



Studium síťování želatiny

Diplomová práce

Studijní program: N3106 – Textilní inženýrství
Studijní obor: 3106T018 – Netkané a nanovláknenné materiály
Autor práce: **Bc. Miriam Hrušková**
Vedoucí práce: Ing. Petr Mikeš, Ph.D.



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Miriám Hrušková**
Osobní číslo: **T16000001**
Studijní program: **N3106 Textilní inženýrství**
Studijní obor: **Netkané a nanovláknenné materiály**
Název tématu: **Studium síťování želatiny**
Zadávací katedra: **Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se s problematikou síťování želatiny. Vypracujte rešerši na dané téma.
2. Navrhněte experimenty zabývající se problematikou síťování želatiny.
3. Vypracujte metodiku experimentu a jeho hodnocení.
4. Vyrobte sérii nanovláknenných materiálů a otestujte na nich síťování želatiny. Experimenty vyhodnoťte.
5. Diskutujte výsledky a navrhněte další postupy řešení daného problému.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby dokumentace**

Rozsah pracovní zprávy: **40-60 dle potřeby**

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. MCMURRY, John. Organic chemistry. 8th ed. Belmont: Brooks/Cole, 2012. ISBN 978-0840054449.
2. MARK, James E. Polymer data handbook. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2009. ISBN 978-019-5181-012.
3. LUKÁŠ, David. Fyzika polymerů. Vyd. 2. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2013. ISBN 978-80-7494-029-3.
4. PROKOPOVÁ, Irena. Makromolekulární chemie. Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2007. ISBN 978-80-7080-662-3.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Petr Mikeš, Ph.D.**


Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

Datum zadání diplomové práce: **13. října 2017**

Termín odevzdání diplomové práce: **4. května 2018**


Ing. Jana Drašarová, Ph.D.
děkanka




prof. RNDr. David Lukáš, CSc.
vedoucí katedry

V Liberci dne 13. října 2017

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

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

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum:

Podpis:

Děkuji svému vedoucímu diplomové práce Ing. Petru Mikešovi, Ph.D. a ostatním členům Katedry netkaných textilií za jejich hodnotné rady a pomoc při splnění této diplomové práce. Děkuji také své rodině a všem blízkým, kteří mi byli v době studia oporou.

Abstrakt

Želatina je široce využívána v různých průmyslových odvětvích a nanovláknenné vrstvy z tohoto biopolymeru přitahují díky své biokompatibilitě velkou pozornost. Želatina je však ve vodě rozpustná, což představuje významná omezení. V této práci byl ověřen návrh, který se týká zesíťování nanovláknenné vrstvy želatiny s dendrimery pomocí kyseliny polyakrylové. Výsledky dokazují, že použitím kyseliny polyakrylové rozpuštěné v dioxanu lze snížení rozpustnosti nanovláknenné vrstvy docílit.

Abstract

Gelatin is widely used by various industries and nanofibrous layers of this biopolymer have received considerable attention due to its biocompatibility. However, gelatin fibrous structures are water soluble which limit their application in aqueous mediums. This master thesis deals with the verification of proposal concerning cross-linking the nanofibrous layer of fish gelatin and dendrimers by polyacrylic acid. The results show that by using of polyacrylic acid dissolved in dioxane the solubility of the nanofibrous layer can be reduced.

Klíčová slova:

želatina, kyselina polyakrylová, dendrimery, síťování, elektrostatické zvlákňování

Keywords:

gelatin, polyacrylic acid, dendrimers, cross-linking, electrospinning

Obsah

1	Úvod	8
2	Teoretická část	9
2.1	Želatina	9
2.1.1	Zdroj želatiny	9
2.1.2	Vlastnosti rybí želatiny.....	9
2.1.3	Sítování želatiny	12
2.2	Dendrimery	16
2.2.1	Struktura dendrimerů.....	17
2.2.2	Syntéza dendrimerů.....	17
2.2.3	Vlastnosti dendrimerů	18
2.2.4	Potenciální aplikace dendrimerů.....	18
2.2.5	Dendrimery PEI 25k – Mal B.....	18
2.3	Teorie rozpustnosti polymerů	19
2.3.1	Hildebrandův rozpustnostní parametr	20
2.3.2	Hansenovy parametry rozpustnosti.....	20
2.3.3	Teasův graf	21
3	Experimentální část	24
3.1	Použité látky	24
3.2	Výroba nanovlákných vrstev.....	26
3.3	Sítování nanovlákných vrstev.....	28
3.3.1	Sítování vláken nanosením PAA rozpuštěné ve vodě	28
3.3.2	Sítování nanosením vody na vrstvu zvlákněnou s přidáním PAA	29
3.3.3	Sítování vláken vystavením vodním parám v exsikátoru	30
3.3.4	Sítování vláken ponořením do PAA ve vhodném rozpouštědle	32
3.3.5	Sítování vláken ponořením do dioxanu	47
3.3.6	Sítování vláken vystavením parám dioxanu v exsikátoru	47
4	Souhrn a diskuze výsledků	48
5	Závěr	49
	Použitá literatura	50
	Příloha A - Obsah přiloženého CD	54

Seznam zkratk

c	hustota kohezní energie
DMAc	N,N-dimethylacetamid
DMF	N,N-dimethylformamid
f_d	frakční disperzní parametr
f_h	frakční parametr vodíkových vazeb
f_p	frakční polární parametr
ΔH	změna entalpie
PAA	kyselina polyakrylová
PEI	polyethylenimin
R	plynová konstanta, poloměr
T	teplota
THF	tetrahydrofuran
V_m	molární objem
δ_d	disperzní parametr
δ_h	parametr vodíkových vazeb
δ_p	polární parametr
δ_t	celkový Hildebrandův parametr

