nežádoucí mechanické působení na sol, například promíchávání. Jinak tomu je ale u gelu, které vznikají právě mechanickým působením. Tento jev se nazývá *reopexie* – tvorba gelu při mechanickém namáhání (blíže popsán v kapitole 3.3.4).

3.3.2 Ovlivnění gelace

Faktorů ovlivňujících gelaci je celá řada. Poměrně významnou roli hraje *teplota*, protože čím je teplota vyšší, tím rychlejší je pohyb molekul v roztoku a tím pádem se snižuje počet pevných vazeb mezi makromolekulami. Lze tedy tvrdit, že rostoucí teplota brání vzniku gelu až na konkrétní případy termoreverzibilních gelů či chemických gelů, které vyžadují minimální teplotu k tomu, aby mohla gelace proběhnout. Dále je to vliv *pH*. Optimální pH pro vznik gelové sítě odpovídá izoelektrickému bodu makromolekuly, kterou pro vznik gelu používáme. Také zvýšením *koncentrace* můžeme urychlit gelaci – zvýší se rychlost tvorby gelu díky zvýšení počtu molekul, které jsou schopny tvořit gel a zároveň má koncentrace vliv i na jeho pevnost, protože se zvýší i počet kontaktů. Zmenšením *rozměrů částic* při konstantní koncentraci opět napomůžeme vzniku gelu a velký význam má i samotný *tvar částic*. Gely snadněji vznikají, mají-li částice konce, hroty nebo hrany [11].



Obrázek 5: Struktura gelu [12]

3.3.3 Dělení gelů

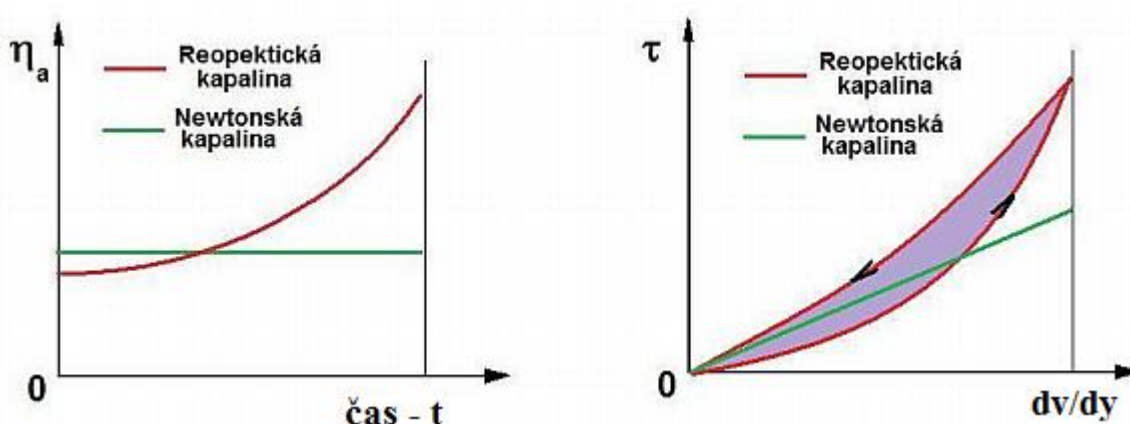
Nejběžnější dělení gelů je podle chování ve vysušeném stavu:

- Gely reverzibilní – po vysušení mají menší objem a vznikají kompaktní xerogely. Tyto xerogely se po přidání disperzního prostředí vrací do původního stavu procesem zvaným bobtnání (gely vzniklé z molekulových koloidů). Existuje také neomezené bobtnání, kdy se gel může zpětně převést až na původní sol.
- Gely ireverzibilní – zachovávají si stejný objem i po vysušení, ale jsou porézní. Po kontaktu s disperzním prostředím dokážou sorbovat určité množství, ale do původního lyogelu se nevrátí. Tyto gely vznikají z fázových koloidů.

3.3.4 Mechanické vlastnosti systémů s koagulačními strukturami

Specifickou vlastností koagulačních struktur je *tixotropie*. Je to schopnost struktur se samovolně obnovit, pokud byly předchozím vlivem (mechanickým namáháním) rozrušeny. Obecně řečeno je to schopnost gelu se ze solu změnit zpátky v gel. Podstatou tohoto jevu je, že vazby, které byly mechanickým vlivem rozrušeny, se obnovují v důsledku náhodných srážek částic díky probíhajícímu Brownovu pohybu. Zajímavostí je, že sol nemusí být v klidu. Tento proces probíhá i v okamžiku, kdy je sol v pohybu, ale mechanické působení musí být menší než to, které způsobilo destrukci vazeb.

Pokud se mění zdánlivá viskozita s dobou působení konstantního smykového namáhání, jako jsou míchání třepání apod., říkáme, že se jedná o reopektický systém a jev zvaný *reopexie*. Na začátku namáhání je zdánlivá viskozita malá a roste spolu s dobou, po kterou systém namáháme. Po ukončení namáhání tohoto systému se zdánlivá viskozita vrátí na původní (tedy nízkou) hodnotu [13]. Jak je z následujícího obrázku patrné, u reopektických kapalin se objevuje hysterezní smyčka (při zvyšování hodnot napětí je jiný průběh tokové křivky než při snižování napětí), která ale na rozdíl od tixotropních kapalin probíhá proti směru hodinových ručiček [14]. Průběh závislost smykového napětí na čase a gradientu rychlosti reopektické kapaliny je znázorněn v Obrázku 6.



Obrázek 6: Závislost smykového napětí na čase a gradientu rychlosti [14]

Další vlastností charakteristickou pro gelové systémy je *synerese*, což je samovolné zmenšování objemu gelu se současným vylučováním disperzního prostředí. Tento jev je charakteristický zejména pro čerstvě připravené gely, které ještě nejsou v termodynamické rovnováze. Příčinou je malý počet kontaktů, který nestačí k vytvoření kompaktního systému. Přeskupováním částic vlivem tepelného pohybu počet těchto kontaktů vzrůstá a gel se stlačuje a vypuzuje disperzní prostředí. Opakem je bobtnání lyofobního xerogelu.

U mechanických vlastností gelů je potřeba si definovat modul pružnosti ve smyku E :

$$\varepsilon = \frac{P}{E} \quad (1),$$

kde ε představuje relativní smykovou deformaci v pevných tělesech a P je smykové napětí.

Modul pružnosti (E) charakterizuje pevnost tělesa a také jeho schopnost zachovat tvar při vystavení smykové deformaci a závisí na povaze tělesa a na teplotě. Po překročení kritického

napětí, které se nazývá *mez pevnosti*, ztrácí těleso svou elasticitu a dochází k nevratné deformaci. Pod touto kritickou hodnotou se chová jako elastické tuhé těleso. Hodnota kritického napětí závisí na počtu molekulárních kontaktů a na jejich pevnosti. Pokud není překročena mez pevnosti a deformace vzorku po určitém čase přestane působit, může se takto vzniklé napětí v gelu „rozplynout“. Tomuto procesu se říká relaxace.

Mechanické vlastnosti gelů ovlivňuje koncentrace. Pokud je v jednotce objemu malý počet stabilních vazeb, tak jsou tyto gely značně elastické, a naopak gely s velkým počtem těchto vazeb jsou málo elastické [9].

3.3.5 Hydrogely

S klasickými gely jsme se již seznámili. S tímto pojmem jsou ovšem také spjaty hydrogely, což je disperze pevných látek v disperzním prostředí, kde disperzní prostředí tvoří voda. Hydrogely mohou být děleny na umělé, přírodní nebo hybridní, v závislosti na typu použitého polymeru, který tvoří strukturu.

Hydrogely jsou široce děleny na:

- Permanentní (chemické gely): obsahují kovalentní vazby, rovnovážný stav závisí na parametrech interakce polymer - voda a na hustotě zesíťování
- Reverzibilní (fyzikální gely): síť je spojována molekulárními vazbami nebo pomocí slabých vazebných interakcí, jako jsou vodíkové vazby nebo hydrofilní interakce a rozpustnost je omezena díky fyzikálním interakcím mezi polymerními řetězci. Všechny tyto interakce jsou reverzibilní a mohou být narušeny změnou fyzikálních podmínek (teploty, pH).

Vazby mezi různými polymerními řetězci způsobují viskoelastické a někdy až elastické chování a dávají hydrogelu jeho strukturu, pevnost a pružnost. Díky vysokému obsahu vody jsou flexibilní stejně jako tkáň [15].

Interakce, zodpovědné za absorpci vody, mohou být kapilární, osmotické nebo hydratační. Vlastnosti, podle kterých se hydrogely také rozlišují, zahrnují vnitřní transport, difúzní charakteristiky a mechanickou pevnost. Díky svým vlastnostem je většina biokompatibilních a biodegradabilních, což zaručuje velký rozsah použití v medicíně, pokud jsou ovšem připraveny z látek neškodících lidskému zdraví, které jsou navíc schopny se rozkládat [16].

Už po svém objevu v šedesátých letech minulého století byly používány jako kontaktní čočky [17]. Podrobný přehled o historickém vývoji využití hydrogelů včetně způsobů přípravy hydrogelů nabízí článek [18], ve kterém autoři vkládají velkou důvěru hydrogelům při použití v podávání léčiv (např. cílená distribuce, postupné uvolňování, aj.) a také v oblasti tkáňového inženýrství.

3.4 Reologie

Reologie se zabývá deformacemi materiálů vlivem vnějších sil, zjednodušeně deformacemi a tokem materiálu.

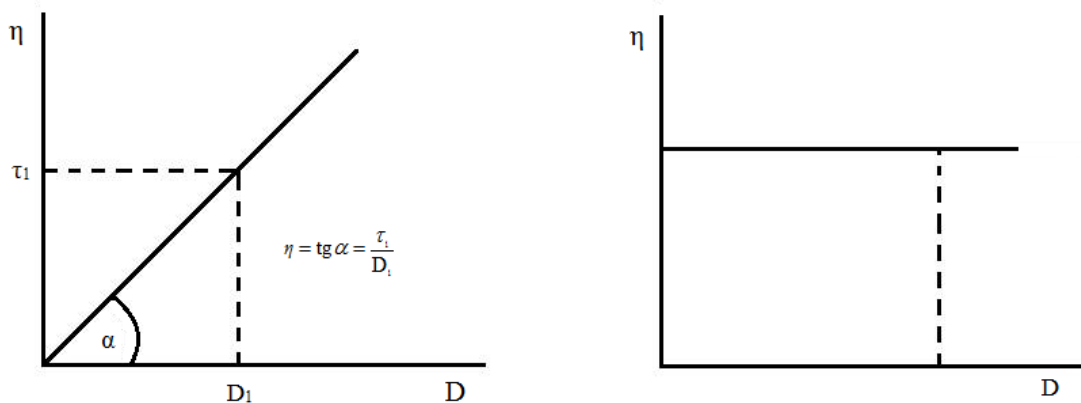
Podle mechanických vlastností rozlišujeme tři základní skupenství: pevné, kapalně a plynné. Nevazký plyn, nestlačitelná vazká (newtonská) kapalina a izotropní pružné (hookovo těleso). Limitní chování vazké nestlačitelné kapaliny je dáno ideální newtonovskou

kapalinou (o které byla zmínka výše, s nulovou viskozitou) a limitní chování pružného materiálu je tuhé těleso (s nekonečně velkým modelem pružnosti).

S pojmem reologie úzce souvisí viskozita, která přímo charakterizuje tekoucí materiál. Kapaliny, pro které je viskozita vypočtená podle Newtonova zákona jako poměr tečného napětí a rychlostního gradientu konstantní, se nazývají *newtonovské*. Newtonův zákon:

$$\tau = \eta_{dyn} \cdot \frac{du}{dx} = \eta_{dyn} \cdot D \quad (2),$$

kde η_{dyn} je dynamická viskozita, D je gradient rychlosti (rychlost deformace), τ je tečné napětí, du je změna rychlosti toku a dx je posun souřadnice ve směru kolmém na směr proudění.

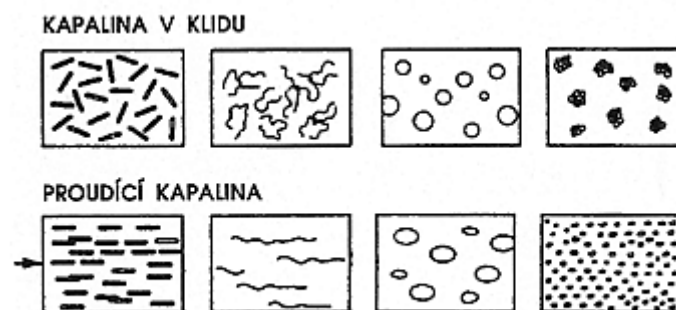


Obrázek 7: Toková a viskozitní křivka newtonské kapaliny [19]

Kapaliny, u nichž tomu tak není, nazýváme *nenewtonovské* (roztoky a taveniny polymerů, suspenze, různé pasty). Analogický Newtonův zákon:

$$\tau = \eta_{zd} \cdot D \quad (3),$$

kde η_{zd} je zdánlivá viskozita (není látkovou konstantou, ale závisí na rychlosti deformace nebo tečném napětí)

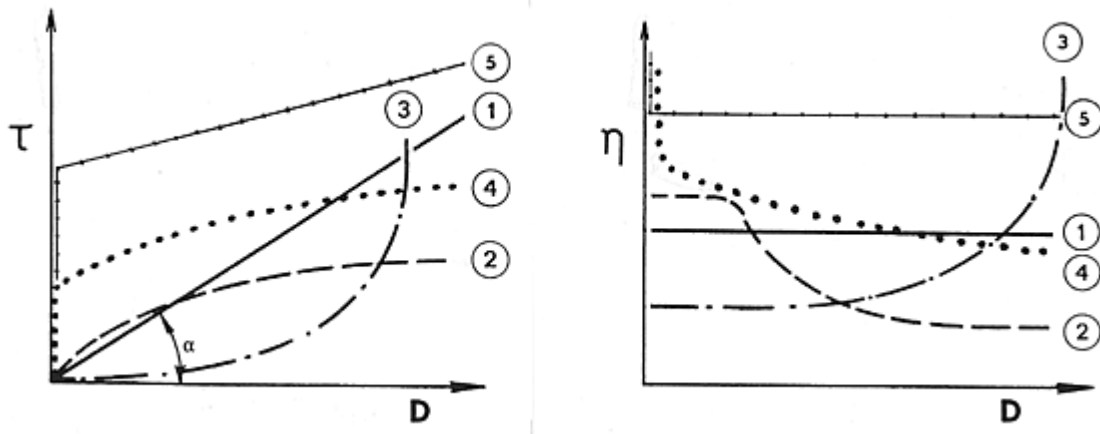


Obrázek 8: Vliv toku na uspořádání částic v nenewtonské kapalině [19]

Rozlišujeme základní typy nenewtonských kapalin:

- Pseudoplastické kapaliny – jejich zdánlivá viskozita se s vrůstajícími deformacemi zmenšuje

- Dilatantní kapaliny - jejich zdánlivá viskozita s rostoucí deformací roste (výjimečné chování)
- Binghamské kapaliny – s plastickou složkou deformace (k toku dochází až po překročení prahového smykového napětí)



Obrázek 9: Tokové a viskozitní charakteristiky některých neneutonských kapalin

1- newtonská kapalina, 2- strukturně viskózní kapalina, 3- dilatantní kapalina, 4- plastická kapalina (pseudoplastická s mezí toku), 5- binghamská kapalina [19]

Viskozita, kromě jiného, nejvíce závisí na teplotě, dále pak na koncentraci – u plynů s rostoucí teplotou stoupá a u kapalin s rostoucí teplotou klesá [19].

3.4.1 Viskoelasticita

Viskoelastické látky jsou obecně přechodem mezi ideálně elastickými a ideálně viskosními látkami. Jsou to materiály, které se za určitých okolností (délkou trvání deformačního procesu) chovají jako vazké kapaliny a za jiných jako pružná tělesa.

Většina reálných látek je charakterizovaná jak viskózním, tak i elastickým chováním. Působíme-li na látku po určitou dobu, sledujeme tři možnosti chování. V tom prvním, pokud přestaneme na testovanou látku působit silou, se vrátí do původního tvaru. Toto chování nazýváme elastické a je charakteristické pro tuhé látky. V druhém případě se testovaná látka nevrátí do původního tvaru po odeznění působící síly. Při mechanickém namáhání dochází k toku zkoumaného materiálu. To je chování viskózní a je charakteristické pro látky kapalné. Třetí je chování viskoelastické, jedná se o kombinaci předešlých zmíněných modelů. Tok, respektive elasticita materiálů, je závislá na míře a době, po kterou na testovanou látku působíme.

Pokud chceme posoudit deformační chování látky, musíme vědět, jak na tyto látky pohlížet – jako na tekutiny nebo jako na pevné látky. Toto rozhodnutí není zdaleka tak jednoznačné, protože všechny látky se určitých podmínek chovají jako tekutiny.

Pro usnadnění můžeme použít tzv. Debořino číslo De , které vyjadřuje rovnice:

$$De = \frac{T}{\Delta t}, \quad (4)$$

kde T je charakteristický čas materiálu (relaxační čas), který vyjadřuje schopnost molekulárního přeskupení; Δt je čas pozorování, po který působíme deformační silou.

Pro $T = \infty \rightarrow De = 0$ se materiál jeví jako pevné látka. Pokud je $T = 0$, pak se Debořino číslo rovná nule a to je charakteristické pro látky kapalné.

Pro měření viskozity se používají různé přístroje: *pádové (tělískové) viskozimetry* (metoda založená na měření rychlosti pádu tělíska v kapalině, jejíž viskozitu určujeme), *průtokové viskozimetry* (metoda založená na Poisseuilově rovnici pro výtok kapaliny z kolmé trubice kruhového průřezu) a *rotační viskozimetry* (vzorek je podrobován smyku mezi dvěma definovanými plochami, z nichž jedna vykonává otáčivý pohyb a vyhodnocuje se brzký účinek vzorku při různých rychlostech oscilací). Na podobném principu pracuje i test mechanických vlastností gelu, tzv. oscilační test [21].

3.4.2 Sledování viskoelastivity

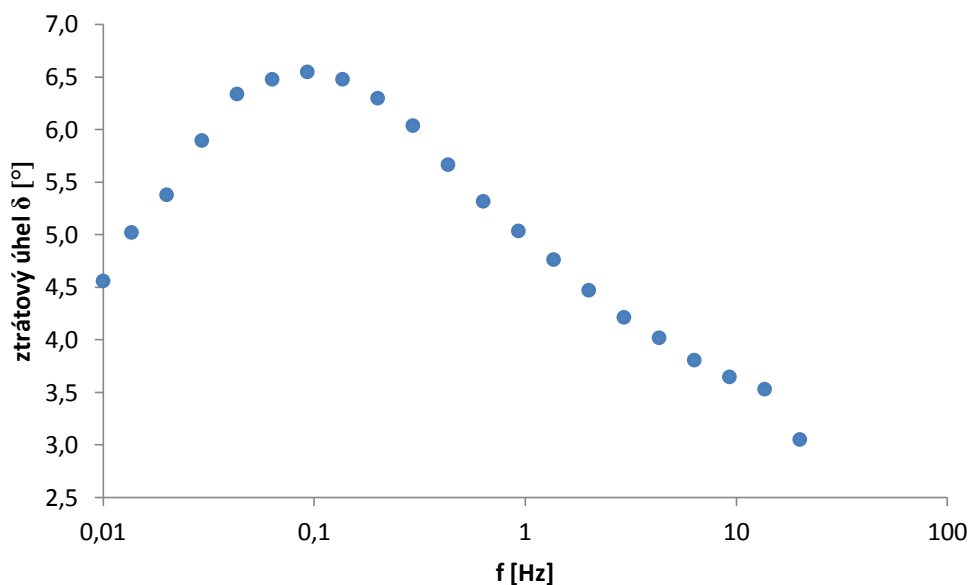
Pro sledování viskoelastivity existuje řada testů, v této práci byly použity testy oscilační, konkrétně se jednalo o frekvenční test a amplitudový test. U frekvenčního testu senzor osciluje s definovanou frekvencí oscilací od největší po nejmenší při konstantní amplitudě deformace, zatímco v případě amplitudového testu je nastavena stejná frekvence a mění se hodnota amplitudy deformace v %. U tohoto testu se sleduje odezva materiálu na mechanické namáhání, čili při jaké amplitudě deformace dochází k nevratnému porušení vazeb držících hydrogely pohromadě, tzn. k poškození pevné struktury gelu. Dochází tedy k nevratné deformaci a vzorek je po tomto testu již dále nepoužitelný. Chování vzorku, na který působí vnější síla, je zaznamenáno. Zaznamenávána je závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací v případě frekvenčního testu a závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace v případě testu amplitudového.

Podílem těchto modulů získáme ztrátový úhel, který nám látku charakterizuje:

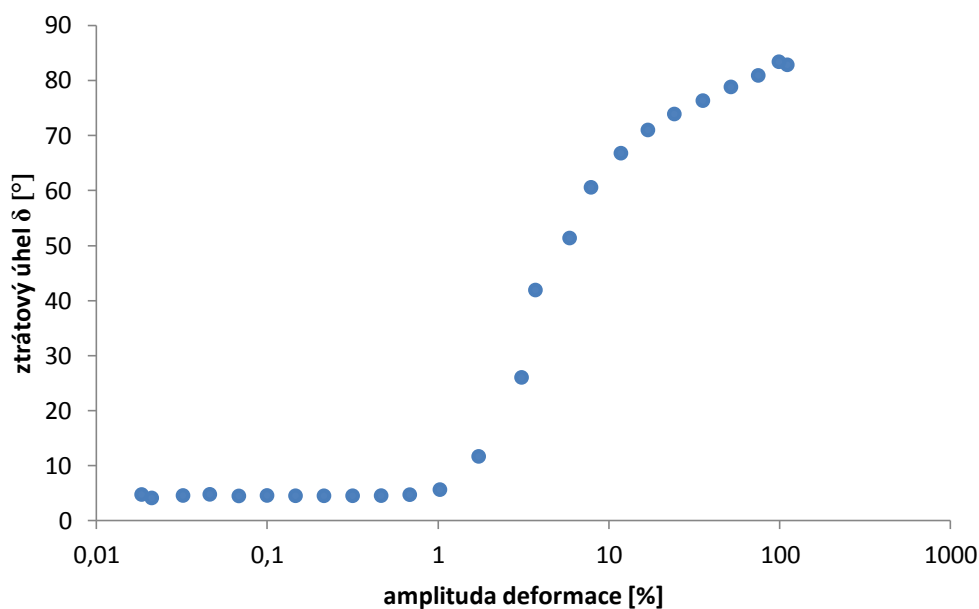
$$\operatorname{tg} \delta = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$

Pokud je tento podíl modulů větší než 1, pak se jedná o látku kapalnou. Je-li menší než 1, jedná se o látku tuhou [21].

Na Obrázku 10 je zaznamenán průběh ztrátového úhlu δ v závislosti jak na frekvenci udávanou v Hz, zatímco na Obrázku 11 je zaznamenán průběh ztrátového úhlu δ v závislosti na amplitudě napětí.



Obrázek 10: Ztrátový úhel v závislosti na frekvenci oscilací



Obrázek 11: Ztrátový úhel závislý na amplitudě deformace

3.5 Metoda DLS

Zkratka DLS pochází z anglického názvu Dynamic Light Scattering. Tato metoda se nazývá rovněž jako foton korelační spektroskopie (PCS). Používá se pro stanovení distribuce malých částic v suspenzi, gelu nebo polymerním roztoku.

Principem této metody je měření intenzity světla rozptýleného molekulami ve vzorku za daný čas. Svítíme-li laserem skrz vzorek, fotony se rozptýlí při kontaktu s částicí. Protože se částice v kapalině pohybují díky Brownovu pohybu, mění se vzdálenost, kterou musí urazit rozptýlené světlo k detektoru. Při obecném rozptylu světla je světlo, rozptýlené od různých částic, v náhodné fázi, takže nedochází k jeho interferenci. Při použití laseru je světlo

koherentní a po jeho interakci s částicemi k interferenci dochází. Rychlost změny intenzity rozptýleného záření přímo závisí na pohybu molekuly, kterou ovlivňuje difúze.

Ze změn intenzit se získává korelační funkce, která představuje vztah mezi průměrem intenzity v čase $(t + \tau)$ a v čase t . V případě kulovitých částic stejných velikostí lze korelační funkci vyjádřit v jednoduchém exponenciálním tvaru:

$$g(\tau) = \exp(-\tau/\tau_c) \quad (6),$$

kde τ_c je úměrný difúznímu koeficientu D částic:

$$\tau_c = \frac{1}{2} D Q^2 \quad (7),$$

kde Q je vlnový vektor.

Vynesením $\ln g(\tau)$ proti τ se získá τ_c . Hydrodynamický poloměr částic R je, za použití Stokes – Einsteinovy rovnice pro difúzní koeficient ($D = kT/6\pi\eta R$), dán vztahem:

$$R = \left(\frac{kT}{6\pi\eta} \right) \cdot Q^2 \tau_c \quad (8).$$

Vzorek by měl být při měření transparentní. Důvodem je to, aby bylo zajištěno, že se každý foton ve vzorku rozptýlí jen jednou (ideální stav).

Metoda DLS byla realizována na přístroji ZetaSizer Nano ZS. Rozmezí, ve kterém je přístroj schopen zaznamenávat velikost částic je od 0,6 nm po 6 μm , po překročení této hranice totiž nedochází k Brownovu pohybu. Tato metoda je neinvazivní, to znamená, že nedochází k poškozování vzorku a vzorek může být měřen vícekrát [22].

4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Mezi materiály, vhodné k přípravě hydrogelů, patří peptidy. V procesu samo – uspořádání peptidu hrají důležitou roli vodíkové vazby, van der Waalsovy síly, hydrofobní, elektrostatické, aromatické a π - π interakce. Autoři článku [23] se ve své práci zabývají hydrogely na bázi peptidů. Ke zkoumání si vybrali peptidy s jedním postranním řetězcem a jejich reakci s Ca^{2+} ionty. Tyto peptidy byly rozpuštěny a z roztoku byl připraven hydrogel, který byl měřen pomocí spektroskopie, TEM (transmisní elektronový mikroskop) a na reometru. Bylo zjištěno, že rozpouštění i chování v hydrogelu je velmi ovlivněno hodnotou pH. Z reologického hlediska byl vzorek zhodnocen jako středně tuhý viskoelastický materiál, jehož mechanické vlastnosti mohou být ovlivňovány změnou koncentrace vápenatých iontů. Díky svým vlastnostem je vhodný v oblasti biomedicínských věd a inženýrství, jako jsou buněčné kultury a tkáňové scaffoldy.