1 Úvod

Želatina je přírodní, biodegradabilní a biokompatibilní polymer, který se vyrábí částečnou hydrolyzou kolagenu (Foux and Zilberman, 2015). Nanovláknenné vrstvy z želatiny mohou být díky velkému měrnému povrchu nanovláken, vysoké porozitě a malému průměru pórů využity v lékařství jako materiály pro distribuci léčiv, obvazové materiály pro hojení kožních poranění či jako substráty pro tkáňové inženýrství (Tavassoli-Kafrani, Goli and Fathi, 2017). Před použitím by želatina měla být zesíťována, aby se tak zvýšily její mechanické vlastnosti a snížila její rozpustnost a rychlost degradace ve vodných roztocích (Dias *et al.*, 2017). Dosud bylo vyvinuto mnoho metod pro zesíťování makromolekul želatiny, avšak tyto metody se zabývají zesíťováním želatiny ve formě roztoku nebo ve formě tenkých filmů. Ne všechny jsou vhodné pro síťování nanovláken (Komárek, 2005).

Tato diplomová práce se zabývá ověřením návrhu týkajícího se zesíťování nanovláknenné vrstvy z rybí želatiny a dendrimerů. Dr. Dietmar Appelhans z Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden navrhl možnost zesíťování této nanovláknenné vrstvy pomocí kyseliny polyakrylové, která by mohla fungovat jako polyaniont a interagovat s polykationtovým maltózovým pláštěm dendrimerů prostřednictvím vodíkových můstků. Tento způsob síťování by tak mohl vyřešit současné problémy týkající se toxicity a ztráty morfologie želatinových vláken po procesu síťování.

Dendrimery jsou vysoce rozvětvené makromolekuly složené z jádra, vnitřní dendritické struktury a z vnější oblasti s funkčními skupinami. Právě přítomnost funkčních skupin dělá z dendrimerů vhodné nosiče léčiv (Dongargaonkar, Bowlin and Yang, 2013). Jejich přidáním do nanovláknenné vrstvy z želatiny by tak mohlo dojít ke snížení rozpustnosti vláknenné vrstvy a zároveň by dendrimery mohly být využity pro transport látek na požadované místo s postupným uvolňováním do prostředí.

2 Teoretická část

Teoretická část práce popisuje v kapitole 2.1 želatinu a v kapitole 2.2 dendrimery. Následně je v kapitole 2.3 uvedena teorie rozpustnosti polymerů.

2.1 Želatina

Želatina je přírodní, biodegradabilní a biokompatibilní polymer. Díky jeho unikátním mechanickým a technologickým vlastnostem je používán v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu (Foux and Zilberman, 2015). Ve zdravotnictví se želatina používá jako matrix pro implantáty a jako stabilizátor ve vakcínách proti spalničkám, příušnicím, zarděnkám, vzteklině, tetanu apod. Je také používána v obvazech na krytí ran a pro postupné uvolňování léčiv (Saddler and Horsey, 1987).

Poprvé byla želatina komerčně vyrobena okolo roku 1685 v Holandsku a krátce poté v Anglii roku 1700. Ve Spojených státech byla první komerční výroba želatiny až v roce 1808 v Massachusetts (GIMA, 2012).

2.1.1 Zdroj želatiny

Želatina se vyrábí částečnou hydrolyzou kolagenu, jenž je hlavní proteinovou složkou kůže, kostí a pojivých tkání zvířat včetně ryb i hmyzu. V závislosti na způsobu, kterým jsou kolageny upraveny, mohou být vyrobeny dva různé typy želatiny s různými vlastnostmi. Želatina pocházející z kyselé hydrolyzy je známá jako typ A, zatímco želatina získaná alkalickou hydrolyzou kolagenu se nazývá typ B. Kyselá úprava je vhodná pro méně kovalentně zesíťované kolageny nacházející se v prasečích nebo rybích kůžích, zatímco alkalická úprava je vhodná pro více zesíťované kolageny v kůži skotu (Karim and Bhat, 2009).

Nejčastějším zdrojem želatiny je vepřová kůže (46 %), dále hovězí kůže (29,4 %) a kosti (23,1 %). Tyto zdroje jsou však omezené z důvodu náboženství, zvyšování se vegetariánství a obav z přenosu patogenů, proto byly zavedeny další zdroje želatiny, včetně drůbeže, ryb a obratlovců. Želatina z ryb má podobné vlastnosti jako želatina prasečí, je tedy vhodnou alternativou (Foux and Zilberman, 2015).