Jak už bylo zmíněno, gely lze vysrážet z jejich solů. Vztahem mezi solem a jeho následným gelem se zabývá práce [24]. Autoři této publikace představují obojí teoretické i experimentální aspekty reologických vlastností a chování při gelaci roztoku boehmitu (ALOOH), který je velmi důležitý při přípravě katalyzátorů a slouží i jako katalytická podpora v petrochemii a v procesech při výrobě ropy. Používá se také jako startovací materiál při přípravě keramických membrán a povrchů. Navzdory mnoha reologickým měřením, existuje jen málo poznatků týkajících se vlivu pH, teploty a koncentrace na roztoky boehmitu. Po přípravě vzorků byla měřena velikost částic, hustota roztoku, pH roztoku a reologické vlastnosti gelu na reometru. Z měření vyplývá, že spojení a vytvoření sítě dochází až po snížení pH, kdy zároveň narůstá hustota a se vzrůstající teplotou viskozita klesá. Z reologického měření vyplývá, že chování se výrazně liší od chování newtonovských kapalin – zpočátku vzorek vykazoval vysokou viskozitu, která postupem času klesala.

Autoři práce [25] zkoumali sol-gel proces u vodného roztoku alginátu. Roztok alginátu byl purifikován dialýzou pomocí celulózní membrány do té doby, dokud hodnoty konduktivity nebyly stejné jak před výměnou, tak i po výměně roztoku. Poté byl roztok filtrován filtrem, který je odolný vůči kyselinám a následně vysušen, aby byl získán přečištěný suchý vzorek. Poté byla stanovována molekulová hmotnost pomocí GPC za použití 0,1M Na_2SO_4 . Vedle toho byl připraven vodný roztok Ca-EDTA, který byl připraven reakcí EDTA a CaCl_2 , oba roztoky byly poté smíchány a pH bylo upraveno na 7 pomocí 0,1M NaOH, kdy vznikl gel. Tento vzorek byl měřen na RFS-II reometru a byla zkoumána jeho viskoelastická. Z výsledků je zřejmé, že viskoelastická vyazuje lineární průběh. Z dalšího měření vyplývá, že modul G'' je vždy vyšší než modul G' , jedná se tedy o látku viskózního charakteru, protože vzorek neobsahoval dostatečné množství Ca^{2+} , které by vedlo k tvorbě trojrozměrné sítě. Autoři se nicméně shodují na tom, že jelikož byl v experimentu použit pouze jeden vzorek alginátu, je potřeba dalšího studia závislosti M/G na bod gelace a kritických exponentů v sol – gel procesu vyvolané Ca^{2+} iontem.

V práci [26] se autoři zabývaly porovnáním metody dynamického rozptylu světla (korelační křivky), reologie (modul G') a spekropolarimetru (CD) a zkoumali, co nejvíce ovlivňuje pevnost gelu. Zkoumali vliv teploty na prostorové uspořádání v agaróze tím, jak se měnily její elastické vlastnosti. Je obecně známo, že klastry agarosy jsou sestavené z dvojité šroubovice. Hodně vazeb, které tyto klusty spojují, se mohou v blízkosti bodu gelace nashromáždit

a vytvořit jemnou síťovou strukturu. Zároveň jsou známy tři modely chování z přechodu ze solu na gel navrhované autory De Gennes (1979) a Staufferem, Conigliem a Adamem (1982). Podle autorů je nejvhodnější třetí model, protože vazby mezi klastry se mohou deformovat tak snadno, že elastický modul gelu je určen především rozmístěním klastrů.

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie

agarosa, p.a. (Sigma Aldrich, Co.), CAS číslo = 9012-36-6

demineralizovaná voda (Milli-Q)

destilovaná voda

polystyrenový částicový standard, p.a. (Sigma Aldrich, Co.), (100 nm, 500 nm, 1000 nm a 2000 nm)

5.2 Používané přístroje

reometr - ARG2 Rheometer (TA) Instruments

DLS – ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instrument)

topná deska ETA 2107

analytické váhy Scaltec

váhy Schaltec, SPB 42

digitální teploměr GMH 175 Greisinger

5.3 Reologie

5.3.1 Příprava hydrogelu agarosy pro reologii

Pro přípravu hydrogelu bylo potřeba navážít přesné množství agarosy. Navážka agarosy se odvíjela podle požadované koncentrace. Konkrétně byly připravovány hydrogely s následujícími koncentracemi agarózy, které uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2: Koncentrace agarózy s jednotlivými navážkami

Koncentrace agarózy [%]	Objem roztoku [ml]	Navážka agarózy [g]
0,01	20	0,002
0,05		0,01
0,1		0,02
1		0,2

Do kádinky s požadovanou navážkou suché agarosy byl přidán potřebný objem destilované vody, tak aby bylo dosaženo požadované koncentrace agarózy. Takto vzniklý roztok byl zahříván na topné desce se sítkou a jeho teplota byla sledována pomocí přenosného digitálního teploměru do doby, kdy teplota roztoku nedosáhla hranice 85 °C. Suspenze agarózy ve vodě byla během zahřívání kontinuálně míchána skleněnou tyčinkou. V okamžiku, kdy teplota dosáhla kritické rozpouštěcí hodnoty 85 °C, byl roztok již čirý, bez viditelných známek nerozpuštěných částic. Poté byl roztok ponechán 40 – 45 minut při laboratorní teplotě, kde postupně chladnul za laboratorní teploty a po překročení bodu gelace se vytvořil gel.

5.3.2 Viskoelastické testy

Oscilační viskoelastické testy pro všechny připravené vzorky byly prováděny na reometru uvedeném v kapitole 5.2. Jako senzor byla použita ocelová geometrie typu deska/deska s průměrem 40 mm.

Před nanesením vzorku byl přístroj nastaven a nakalibrován podle postupu.

Prvním testem, kterému byly hydrogelové vzorky podrobeny, byl test amplitudový deformační. Při tomto testu je vzorek vystaven konstantní frekvenci oscilací při měnící se amplitudě deformace. Hlavním důvodem tohoto testu bylo zjištění tzv. lineární viskoelastické oblasti (LVO), z níž byla následně vybrána vhodná amplituda deformace pro další oscilační testy. Experimentální nastavení testu bylo následující: amplituda deformací byla nastavena v rozmezí 0,01 – 100 %. Frekvence oscilací byla nastavena 0,5 Hz. Experiment byl proveden při teplotě 25 °C.

Viskoelastické vlastnosti byly měřeny pomocí oscilačního testu, při kterém byla stanovena konstantní hodnota amplitudy deformace na 0,05 % a měřena byla odezva elastického a viskózního modulu. Parametry: rozsah frekvence od 20 – 0,01 Hz, temperováno na 25 °C a normálová síla na stlačení vzorky byla opět 6 N.

5.3.3 Popis jednotlivých experimentů

Nejprve byla měřená degradabilita vzorku v závislosti na čase, byly tedy stanovovány mechanické vlastnosti po určité době a jestli si udržel či ztratil svou stabilitu. Vzorek jednoprocenní agarózy, připravený postupem uvedeným v kapitole 5.3.1, byl ponechán ve vodném prostředí a uchován tak, aby nedocházelo k jeho vysušování. Po uplynutí stanovené doby, která byla určena na dva, sedm a devět dní, byl vzorek měřen viskoelastickými testy, které jsou popsány v předcházející kapitole.

Pro další měření byly připraveny všechny koncentrace uvedené v tabulce v kapitole 5.3.1. Všechny tyto hydrogely byly měřeny ihned po ztuhnutí, tzn. asi 40 minut od přípravy gelu, aby byly ve stejném stavu a nedocházelo k odchylkám měření, které by mohly být způsobeny časovými prodlevami. Všechny vzorky byly měřeny třikrát viskoelastickými testy a byly stanoveny viskoelastické moduly.

Následně byl zkoumán teplotní sken hydrogelů při různých teplotách a to při 25 °C, 40 °C a 50 °C. Pro tento účel byly připraveny dva vzorky o koncentracích agarózy 0,1 % a 1 %. Viskoelastické testy byly nastaveny stejným způsobem, jako u všech předchozích měření, ale jako požadovaná teplota měření byla zvolena jiná hodnota (40 °C a 50 °C) a tyto teploty byly následně nastaveny k jednotlivým testům.

Jako poslední byla zkoumána teplotní závislost. Opět byly připraveny dva vzorky hydrogelu o koncentracích agarózy 0,1 % a 1 %. Nastavení experimentu bylo následující: pro počáteční vyrovnání teploty (25 °C) byla nastavena doba tří minut, teplota vzrůstala od 20 °C do 90 °C, s teplotním intervalem 5 °C, doba na vyrovnání při jednotlivých přechodech byla nastavena na 30. Při tomto měření byla stanovena teplota tání hydrogelu. Pro další měření bylo nastavení stejné, ale připravené vzorky hydrogelů byly měřeny sestupně, tedy od 90 °C do 20 °C, kde se hledala teplota, kdy dochází ke gelaci.

Všechna data byla poté ze softwaru reometru exportována do programu Excel a vyhodnocena do grafů.

5.4 DLS

5.4.1 Příprava hydrogelu agarosy pro DLS

Nejprve byl připraven standardní roztok polystyrenových nanočástic o velikostech 100, 500, 1000 a 2000 nm. Roztok byl připraven smícháním 10 μ l polystyrenových částic a 10 ml demineralizované vody ve vialce.

Poté bylo naváženo potřebné množství agarosy. Následně byl přidán roztok o objemu 5 ml ve složení: 3 ml destilované vody + 2 ml roztoku standardu s polystyrenovými částicemi. Poměr přídatku vody ku roztoku standardu byl zjištěn na základě výsledků uvedených v kapitole 6.2.1. Tento poměr se pro účely měření jevil jako nejvhodnější.

Tento roztok byl zahříván na topné desce a ručním teploměrem byla sledována teplota opět do teploty 85 °C. Kyveta, používaná na měření, byla také zahřívána v kádince s vodou na tuto teplotu a to proto, aby roztok nezačal předčasně gelovat při styku se studenou stěnou kyvety.

5.4.2 Optimalizace metody

Nejprve bylo potřeba optimalizovat měřicí metodu. Nejdříve byly vzorky měřeny pouze z hlediska velikosti částic s teorií, že když se jednotlivé řetězce budou zaplétat, začnou vznikat větší agregáty až do bodu, kdy je nárůst nejmarkantnější a tento bod by byl stanoven jako bod gelace. Z výsledků měření touto metodou bylo usouzeno, že touto metodou nelze pomocí DLS stanovit bod gelace agarózy. Jako nejvhodnější náhrada byla stanovena optimalizace pomocí polystyrenových nanočástic, u kterých byl sledován difúzní koeficient. V čirém solu byl maximální a s postupnou tvorbou větších agregátů se snižoval do bodu, kdy došlo k výraznému snížení difúzního koeficientu a tento bod byl označen za bod gelace.

5.4.3 Optimalizace poměru PS částic v měřeném vzorku

Jako první bylo potřeba stanovit optimální množství přídatku s PS částic, tak, aby byl zachován celkový objem roztoku (a tím zachována koncentrace agarózy) a aby zároveň byl patrný bod gelace. Byl připraven standardní roztok 100 nm PS částic. Příprava roztoku standardu byla následující: bylo napipetováno 10 μ l 100 nmPS částic ze zásobní lahvičky do vialky a k tomuto objemu bylo přidáno 10 ml demineralizované vody. Následně byl poměr standardu a destilované vody upravován podle následující tabulky.

Tabulka 3: Poměr objemu standardu PS částic ku objemu destilované vody

Celkový objem [ml]	100 nm PS částic [ml]	Objem vody [ml]
5	0,1	4,9
	0,5	4,5
	1	4
	2	3

Při tomto měření bylo nastavení přístroje následující: jako typ měření byla zvolena velikost (size), materiál – polystyren latex, jako rozpouštědlo (dispersant) byla nastavena voda (nutné pro následný výpočet difúzního koeficientu, protože při tomto výběru je automaticky zadána viskozita prostředí), teplota měření byla nastavena na 25 °C, pro typ kyvet byly zvoleny

klasické skleněné (glass cuvette), počet měření byl nastaven na 80 a pozice pro měření v kyvetě byla nastavena na 1 mm od stěny kyvety.

Z výsledků těchto měření (viz kapitola 6.2.1) byl vybrán jako nejvhodnější poslední měřený poměr standardu PS částic ku destilované vodě, který byl poté používán u všech následujících měření.

5.4.4 Měření difúzního koeficientu za použití různých velikostí PS částic

Další část experimentu se týkala měření difúzního koeficientu, kdy byly vzorky PS částicových standardů o různých certifikovaných velikostech. Příprava standardního roztoku byla stejná, jako u předchozího měření (k 10 μ l roztoku PS částic ve vialce bylo přidáno 10 ml demineralizované vody). Do kádinky byla navážena potřebná navážka agarózy a tento prášek byl zalit nejdříve destilovanou vodou a následně standardním roztokem o vybraném poměru. Tento vzorek byl zahříván na teplotu 85 °C pomocí digitálního teploměru a celá suspenze byla během zahřívání míchána skleněnou tyčinkou. Horký vzorek se poté přelil do kyvety a ta byla vložena do předem vyhřátého přístroje.