2.1.2 Vlastnosti rybí želatiny

Všechny typy želatiny mají velmi podobné složení, což jsou proteiny, malé množství minerálů a voda. V závislosti na použitém materiálu, zpracování a intenzitě hydrolyzy

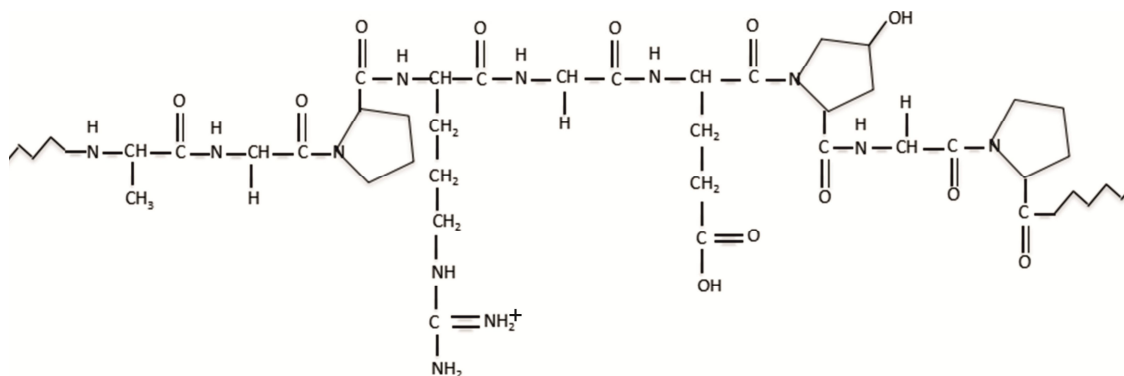
lze získat různé typy želatiny s odlišnými vlastnostmi. Fyzikální a chemické vlastnosti mohou být zvláště ovlivněny složením aminokyselin, molekulovou hmotností a množstvím α řetězců (Alfaro *et al.*, 2014).

pH, vlhkost, barva a izoelektrický bod

Hodnoty pH jsou variabilní a závislé na extrakčním procesu (da Trindade Alfaro, Fonseca and Prentice-Hernández, 2013). Nejčastěji používané želatiny mají vlhkost mezi 9 až 14 % (Courts, 1977). Želatina je bezbarvá až nažloutlá ve formě prášku nebo plátek (Mahmood, 2016). Faktory, jako jsou druhy ryb a podmínky extrakce, ovlivňují konečnou barvu želatiny a barva může určit i její výsledné použití (Alfaro *et al.*, 2014). Izoelektrický bod želatiny pocházejících z kyselá hydrolyzy je v rozmezí hodnot pH od 6 do 9, zatímco želatiny získané alkalicky mají hodnoty pH okolo 5 (Karim and Bhat, 2009).

Kompozice aminokyselin

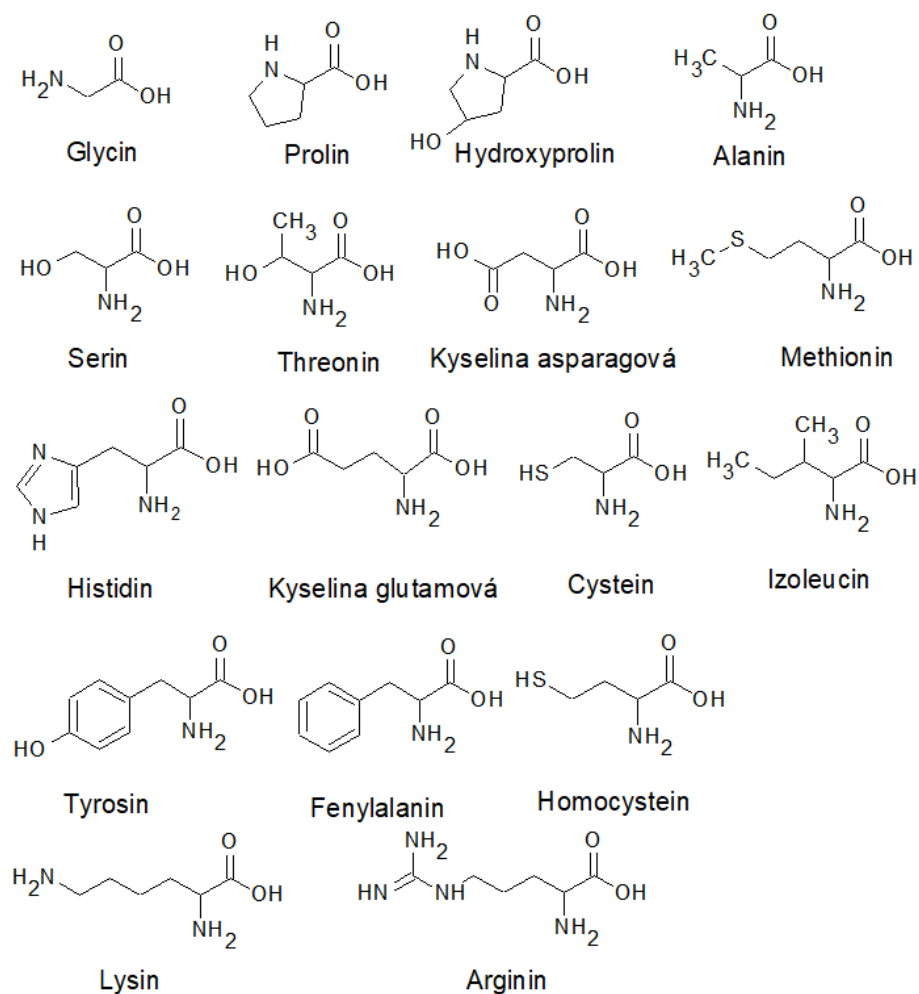
Vlastnosti rybí želatiny jsou ovlivněny koncentrací aminokyselin, molární hmotností a přítomností proteinových fragmentů. Typická struktura želatiny je -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro- a je zobrazena na *obr. 1* (Gómez-Guillén *et al.*, 2002).



Obr. 1 Molekulární struktura želatiny (Gómez-Guillén *et al.*, 2002)

Želatina převážně obsahuje 33 % glycinu, 20 % prolinu a hydroxyprolinu a 11 % alaninu. Želatina získaná ze savců obsahuje prolinu a hydroxyprolinu asi 30 %, zatímco želatina z ryb z teplých vod 22 až 25 % a želatina z ryb ze studených vod 17 % (Mahmood, 2016). Studie prokázaly lepší viskoelastické vlastnosti želatiny z ryb z teplých vod nejspíše díky vyššímu obsahu alaninu, prolinu a hydroxyprolinu. Ve srovnání se savčí želatinou má tento typ želatiny vyšší obsah glycinu, serinu, threoninu, kyseliny asparagové, methioninu a histidinu, ale stejný obsah alaninu, kyseliny glutamové, cysteinu, izoleu-

cinu, tyrosinu, fenylalaninu, homocysteinu, lysinu a argininu (viz obr. 2). Želatíně chybí esenciální aminokyselina tryptofan a má nedostatek aminokyselin obsahujících síru (Alfaro *et al.*, 2014).



Obr. 2 Schématické zobrazení struktur aminokyselin

Pevnost a molekulová hmotnost

Pevnost gelu je jednou z nejdůležitějších vlastností želatiny, která určuje kvalitu želatinových produktů, a je definována jako pevnost potřebná pro průnik vody želatinovým gelem o tloušťce 4 mm a koncentraci 6,67 % uchovávaným při teplotě 10 °C po dobu 16 až 18 hodin. Pevnost vyjadřovaná v gramech je jednou z nejdůležitějších funkčních vlastností želatiny, jelikož souvisí s odolností vůči degradaci přímo. Pevnost gelu rybí želatiny může být ovlivněna například molekulovou hmotností α a β řetězců (Koli *et al.*, 2011). Velké množství β a γ řetězců ovlivňuje některé funkční vlastnosti rybí želatiny negativně, například snižuje její viskozitu i teplotu tání. Molekulová hmotnost želatiny je závislá na extrakčním procesu. Jestliže je extrakce prováděna při vysokých teplotách,

želatina následně vykazuje nižší molekulovou hmotnost než želatina, která je extrahována při teplotách nižších (Alfaro *et al.*, 2014). Hmotnostní průměrná molární hmotnost komerčně dostupné želatiny se pohybuje od 20 000 do 200 000 Da a početní průměrná molární hmotností je od 40 000 do 80 000 Da (Podczeck and Jones, 2004).

Viskozita, teplota tání a gelace

Běžně dostupné želatiny dosahují hodnot od 2,0 do 7,0 mPas, zatímco želatiny pro speciální aplikace mohou vykazovat viskozitu 13,0 mPas (Koli *et al.*, 2011). Body tání a gelace (teploty, při níž se roztok želatiny mění z pevného skupenství na kapalné a naopak) rybí želatiny jsou ve srovnání s hovězími či vepřovými želatinami relativně nízké, jelikož obsahují menší množství prolinu a hydroxyprolinu, což využití rybí želatiny omezuje (Alfaro *et al.*, 2014).

2.1.3 Síťování želatiny

Želatina by před použitím měla být zesíťována, aby se tak zvýšily její mechanické vlastnosti a snížila její rozpustnost a rychlost degradace ve vodných roztocích. Želatinu je možné zesíťovat pomocí ultrafialového záření, enzymů či síťovacích činidel, jako je například formaldehyd a glutaraldehyd (Foux and Zilberman, 2015).

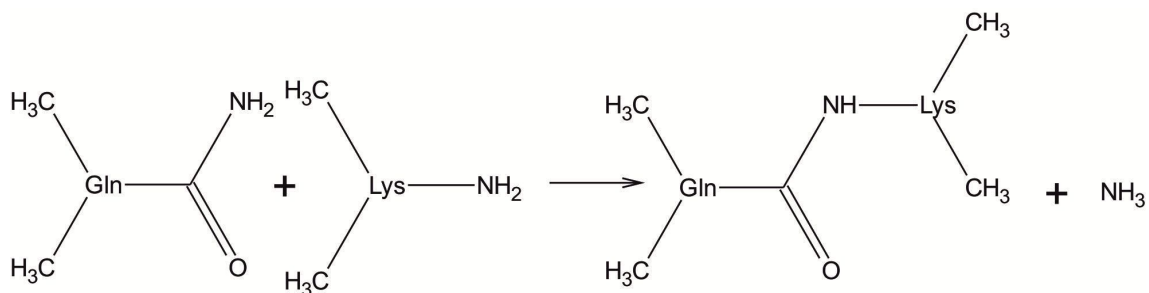
Zesíťování je stabilizační proces, který vede k multidimenzionálnímu rozšíření polymerního řetězce, čímž vzniká síťovaná struktura. Vazba, jež spojuje jeden řetězec polymeru s jiným, může být iontová nebo kovalentní. Zesíťované polymery jsou mechanicky pevné a odolné vůči teplu, opotřebení a rozpouštědlům (Bakravi *et al.*, 2018).

Síťování želatiny je nejčastěji prováděno ve vodných roztocích a koncentrace želatiny je velmi důležitým faktorem, jelikož vzdálenost molekul určuje, zda síťování bude probíhat mezi molekulami (intermolekulárně), nebo v rámci jedné molekuly (intramolekulárně). Při pokračujícím síťování se roztok stává viskoelastickým a postupně přechází v pevný gel, který má zvýšenou teplotu tání a není již možné ho převést na kapalinu. Tvorba chemických vazeb mezi molekulami želatiny probíhá zejména reakcí aminových a hydroxylových skupin (Martinová, 2008).