Nastavení přístroje bylo následující: V softwaru byl nastaven přístroj na měření – teplotní trend. Nastavení teplotního rozsahu: teplota klesala od 85 °C do 35 °C a následně byl rozsah upraven do 30 °C (z výsledků totiž vyplývalo, že původní rozsah byl nedostačující a pro zjištění teploty gelace bylo potřeba spodní hranici snížit), interval klesání byl nastaven na 5 °C. Parametry vlastního nastavení měření byly následující: čas na temperaci vzorku byl nastaven na 60 sekund, celkový počet měření u každého kroku byl nastaven na tři, přičemž každé toto měření se skládalo z pěti dílčích za časový interval 10 sekund. Měřicí poloha v kyvetě, kde byl detekován rozptyl světla, byla nastavena fixně na 1 mm od stěny kyvety.

5.4.5 Difúzní koeficient v závislosti na koncentraci agarózy

V dalším pokračování experimentu byl sledován vliv koncentrace agarózy na difúzní koeficient 100 nm PS částic v roztoku vzorku.

Pro tato měření byla připravena následující koncentrační řada:

Tabulka 4: Koncentrační řada

Celkový objem [ml]	Koncentrace [%]	Navážka [g]
5	0,01	0,0005
	0,05	0,0025
	0,1	0,005
	1	0,05

Opět, jako v předešlém měření, bylo k navážce v kádince přidáno potřebné množství destilované vody a následně standardu PS částic. Protože se u nízkých koncentrací pracovalo a velmi malými navážkami, bylo nutné tyto navážky navážít na analytických vahách.

Z předchozího měření byl vyhodnocen difúzní koeficient pro 100 nm PS částice jako nejlepší a nejlépe pozorovatelný. Proto byly tyto částice vybrány i pro tuto část experimentu.

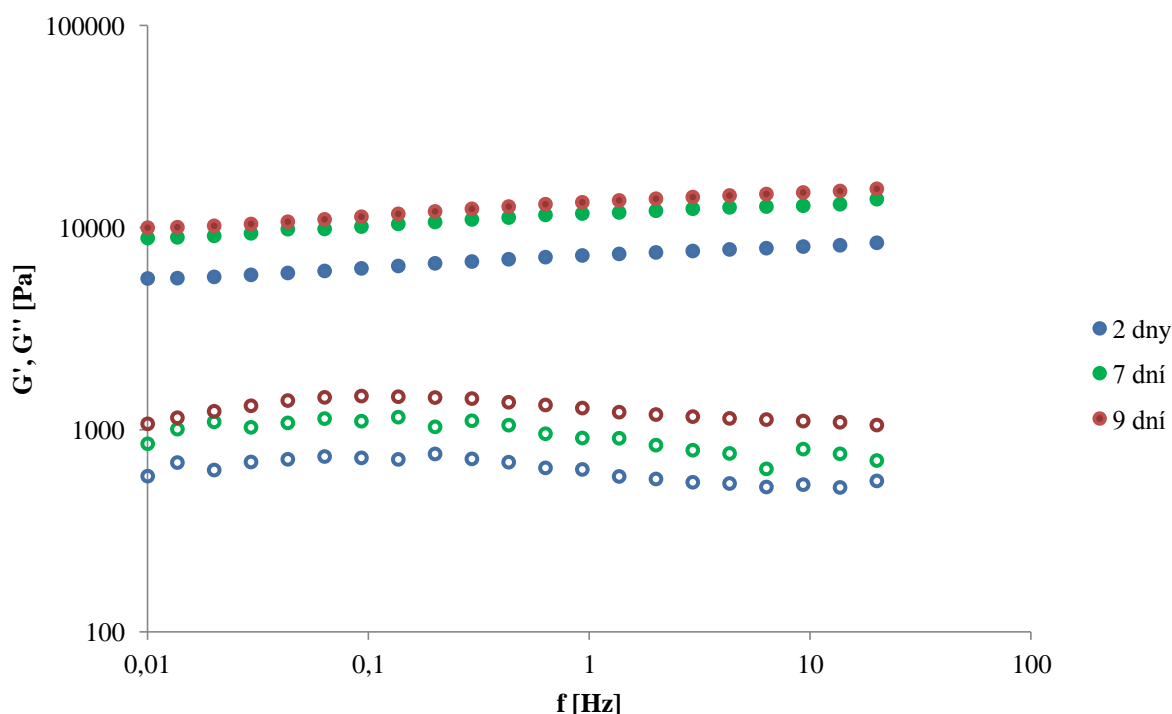
Nastavení přístroje bylo stejné jako u předchozího měření.

6 DISKUZE A VÝSLEDKY

6.1 Reologie

6.1.1 Vliv stárnutí agarózových gelů na jejich mechanické vlastnosti

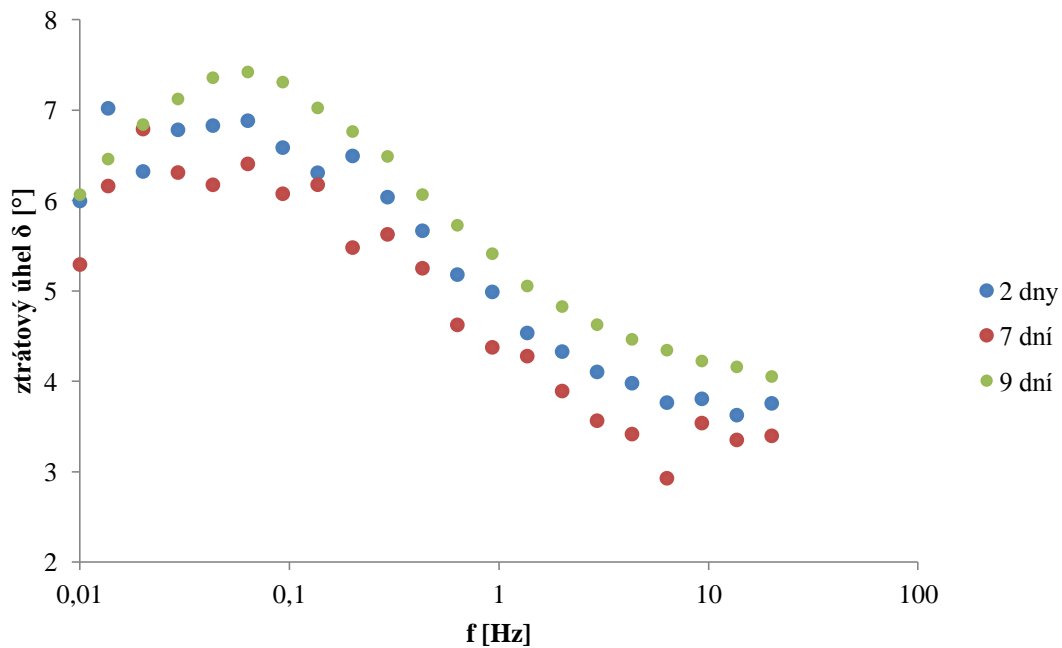
Jako první byla sledována změna mechanických vlastností gelu pomocí jednoduchých oscilačních testů od doby přípravy do okamžiku vlastního měření. Hlavní motivací k tomuto experimentu byl fakt, že agarózové gely jsou již poměrně dlouho využívány na půdě FCH VUT ke studiu transportu rozličných sloučenin přes právě tyto gely. Transportní vlastnosti hydrogelů jsou významnou měrou ovlivněny právě změnou mechanických vlastností. Hlavním úkolem tohoto dílčího cíle bakalářské práce tedy bylo ověřit, zda rostoucí doba od přípravy hydrogelu má vliv na mechanické vlastnosti. Protože není agarózový gel nijak korozivní byl použit ocelový senzor typu deska/deska. V následujících grafech je zaznamenán průběh modulů G' a G'' a závislosti na frekvenci oscilací, viz kapitola 5.3.2. Z jejich průběhu je patrné, že se gel vyznačuje chováním viskoelastické, kde je elastický modul G' téměř až o řád vyšší, než je tomu u modulu viskózního (G''), lze tedy tvrdit, že se jedná o materiály spíše elastického charakteru.



Obrázek 12: Závislost viskózního a elastického modulu na frekvenci oscilací po dvou, sedmi a devíti dnech, pro lepší přehlednost plné body symbolizují elastický modul a prázdné body symbolizují viskózní modul.

Jak je z uvedeného Obrázku 12 patrné, nedošlo k výraznější změně mechanických vlastností vzorku ani po devíti dnech. Nedochozí tedy k stárnutí a postupné degradaci vzorku, z čehož lze usuzovat, že je vnitřní struktura stabilní. Pro přesnější stanovení by bylo ale vhodné změřit vzorek po delším časovém úseku, například po měsíci, abychom se ujistili, jestli je vzorek opravdu stabilní a svou stabilitu si s časem udržuje. Ovšem pro účely studia

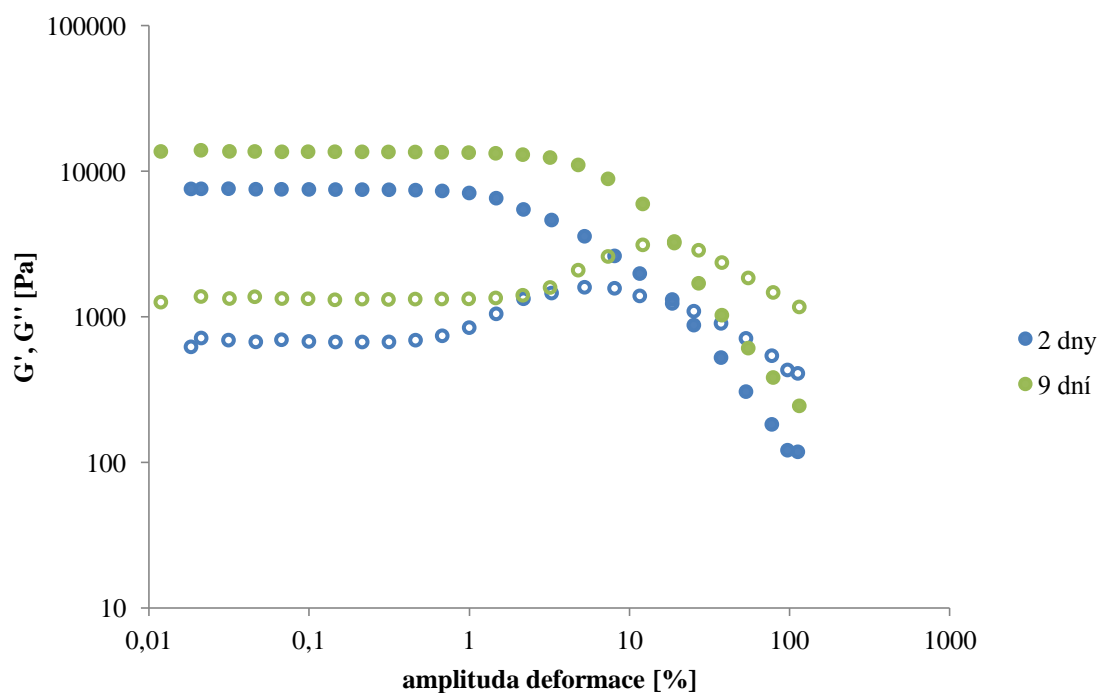
reaktivity biopolymerů za využití agarózových matric je toto měření zcela dostačující a prokázalo, že nedochází ke změně mechanických vlastností v průběhu experimentu.



Obrázek 13: Závislost ztrátového úhlu na měnící se frekvenci oscilací.

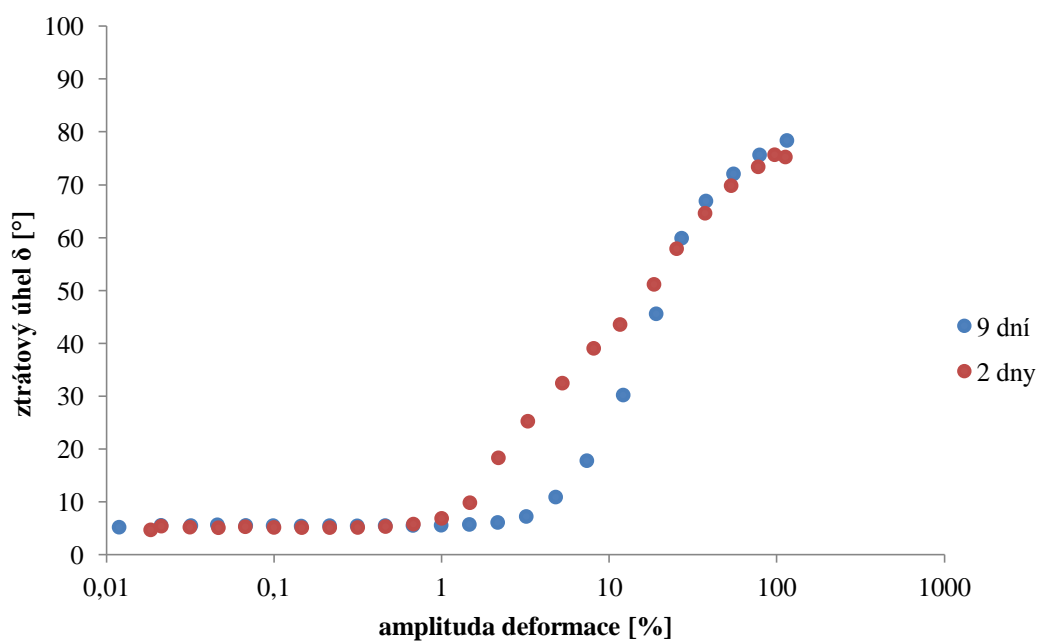
Z Obrázku 13 vyplývá, že ani ztrátový úhel δ (jehož teorie je popsána v kapitole 3.4.2) se v průběhu rostoucí doby od přípravy gelu výrazně nemění. Z průběhu obrázku grafu lze vyčíst, že při nízkých frekvencích oscilací je ztrátový úhel nejvyšší a se zvyšováním frekvence oscilací se postupně snižuje. Je to dáno tím, že hydrogely jsou při nižších frekvencích oscilací viskóznější než při frekvenci vyšších. Ovšem i v tomto případě je hodnota ztrátového úhlu v celém měřeném rozsahu frekvencí oscilací na nízké hodnotě, což odpovídá elastickému chování zkoumaných hydrogelů.

Co se týče druhého testu, kterým je závislost modulů G' a G'' na amplitudě deformace, je z následujících grafů patrné, že dochází k posunu lineární viskoelastické oblasti v případě vzorku v devátém dnu od přípravy vzorku, jak ukazuje Obrázek 14.



Obrázek 14: Závislost viskózního a elastického modulu na amplitudě deformace pro druhý a devátý den, pro lepší přehlednost plné body symbolizují elastický modul a prázdné body symbolizují viskózní modul.

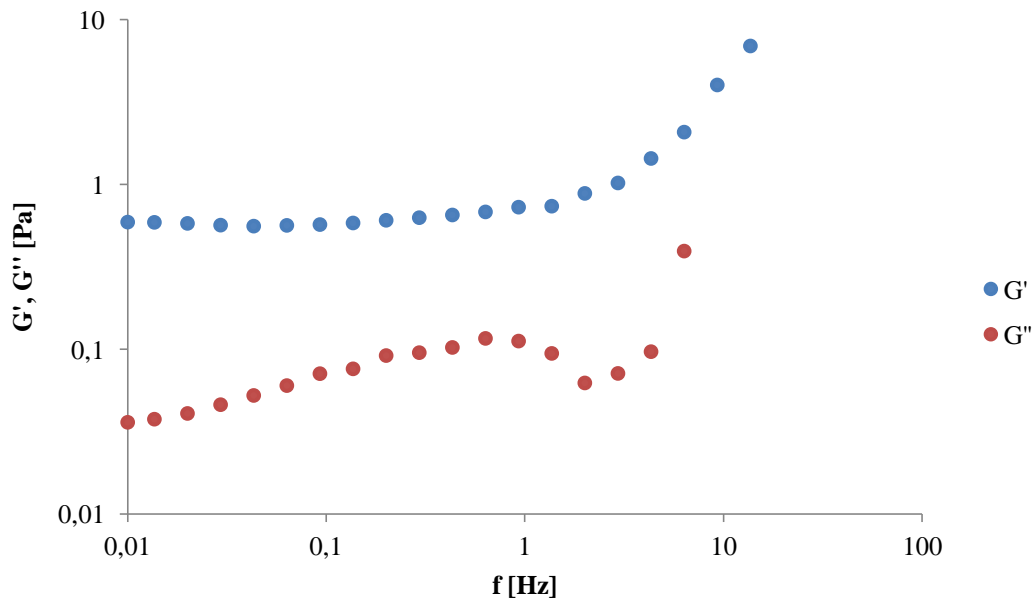
Ztrátový úhel δ v Obrázku 15 vychází s lineárním stoupáním pouze pro druhý a devátý den měření, u sedmého dne je průběh stejný, ale pro přehlednost obrázku grafu byl vynechán.



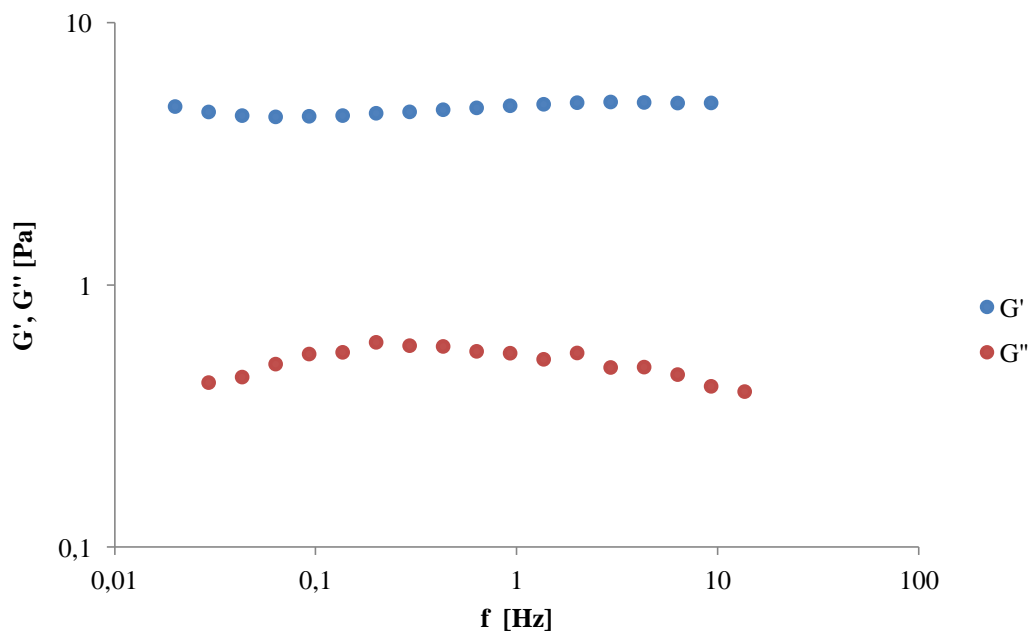
Obrázek 15: Závislost ztrátového úhlu agarózového hydrogelu na měnící se amplitudě deformace pro druhý a devátý od přípravy.

6.1.2 Studium vlivu koncentrace agarózy na mechanické vlastnosti gelů

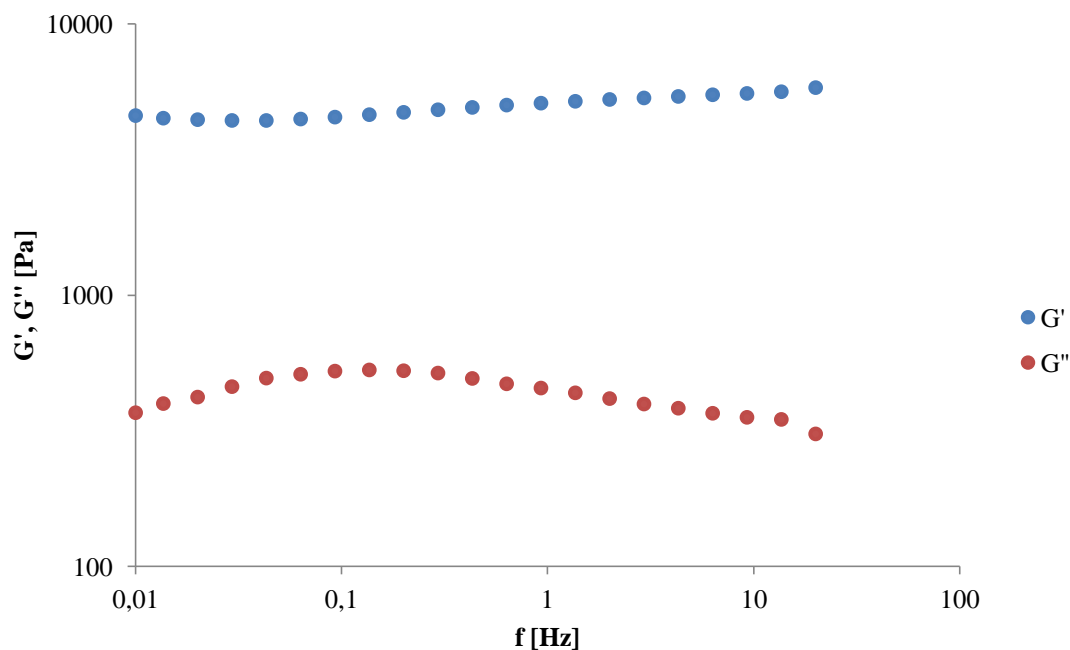
Byla připravena koncentrační řada agarózového hydrogelu o koncentracích 0,01 %, 0,05 %, 0,1 % a 1 %. Tyto vzorky byly proměřeny stejnými testy se stejným nastavením jako v předchozím případě. Z průběhů všech uvedených grafů je patrné, že elastický modul je opět vyšší než modul viskózní, jedná se tedy o látku gelové povahy. U koncentrace 0,01 % je u vyšší frekvence oscilací patrné výrazné zvýšení obou modulů od jejich předchozího lineárního průběhu.



Obrázek 16: Závislost viskoelastických modulů na změně frekvence oscilací pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,01 %.

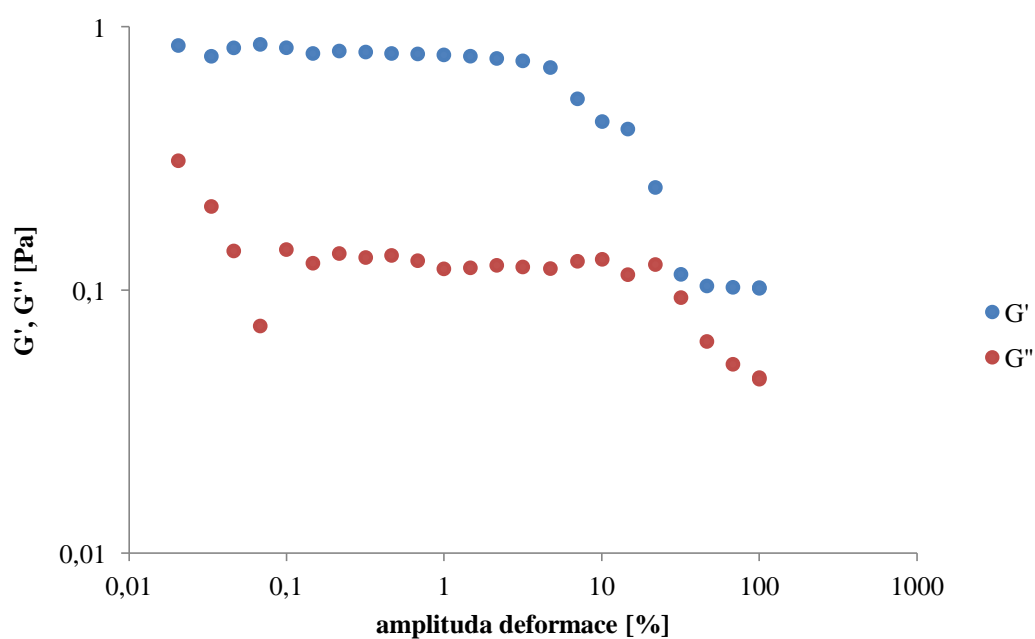


Obrázek 17: Závislost viskoelastických modulů na změně frekvence oscilací pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,1 %.

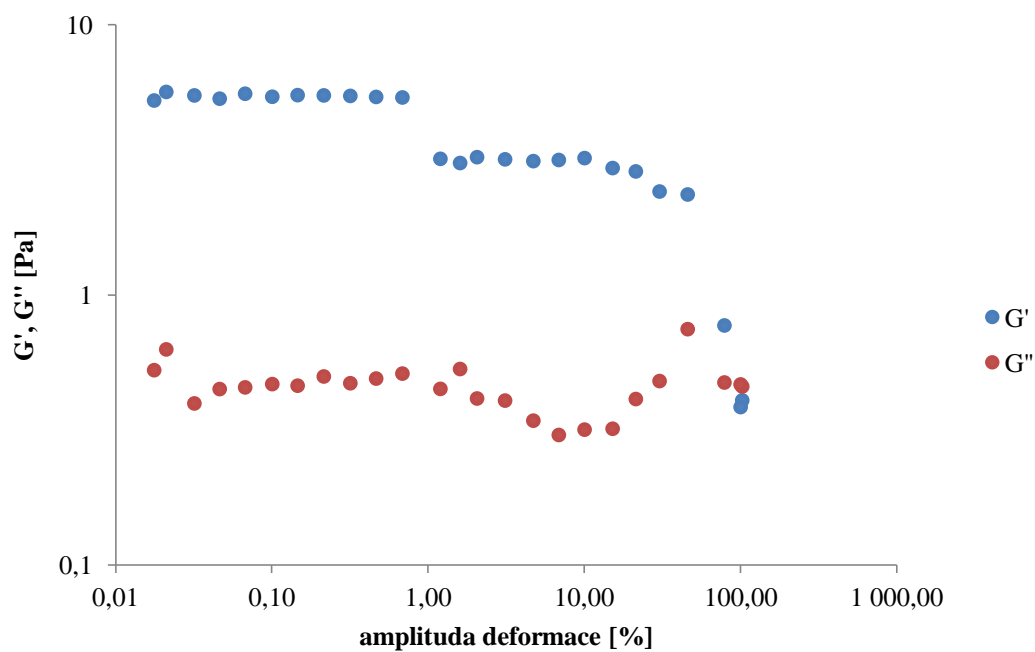


Obrázek 18: Závislost viskoelastických modulů na změně frekvence oscilací pro agarózový hydrogel o koncentraci 1 %.