Síťování za účasti enzymů

Síťující enzym, který lze použít pro katalýzu tvorby kovalentních vazeb mezi molekulami proteinů, je transglutamináza. V reakci zobrazené na obr. 3 přenos acylu na lysino-

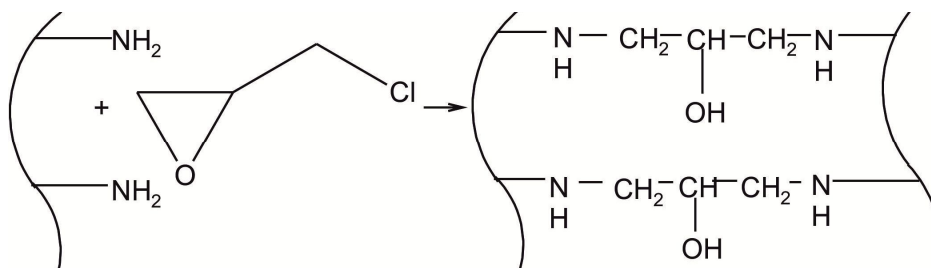
vý zbytek, který je vázán v polypeptidovém řetězci, vyvolává proces síťování (Kieliszek and Misiewicz, 2014).



Obr. 3 Síťovací reakci katalyzovaná transglutaminázou mezi glutamylovým a lysinovým zbytkem (Kieliszek and Misiewicz, 2014)

Síťování epichlorhydrinem

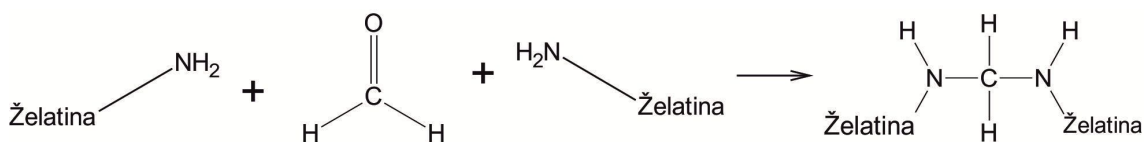
Želatinu je také možné síťovat pomocí epichlorhydrinu, který z obou stran spojuje želatinu silnými kovalentními vazbami (Bakravi *et al.*, 2018). Síťovací reakce je zobrazena na obr. 4.



Obr. 4 Schéma síťování želatiny epichlorhydrinem (Bakravi *et al.*, 2018)

Síťování formaldehydem

Pro síťování želatiny lze použít i formaldehyd (Vernengo, 2016). Mechanismus jeho reakce s želatinou je zobrazen na obr. 5.

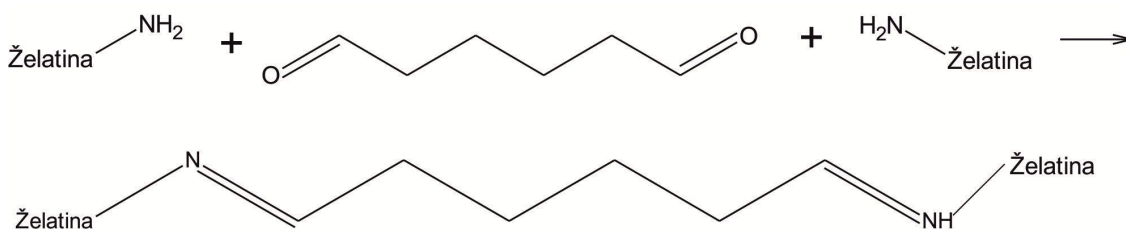


Obr. 5 Schéma síťování želatiny formaldehydem (Vernengo, 2016)

Použití formaldehydu má nevýhodu v obtížné kontrole míry reakce, v nepříjemném zápachu a především toxicitě. Z těchto důvodů se využívají polyformalíny, jako je například paraformaldehyd a hexamethylentetraamin (Martinová, 2008).

Sítování glutaraldehydem

Sítováním glutaraldehydem dochází k tvorbě Schiffovy báze s volnými amino skupinami na želatině a je zobrazeno na *obr. 6* (Vernengo, 2016).

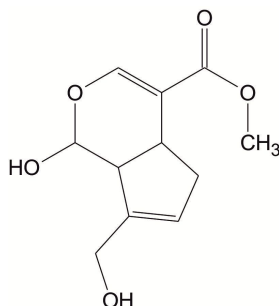


Obr. 6 Schéma sítování želatiny glutaraldehydem (Vernengo, 2016)

Glutaraldehyd je mezi chemickými sítovacími činidly nejčastěji používán vzhledem ke své vysoké účinnosti stabilizace kolagenních materiálů. Jedná se o sítovací reakci volných aminokyselinových zbytků lysinu nebo hydroxylysinu želatiny s aldehydovými skupinami glutaraldehydu. Glutaraldehyd je snadno dostupný, levný a jeho vodné roztoky mohou kolagenní tkáň ve velmi krátkém čase účinně zesítovat (Bigi *et al.*, 2001).

Sítování genipinem

Želatinu lze sítovat i genipinem. Genipin, jehož strukturní vzorec je zobrazen na *obr. 7*, je přírodní sítující činidlo, které může být získáno z iridoidu glykosidu, jež je označován jako geniposid a je obsažen v ovoci *Gardenia jasminoides* (Bigi *et al.*, 2002). Genipin je méně toxický než glutaraldehyd a reaguje v želatině s aminokyselinami, které obsahují aminové postranní skupiny, jako je lysin a arginin (Martinová, 2008).