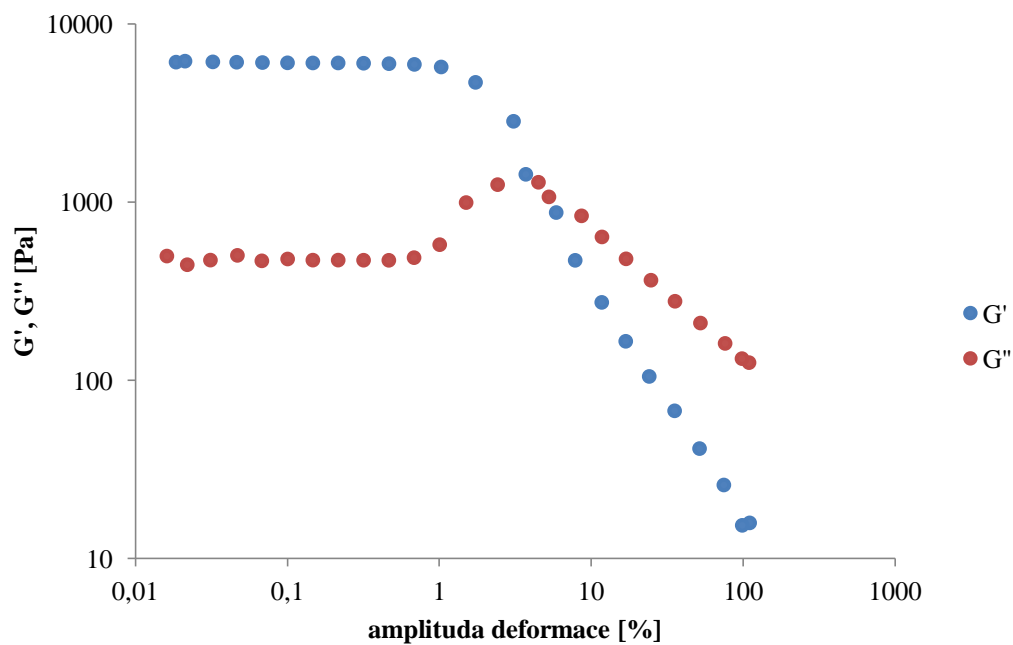
V následujících obrázcích je zaznamenána závislost elastického a viskózního modulu na změně amplitudové deformace, ze kterých vyplývá, že s rostoucí koncentrací dochází k výraznému nárůstu hodnot obou modulů, protože přecházíme do míst s hustější vnitřní sítí, kde je více na sebe vázaných částic. I v nízkých koncentracích je ale modul G' pořád vyšší než G'' , takže i při tak nízké koncentraci, jako je 0,01 % můžeme mluvit o látce elastického, i když viskozita je oproti vyšším koncentracím logicky o hodně nižší.



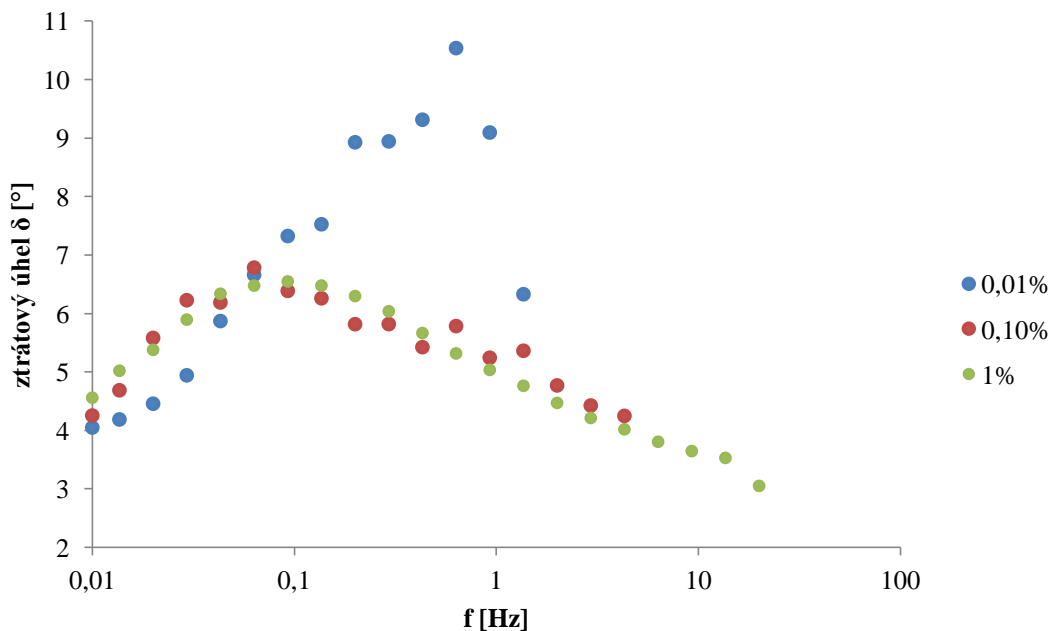
Obrázek 19: Závislost viskoelastických modulů na změně amplitudy deformace pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,01 %.



Obrázek 20: Závislost viskoelastických modulů na změně amplitudě deformace pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,1 %.



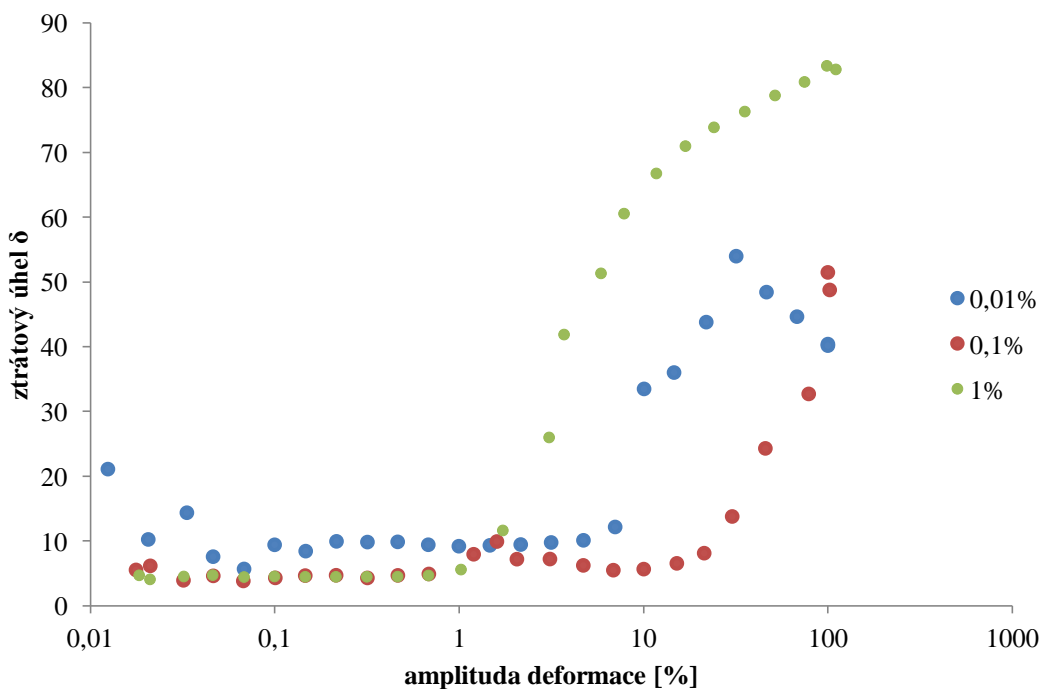
Obrázek 21: Závislost viskoelastických modulů na změně amplitudě deformace pro agarózový hydrogel o koncentraci 1 %



Obrázek 22: Závislost ztrátového úhlu na měnící se frekvenci oscilací pro různě koncentrované agarózové gely.

Pro ztrátový úhel δ z Obrázku 22 platí, že při koncentraci 0,01 % dochází k prudšímu nárůstu hodnoty ztrátového úhlu δ s frekvencí oscilací, než je tomu u koncentrací 0,1 % a 1 %. U těchto koncentrací je průběh přibližně stejný, kde od určité hodnoty ztrátového úhlu δ dochází k lineárnímu snižování.

Z průběhu Obrázku 23 je patrné, že při nízkých amplitudách deformace je i ztrátový úhel nízký. Po překročení určité hodnoty amplitudy deformace dochází k výraznému nárůstu hodnoty ztrátového úhlu δ .



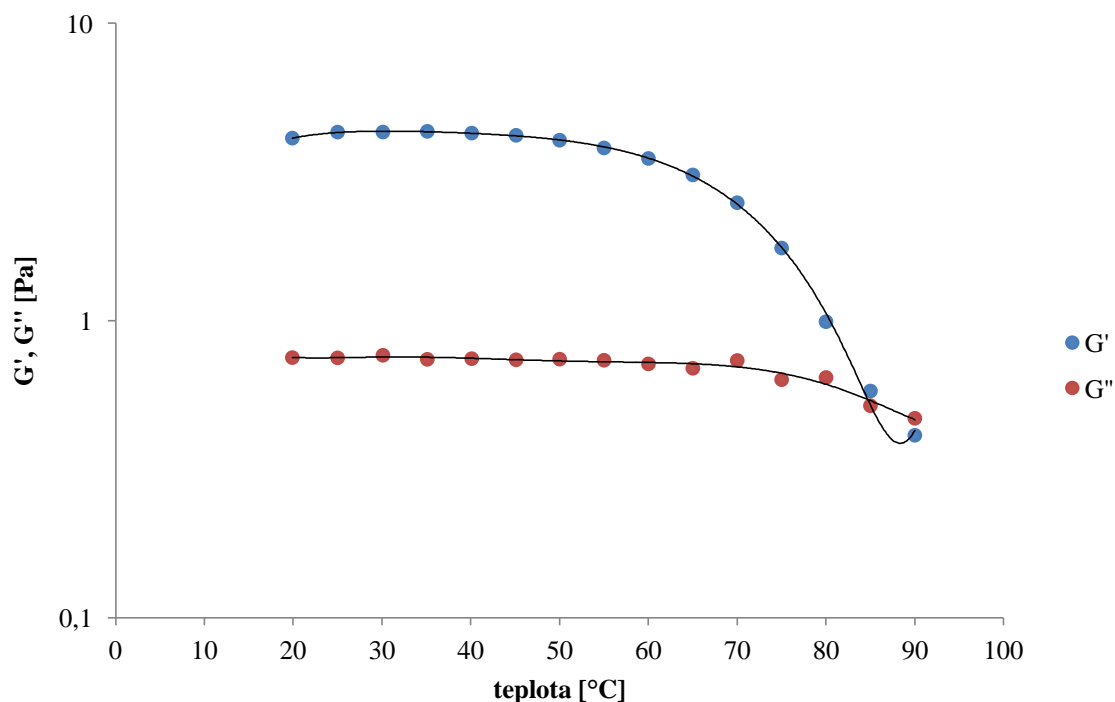
Obrázek 23: Závislost ztrátového úhlu na měnící se amplitudě deformace pro různě koncentrované agarózové gely.

6.1.3 Stanovení teploty tání agarózových hydrogelů

Jedním z majoritních cílů této bakalářské práce bylo stanovení teploty gelace a tání lineárního polysacharidu agarózy. Teplota byla stanovována pomocí teplotního skenu, který byl proveden při konstantní amplitudě deformace a také konstantní frekvenci oscilací (viz kapitola 5).

Po změření teplotní závislosti ve směru od 20 °C do 90 °C byl vynesena graf a jednotlivé body byly proloženy spojnicí trendu. Z průběhů obou vykreslených křivek byl stanoven průsečík, jehož hodnota reprezentuje teplotu tání. V místě protnutí, tzv. cross pointu, dochází ke změně mechanických vlastností zkoumaného hydrogelu. Na jedné straně od tohoto bodu se jedná o viskózní charakter látky a na druhé straně se jedná o elastický charakter. Měření bylo opakováno dvakrát, aby se prokázala opakovatelnost pokusu a přesnost jeho měření, což byl jeden z bodů zadání bakalářské práce.

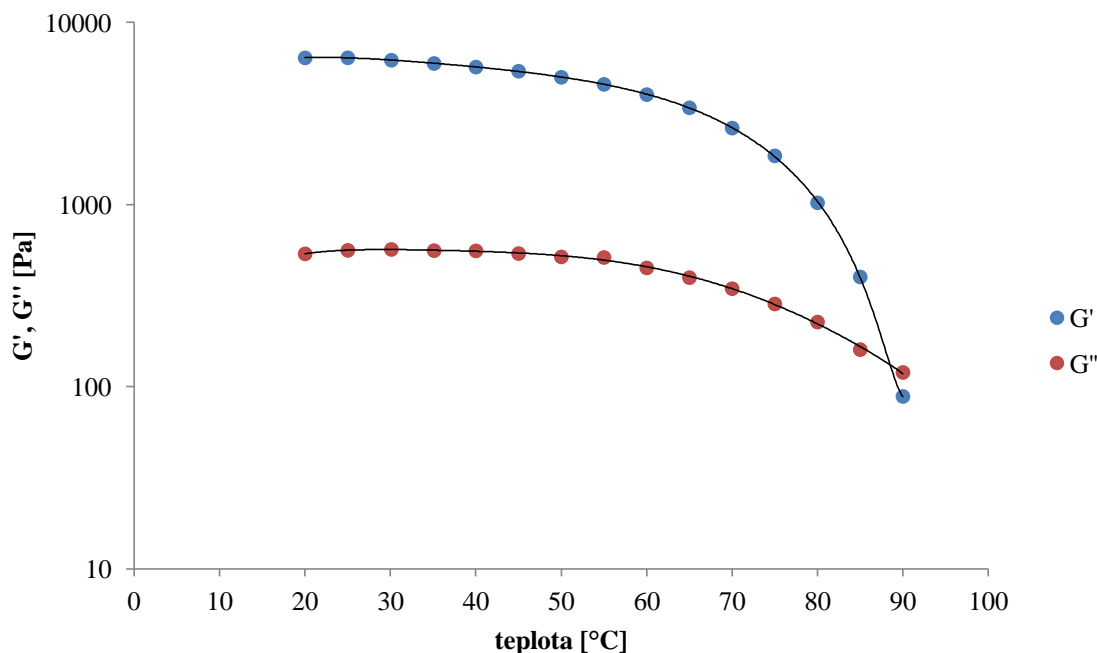
Byly měřeny dva vzorky a to 0,1 % a 1 % koncentrace agarózy. Opakovatelnost tedy byla zjišťována nejen v rámci jedné koncentrace vzorku, ale i napříč koncentrační řadou. Jako první tedy byla zjišťována teplota tání u 0,1 % koncentrace hydrogelu agarózy. Jak už bylo řečeno, byly vyneseny body charakterizující závislost viskoelastických modulů na teplotě a tyto body byly propojeny spojnicí trendu tak, aby vzniknul průsečík. Tento průsečík byl matematicky stanoven na hodnotu 84,8 °C u prvního měření 0,1 % gelu a na hodnotu 85 °C u druhého měření, což prokazuje opakovatelnost pokusu. Tento bod tání vyhodnocený z mého měření je také velmi blízký teplotě tání, kterou výrobce uvádí na obalu u agarového prášku.



Obrázek 24: Závislost viskoelastických modulů na změně teploty pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,1 %.

Poté byl připraven vzorek 1 % agarózy a byl měřen stejným postupem jako u 0,1 % agarózy. Vynesené body v grafu byly opět proloženy spojnici trendu. Po přepočítání byl stanoven bod tání u prvního měření na 88,5 °C a u druhého měření na 87,6 °C.

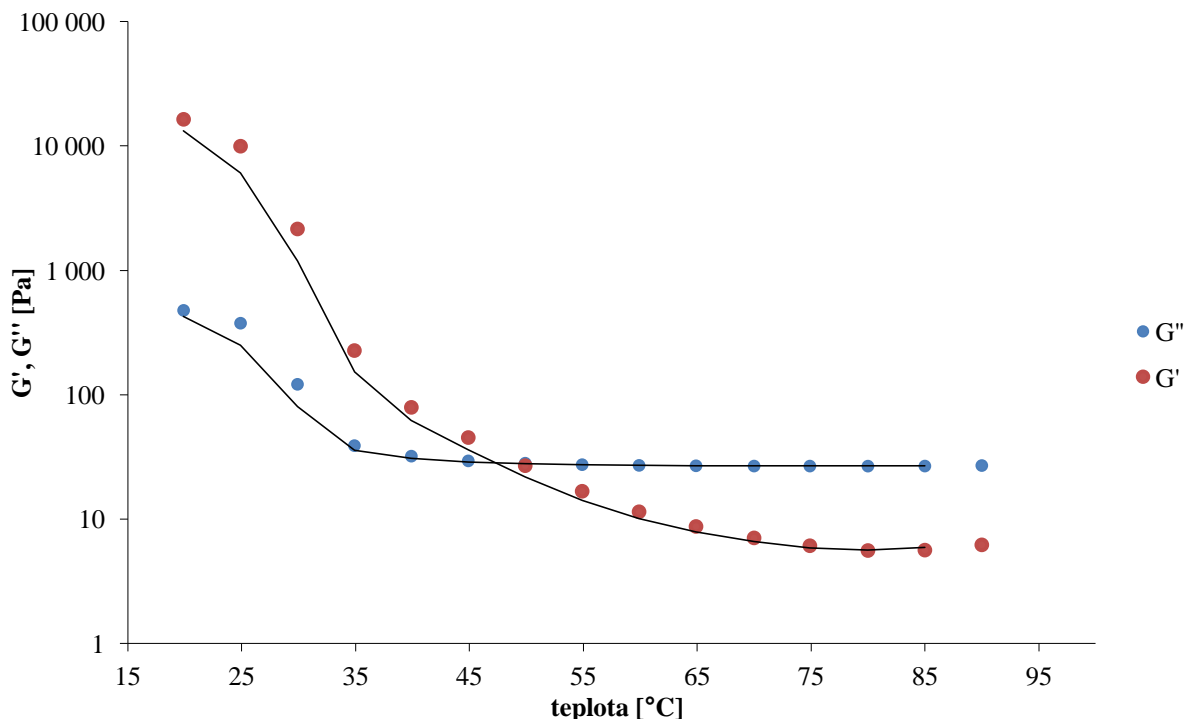
Pro přehlednost byly uvedeny obrázky pouze pro jedno měření.



Obrázek 25: Závislost viskoelastických modulů na změně teploty pro agarózový hydrogel o koncentraci 1 %.

Pro další, ve své postatě odlišné, měření byl použit už jen jeden vzorek hydrogelu o koncentraci agarózy 1 %, protože tato koncentrace je běžně a nejčastěji využívaná pro separační účely. Pro tento vzorek byla ovšem nastavena jiná procedura – vzorek byl měřen obráceným postupem, než jak tomu bylo u předešlého vzorku hydrogelu a to ve směru sestupném, tedy od 90 °C do 20 °C, kdy dochází k zaplétání jednotlivých řetězců do složitější struktury a tím pádem šlo o stanovení teploty gelace. V předchozím případě šlo o opačný postup, tedy o rozplétání systému na jednotlivé řetězce a šlo tedy o zjištění teploty tání. Zbytek nastavení přístroje byl stejný jako v předchozím měření.

Naměřená data byla vynesena do grafu a proložena křivkou charakterizující průběh závislosti viskoelastických modulů na změně teploty. Jak je z Obrázku 26 patrné, při snižování teploty došlo k nárůstu obou modulů. U vysokých teplot je modul G'' vyšší než modul G' , což vypovídá o tom, že se jedná o látku viskózního charakteru. Se snižující se teplotou dochází k růstu modulu G' , zatímco modul G'' vykazuje lineární průběh. Vzniknul tak průsečík, který lze považovat za bod gelace pro koncentraci agarózy 1 % a po této teplotě vykazuje látka elastický charakter (G' je vyšší než G'').



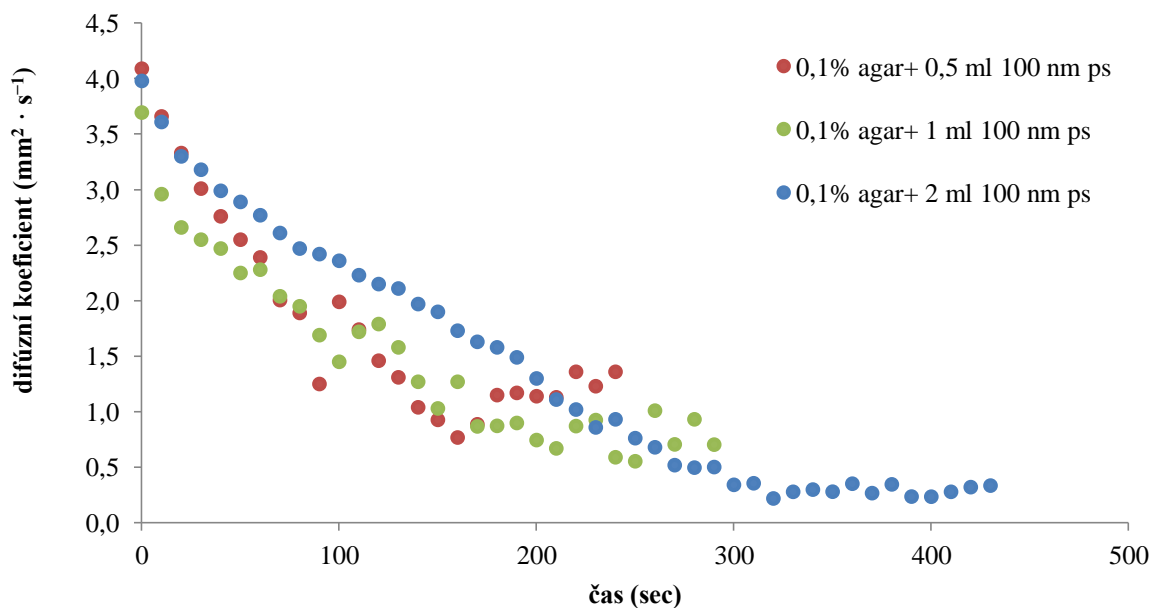
Obrázek 26: Závislost viskoelastických modulů na změně teploty pro koncentraci agarózy 1 %

Jak již bylo řečeno, z průběhů obou křivek vznikl průsečík charakterizující teplotu gelace. Toto měření bylo několikrát opakováno, ale pro přehlednost je uveden pouze jeden obrázek grafu. Pro hydrogel o koncentraci agarózy 1 % byla stanovena hodnota gelace 47 °C.

6.2 Dynamický rozptyl světla

6.2.1 Optimalizace množství PS částic pro DLS analýzu

Před samotným měřením bodu gelace bylo nutné optimalizovat množství PS částic využitelných pro analýzu. Výsledky této části práce jsou uvedeny v Obrázku 27. V této části práce byl použit vzorek agarózového hydrogelu o koncentraci 0,1 % agarózy, protože u něj nedocházelo k tak rychlému tuhnutí a díky čirosti jsou lépe viditelné změny uvnitř kvety. Z výsledků vyplývá, že nejprve docházelo k postupnému poklesu difúzního koeficientu, způsobeném postupným proplétáním řetězců agarózy. Tento pokles se posléze zastavil. Bod zlomu na této křivce lze označit jako bod gelace vzorku agarózy. Jako neoptimálnější množství, ze všech zkoušených objemů, byl zvolen přídavek 2 ml roztoku PS částic, protože zlom, který charakterizuje bod gelace je z průběhu grafu nejostřejší a tím pádem je i více viditelný bod, ve kterém dochází k tvorbě hydrogelu.



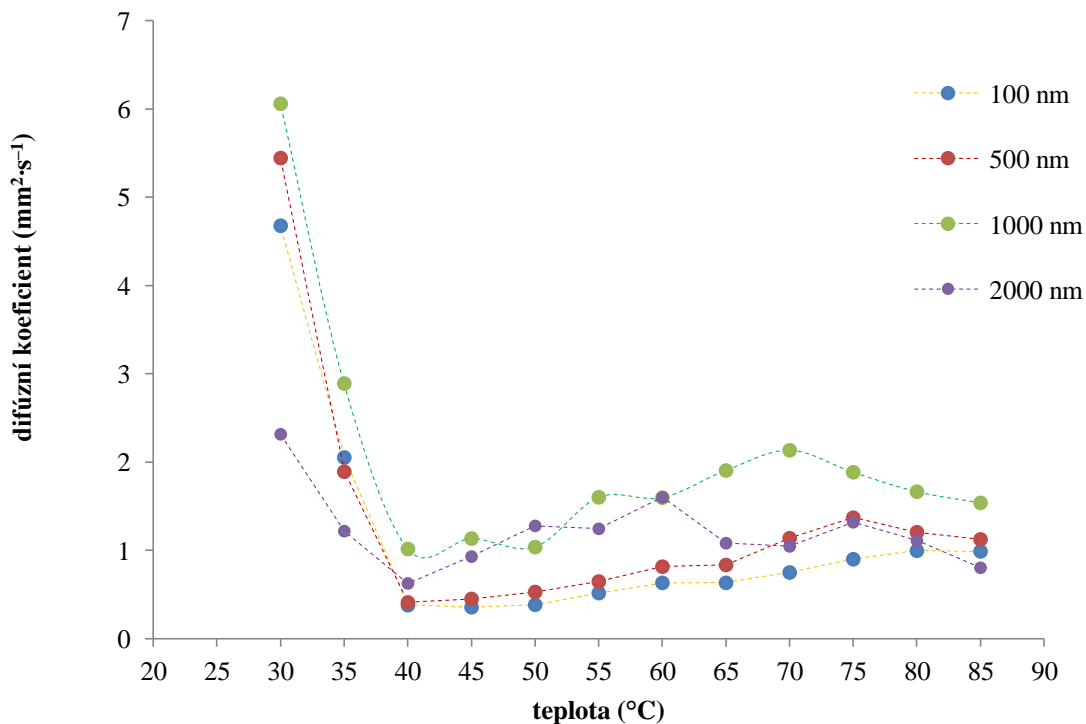
Obrátek 27: Závislost difúzního koeficientu PS částic na čase pro agarózový hydrogel o koncentraci 0,1 %.

6.2.2 Bod gelace v závislosti na difúzním koeficientu

V rámci experimentální části práce byl rovněž sledován a posuzován vliv velikosti použitých PS částic na difúzní koeficient. Vzorek byl měřen od 85 °C do 30°C s intervalem 5 °C. Naměřená závislost difúzního koeficientu na teplotě pro všechny použité PS částice jsou uvedeny v Obrázku 28.

S klesající teplotou postupně klesala i hodnota difúzního koeficientu do bodu kde došlo k výraznému vzrůstu difúzního koeficientu. Právě tento zlom v průběhu grafu lze označit jako bod gelace. Následně byl průběh křivky u každé použité velikosti PS částic proložen dvěma přímkami a to před bodem gelace a za bodem gelace. Vzniklý průsečík obou přímek odpovídá bodu gelace.

Stanovené hodnoty bodů gelace pro všechny použité vzorky PS částicových standardů jsou shrnuty v Tabulce 5.