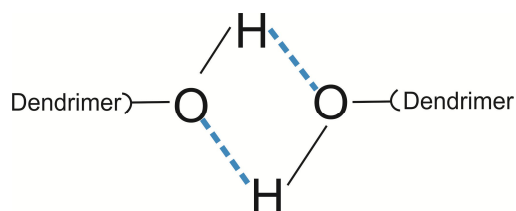
Obr. 7 Strukturní vzorec genipinu

Výzkumníci zkoumají další způsoby sítování želatiny, které by mohly být potenciálně méně toxické než glutaraldehyd a formaldehyd (Vernengo, 2016).

Sítování dendrimery a kyselinou polyakrylovou

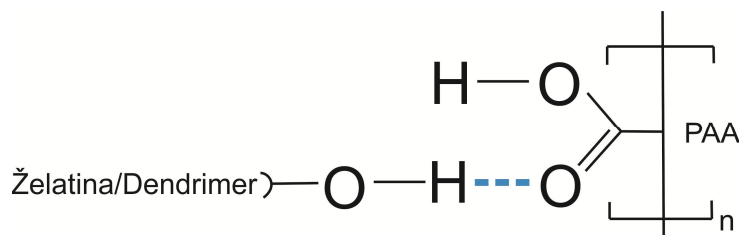
Na základě interakce slabého polykationtového dendrimery se silně polyaniontovou heparinovou sodnou solí (Salem *et al.*, 2015), navrhl Dr. Dietmar Appelhans z Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden možnost fyzikálního zesíťování nanovlákněné vrstvy želatiny s dendrimery pomocí kyseliny polyakrylové. Kyselina polyakrylová, jejíž každá monomerní jednotka obsahuje funkční karboxylovou skupinu, by tak mohla fungovat jako polyaniont a interagovat s polykationtovým maltózovým pláštěm dendrimery prostřednictvím ne vazebné interakce, a to vodíkových můstků.

Dále se dá předpokládat, že sousední dendrimery spolu navzájem vytvoří vodíkové můstky prostřednictvím hydroxylových skupin ve svých maltózových pláštích (viz obr. 8). Tato interakce také nastane mezi sousedními hydroxylovými a karboxylovými skupinami aminokyselin, které se nacházejí v postranních řetězcích želatiny. Vodíkové můstky vzniknou i mezi maltózovými plášti dendrimery a aminokyselinami.



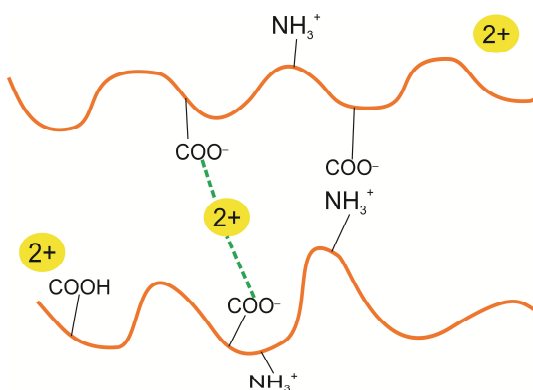
Obr. 8 Schématické zobrazení vodíkových můstků
mezi sousedními dendrimery

Lze očekávat, že intramolekulární vodíkové můstky vzniknou jak mezi karboxylovými skupinami kyseliny polyakrylové, tak i mezi hydroxylovými skupinami dendrimery a také mezi hydroxylovými nebo karboxylovými skupinami aminokyselin v postranních řetězcích želatiny. Vodíkové můstky se dále vytvoří i mezi hydroxylovou skupinou maltózového pláště dendrimery nebo hydroxylovou skupinou aminokyseliny v postranním řetězci želatiny a karboxylovou skupinou kyseliny polyakrylové (viz obr. 9).



Obr. 9 Schématické znázornění vodíkové vazby mezi želatinou
nebo dendrimerem a kyselinou polyakrylovou

Želatina obsahuje mnoho dvojmocných iontů kovů (viz obr. 10), jako jsou například vápník, měď, železo a zinek, které vytváří iontové vazby s karboxylovými skupinami želatiny a jsou důležité při síťování gelů želatiny (Xing *et al.*, 2014). V našich experimentech tato reakce dvojmocných iontů kovů mezi karboxylovou skupinou kyseliny asparagové a karboxylovou skupinou kyseliny glutamové v postranních řetězcích želatiny také nastane. Dále se dá předpokládat, že tato reakce proběhne i mezi karboxylovou skupinou kyseliny asparagové nebo kyseliny glutamové a karboxylovou skupinou kyseliny polyakrylové.



Obr. 10 Možné interakce mezi kovovými ionty (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) a molekulami želatiny

Z obr. 10 je také patrná elektrostatická interakce, kdy negativně nabitá karboxylová skupina aminokyseliny přitahuje kladně nabitou aminoskupinu. Lze říci, že v našem experimentu o zesíťování nanovlákněné vrstvy želatiny tato interakce mezi karboxylovou skupinou kyseliny polyakrylové a aminoskupinou obsaženou v postranním řetězci bazických aminokyselin také nastane. Jedná se o aminokyseliny lysin, arginin nebo histidin.

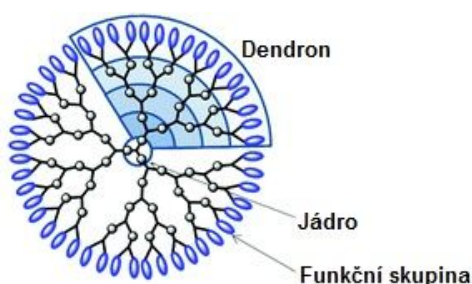
Všechny tyto interakce jsou velmi silně ovlivněny hodnotou pH prostředí.

2.2 Dendrimery

Dendrimery jsou s rozměry nanometrů jednou z nejvíce zkoumaných podskupin dendritických polymerů. Slovo dendrimer je odvozeno z řeckého slova *dendri* = strom a *meros* = část a poprvé ho asi před 40 lety ve své práci o polyamidoaminu popsal Donald Tomalia (Tomalia, 2005).

2.2.1 Struktura dendrimerů

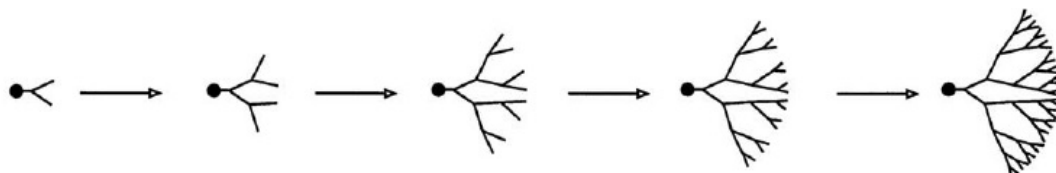
Struktura molekul dendrimerů začíná centrálním atomem nebo skupinou atomů označených jako jádro. Z této centrální struktury rostou různými chemickými reakcemi větvičí se jednotky jiných atomů nazývané *dendrony* (Abbasi *et al.*, 2014). Dendrimery zobrazené na *obr. 11* jsou definovány třemi složkami, a to jádrem, vnitřní dendritickou strukturou a vnější oblastí s funkčními skupinami (Nimesh, 2013).



Obr. 11 Struktura dendrimeru

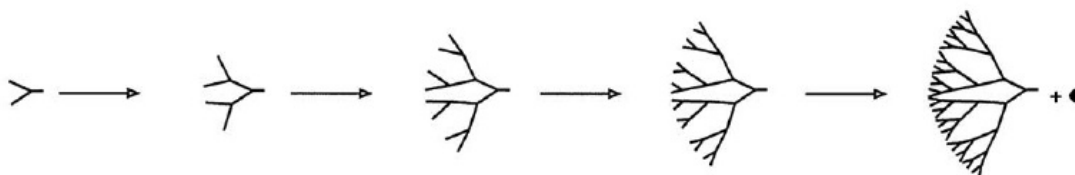
2.2.2 Syntéza dendrimerů

Pro přípravu dendrimerů se používají dvě odlišné metody – divergentní a konvergentní. Nejdříve byla popsána metoda divergentní zobrazená na *obr. 12*. Jedná se o syntézu dendrimerů, jejichž růst začíná od jádra a pokračuje až k vnějšímu okraji. Jádro molekuly neboli nultá generace reaguje nejdříve s monomerním do struktury první generace. Dále postupným přidáváním monomerních jednotek na koncové skupiny předchozí generace vzniká dendrimer (Akiyama *et al.*, 2013).



Obr. 12 Divergentní syntéza (Dufès, Uchehgbu and Schätzlein, 2005)

Naopak u konvergentní metody probíhá syntéza dendrimerů od povrchu k jádru (viz *obr. 13*). Tímto způsobem postupně vznikají dendrony, které pak v místě přípojného bodu reagují s jádrem za vzniku dendrimeru (Dufès, Uchehgbu and Schätzlein, 2005).



Obr. 13 Konvergentní syntéza (Dufès, Uchehgbu and Schätzlein, 2005)

2.2.3 Vlastnosti dendrimerů

Vlastnosti dendrimerů (například rozpustnost, chemická reaktivita a teplota skelného přechodu) jsou řízeny povahou koncových skupin. Existuje více než padesát druhů dendrimerů s jedinečnými vlastnostmi, protože povrch, vnitřní dendritická struktura a vnější povrchová oblast s funkčními skupinami mohou být přizpůsobeny různým účelům použití (Singh, Dar and Hashmi, 2014).

2.2.4 Potenciální aplikace dendrimerů

Dendrimery lze využít pro cílenou enkapsulaci látek a jejich následný transport na požadované místo, kde je molekula vypuštěna zpět do prostředí (Nicholson, 2006). Molekuly lze uvnitř dutiny uvěznit pomocí zpevněného povrchu tak, že z dendrimery neunikají. Zpevněním různými funkčními skupinami se dají připravit i takové systémy, z nichž molekuly unikají pomalu, a které by se daly využít pro postupné uvolňování léčiva do organismu (Kesharwani, Jain and Jain, 2014).