Obrátek 28: Závislost difúzního koeficientu PS částic na změně teploty pro agarózový hydrogel o koncentraci 1 % s různou velikostí částic

Z průběhu grafů u všech měřených částic byla stanovena průměrná teplota gelace na 40,15 °C. Pro konkrétnější a lepší vyhodnocení by bylo lepší použít interval mezi jednotlivými měřeními 1 °C s delší dobou kalibrace u každého stupně. Získal by se tak podrobný průběh gelace vzorku.

Tabulka 5: Body gelace pro jednotlivé částice, průměrná teplota gelace a odchylka

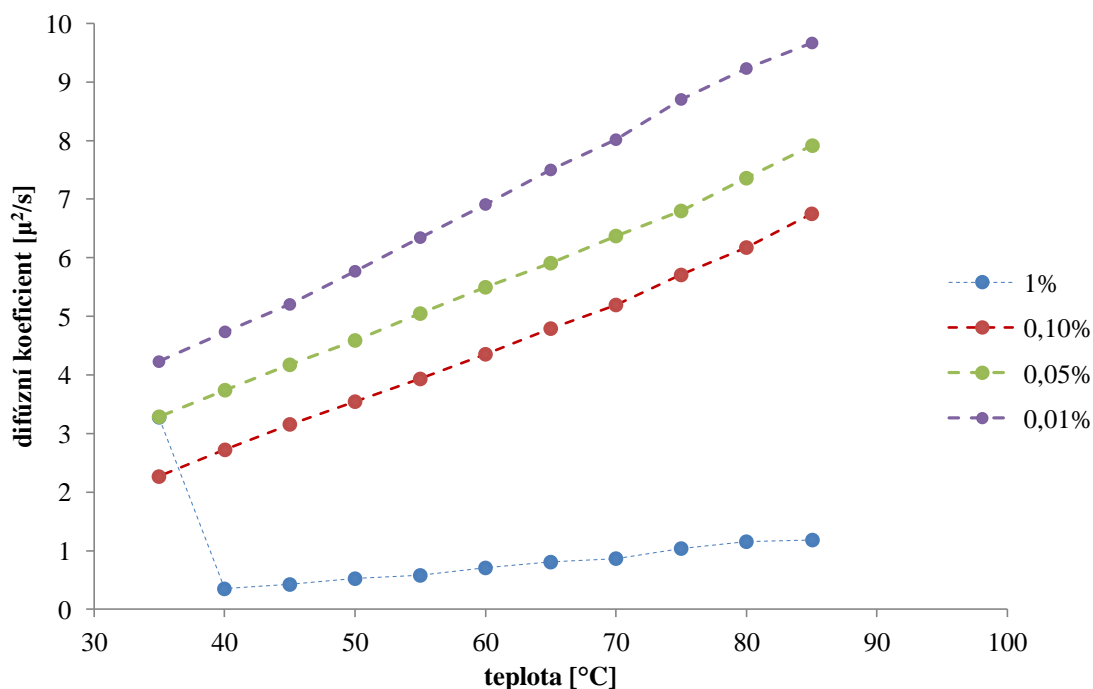
Velikost PS částic [nm]	1. měření [°C]	2. měření [°C]	Průměr [°C]	Odchylka [°C]
100	40,06	40,29	40,15	0,42
500	39,76	40,74		
1000	40,1	40,12		
2000	39,44	40,43		

6.2.3 Vliv koncentrace na difúzní koeficient

Další část bakalářské práce byla věnována studiu vlivu koncentrace agarózy na difúzní koeficient. Pro tuto část byla připravena koncentrační řada, popsána v kapitole 5.4.5. Jednotlivé výsledky byly zaznamenány a průběhy těchto závislostí jsou uvedeny v Obrázku 29.

Jak je z následujícího grafu patrné, vysoký nárůst difúzního koeficientu byl zaznamenán pouze u nejvyšší a to jednocentní koncentraci agarózy. U nižších koncentrací se zlom v průběhu grafu neobjevil a to z toho důvodu, že u nich nebyla detekována teplota gelace.

Tato metoda, konkrétně tedy vybraný poměr roztoku vzorku a standardu PS částic a velikost částic, není vhodná pro nižší koncentrace agarózy. Pro zaznamenání teploty gelace u takto nízkých koncentracích by nejspíše bylo nutné použití větších rozměrů PS částic nebo nastavit teplotní rozsah s nižší spodní hranicí tedy končit měření při nižších teplotách.



Obrázek 29: Závislost difúzního koeficientu PS částic na teplotě při různých koncentracích agarózy.

Z průběhu grafu pro jednoprocenní koncentraci agarózy byl zaznamenán zlom, který odpovídá teplotě gelace. Jako u jediné koncentrace bylo tedy možné stanovit teplotu gelace. Průběh naměřených dat před bodem gelace a za bodem gelace byl proložen přímkou a z průsečíků obou křivek byl stanoven bod gelace na hodnotu 40,14 °C.

Tabulka 6: Body gelace pro jednotlivé koncentrace agarózy.

Koncentrace [%]	první měření [°C]	druhé měření [°C]	třetí měření [°C]	Průměr [°C]	Odchylka [°C]
0,01	-	-	-	-	-
0,05	-	-	-	-	-
0,1	-	-	-	-	-
1	40,01	39,95	40,47	40,14	0,28

Jak již bylo psáno výše, tato metoda není optimalizována pro nízké koncentrace agarózy a pro další měření je potřeba tuto metodu upravit buď zvětšením používaných PS částic, nebo snížením teploty detekce.

7 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byla naměřena a korelována data získaná pomocí klasické reologie a metody dynamického rozptylu světla. Pomocí klasické reologie byly zjišťovány mechanické vlastnosti hydrogelů agarózy a byla zjišťována jak teplota gelace, tak i teplota tání. Metodou dynamického rozptylu světla byla zjištěna teplota gelace agarózového hydrogelu. Cílem této práce je jednotlivá data porovnat a zjistit použitelnost optické metody dynamického rozptylu světla k charakterizaci hydrogelů.

Na úvod experimentální části, která se týkala klasické reologie, byl zjišťován vliv stáří hydrogelu agarózy na stabilitu jeho vnitřní struktury. Podle výsledků je patrné, že ke změnám vnitřní struktury nedochází a v průběhu devíti dní se mechanické vlastnosti hydrogelu nemění a vnitřní struktura je tedy stabilní.

V další fázi experimentální části byl zkoumán vliv koncentrace na mechanické vlastnosti hydrogelu. Bylo zjištěno, že se u všech použitých koncentrací jednalo o látky elastické, gelové povahy, protože elastický modul byl vždy vyšší než modul viskózní. U nízkých koncentrací agarózy se zvyšuje vizkozita, což je dáno menším disperzním podílem a tím pádem menším počtem uzlů vnitřní struktury.

V poslední části, která se věnovala klasické reologii, byla zjišťována teplota tání, teplota gelace a opakovatelnost tohoto pokusu, čili vhodnost této metody ke stanovení těchto kritických parametrů. Teplota tání byla zjišťována na dvou koncentracích agarózy. U první koncentrace (0,1 % agarózy) byla stanovena teplota tání na 84,8 °C u prvního měření a na 85 °C u měření druhého. Jako druhá byla měřena teplota tání u hydrogelu o koncentraci agarózy 1 %. V tomto případě byla stanovena teplota tání na hodnotu 88,5 °C u prvního měření a na 87,5 °C u druhého měření. Z výsledků je patrné, že opakovatelnost tohoto pokusu se potvrdila a je možné tímto způsobem charakterizovat hydrogely. Teplota gelace byla opět měřena několikrát a byla stanovena na hodnotu 47 °C.

Teplota gelace byla zjišťována i dynamickým rozptylem světla. Tuto optickou metodu bylo potřeba optimalizovat, protože se zaváděla poprvé ke stanovení teploty gelace hydrogelů. Tato optimalizace zahrnovala použití PS částic a zjišťování jejich difúzního koeficientu. Po optimalizaci následovaly dva experimenty a to zjišťování bodu gelace pro různé velikosti použitých PS částic a vliv koncentrace na vybraný typ PS částic.

Z výsledků vyplývá, že teploty gelace vyšly s menší odchylkou stejně a to nezávisle na použití různých velikostí PS částic. Průměrná teplota gelace byla stanovena na 40,15 °C.

Jakkoli jsou klasická reologie a rozptylová metoda dynamického rozptylu světla odlišné metody, jejich kombinací lze proniknout do struktury gelů a je možné charakterizování vlastností hydrogelů, což bylo potvrzeno na stanovení hodnoty gelace, která vyšla podobně u obou metod.

8 POUŽITÁ LITERATURA

- 1 PÉREZ, Serge, Milou Kouwijzer KOUWIJZER, Karim MAZEAU a Søren Balling Engelsen ENGELSEN: *Modeling Polysaccharides: Present Status & Challenges* [online]. [cit. 2015-05-11].
- 2 CAMMACK, Richard: Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology, *F.J. Humus chemistry: Genesis, composition reactions*. 2006, 1994, s. 496, ISBN 0-471-59474-1.
- 3 BARTOVSKÁ, Lída, Marie ŠÍŠKOVÁ: *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. 1983 [cit. 2015-05-11].
- 4 NORMAND, Valéry, Didier L. LOOTENS, Eleonora AMICI, Kevin P. PLUCKNETT a Pierre AYMARD: New Insight into Agarose Gel Mechanical Properties. *Biomacromolecules*. 2000, ročník 1, číslo 4, s. 730-738. DOI: 10.1021/bm005583j.
- 5 LE GOFF, Kevin J., Cedric GAILLARD, William HELBERT, Catherine GARNIER a Thierry AUBRY: Rheological study of reinforcement of agarose hydrogels by cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*. 2015, ročník 116, s. 117-123. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.04.085.
- 6 SERWER, Philip: *Agarose gels: Properties and use for electrophoresis*. *Electrophoresis*. 1983, ročník 4, číslo 6, s. 375-382, DOI: 10.1002/elps.1150040602. ISSN 0173-0835.
- 7 BARTOVSKÁ, Lidmila. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 4., Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, s. 192, ISBN 80-708-0475-0.
- 8 POUCHLÝ, Julius: *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2008, [cit. 2015-05-11]. ISBN 978-80-7080-674-6
- 9 VOJUCKIJ, Sergej S. *Kurs koloidní chemie*. Praha: SNTL, 1984, s. 395
- 10 NOVÁK, Josef: *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008, s. 264-506, ISBN 978-80-7080-675-3.
- 11 MOORE, W. J.: *Fyzikální chemie*. SNTL, Praha, 1979
- 12 LADET, Sébastien, Laurent DAVID a Alain DOMARD: *Multi-membrane hydrogels*. *Nature* [online]. Ročník 452, číslo 7183, s. 76-79 [cit. 2015-05-11]. DOI: 10.1038/nature06619. ISSN 0028-0836.
- 13 ATKINS, P., Julio DE PAULA: *Fyzikální chemie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013, s. 915, ISBN 978-80-7080-830-6.
- 14 JANAKLÍK, J.: *Potrubní hydraulická a pneumatická doprava*. 1999, Skripta VŠB-TU Ostrava, s. 194
- 15 DESZCZYNSKI, Marcin, Stefan KASAPIS a John R. MITCHELL: Rheological investigation of the structural properties and aging effects in the agarose/co-solute mixture. *Carbohydrate Polymers*. 2003, číslo 53, s. 85-93.

- 16 ROSIAK, J. M. & Yoshii, F.: Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 1999, s. 56-64
- 17 WU, Yufeng, Dingwei ZHU, Zanru GUO a Yujun FENG: Rheology and phase behavior of thermo-reversible pentablock terpolymer hydrogel. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2013, ročník 51, číslo 18, s. 1335-1342. DOI: 10.1002/polb.23343
- 18 WICHTERLE, O., D. Lím: *Hydrophilic gels for biological use*. Nature 185, 1960, s. 117–118.
- 19 JANALÍK, J.: *Viskozita tekutin a její měření*. 2010, VŠBTU, fakulta strojní Ostrava
- 20 WEIN, Ondřej: *Úvod do reologie*. vyd. první. Brno: Malé Centrum, 1996
- 21 BARNES, H. A., HUTTON a Kenneth WALTERS: *An Introduction to Rheology*. Elsevier, 1989
- 22 SCHMITZ, K.: *Dynamic light scattering by macromolecules*. Academic press. Inc, New York, 1990
- 23 ZHOU, Xi-Rui, Rui GE a Shi-Zhong LUO. Self-assembly of pH and calcium dual-responsive peptide-amphiphilic hydrogel. *Journal of Peptide Science*. 2013, ročník 19, číslo 12, s. 737-744. DOI: 10.1002/psc.2569.
- 24 BUWALDA, Sytze J., Kristel W.M. BOERE, Pieter J. DIJKSTRA, Jan FEIJEN, Tina VERMONDEN a Wim E. HENNINK. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *Journal of Controlled Release* [online]. 2014, [cit. 2014-05-11]. DOI:10.1016/j.jconrel.2014.03.052.
- 25 ISLAM, Aminul, Eng-Seng CHAN, Yun HIN TAUFIQ-YAP, Siow HWA TEO a Md. ASHRAFUL HOQUE. Studies on the rheological properties of aluminium oxihydroxide (boehmite) colloidal suspension. *Ceramics International* [online]. 2014, ročník 40, číslo 2, s. 3779-3783 [cit. 2014-05-11]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2013.09.042.
- 26 FUJII, T., T. YANO, H. KUMAGAI a O. MIYAWAKI. Scaling analysis on elasticity of agarose gel near the sol–gel transition temperature. *Food Hydrocolloids*. 2000, č. 14, s. 359–363.