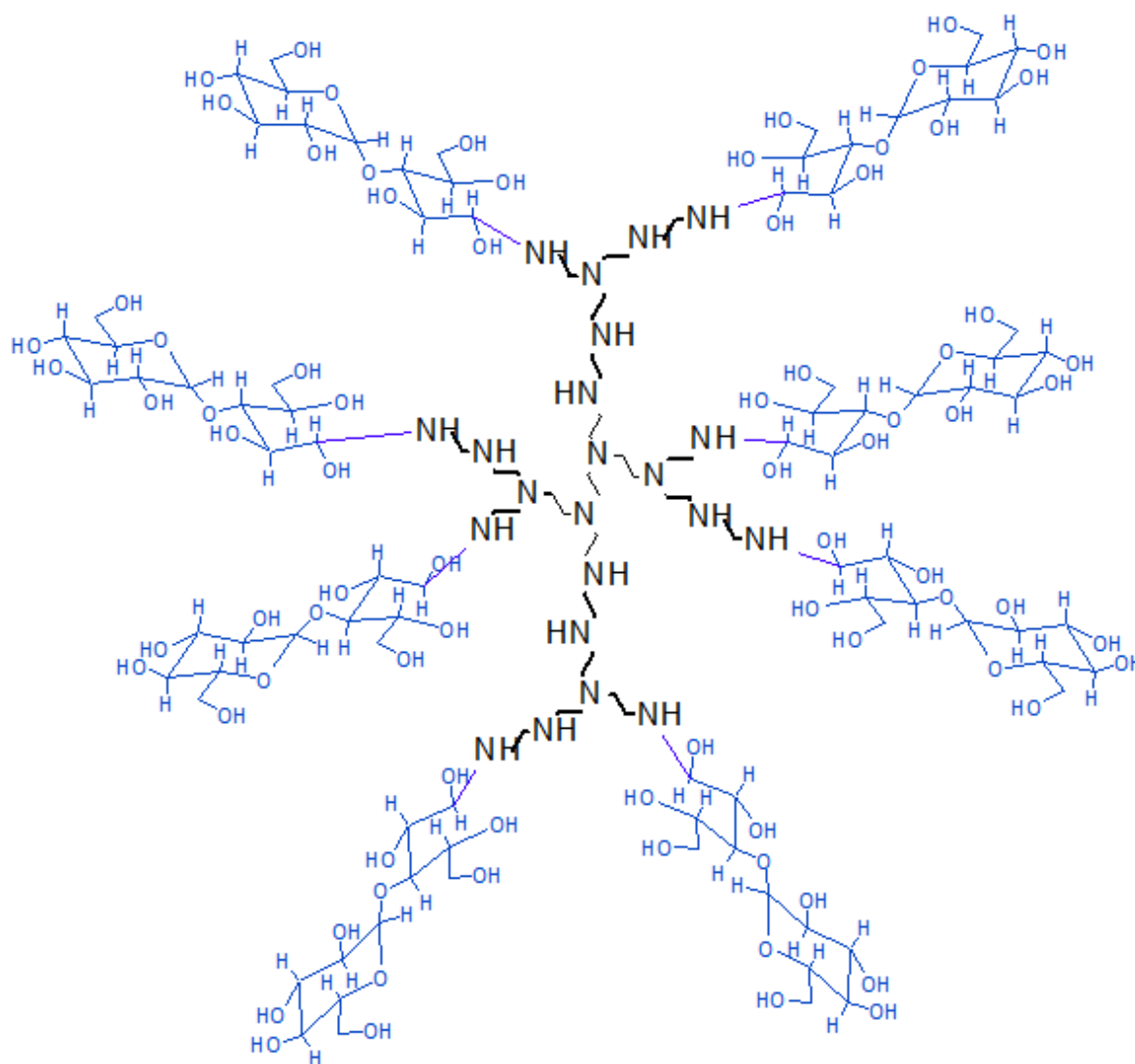
Dendrimery lze využít i v diagnostice jako kontrastní látky ke zlepšení viditelnosti vnitřních tělesných struktur. Architektura dendrimerů je vhodná pro včlenění mnoha kontrastních atomů. Tato kontrastní činidla tak mohou být cíleně specifická a schopna se vázat na určitý typ tkáně (Akiyama *et al.*, 2013).

2.2.5 Dendrimery PEI 25k – Mal B

Dendrimery s označením PEI 25k – Mal B z Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden byly použity pro experimentální část této práce. Jedná se o vysoce rozvětvené polyethyleniminové dendrimery s oligosacharidovými plášti, kde polyethylenimin o molekulové hmotnosti $25\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ tvoří jádro dendrimery (viz *obr. 14*). Tyto dendrimery mají otevřenou strukturu pláště, který je ve formě maltózy. Periferní skupiny pláště jsou složeny převážně ze sekundárních aminoskupin nesoucích jednu molekulu maltózy a pouze z několika terciárních aminoskupin nesoucích dvě molekuly maltózy. Této oligosacharidové funkcionalizace povrchu polyethyleniminu lze dosáhnout redukcí aminací polyethyleniminu v přítomnosti oligosacharidů (Thünemann *et al.*, 2011).

Tyto makromolekuly ve vodném roztoku existují izolovaně a neaglomerují se. Typické izoelektrické body jsou pro polyethyleniminové dendrimery s oligosacharidovými plášti mezi pH 7,2 a 9,6. Všechny takové dendrimery vykazují rostoucí hustotu kationtového

náboje se snižující se hodnotou pH (Tripp *et al.*, 2014). Tyto dendritické glykopolyмеры jsou vysoce biokompatibilní v rámci *in vitro* a *in vivo* aplikací včetně vysoké účinnosti při dodání různých nukleových kyselin (Salem *et al.*, 2015).



Obr. 14 Schématické zobrazení polyethyleniminového dendrimeru s maltózovým pláštěm

2.3 Teorie rozpustnosti polymerů

Dr. Dietmar Appelhans z Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden navrhl pokusit se o fyzikální zesíťování nanovláčkové vrstvy z želatiny a dendrimerů PEI 25k – Mal B pomocí kyseliny polyakrylové, pro kterou bylo nutné nalézt pomocí Hansenových parametrů rozpustnosti vhodné rozpouštědlo. Nanesením vodného roztoku kyseliny polyakrylové na nanovláčkovou vrstvu z želatiny a dendrimerů totiž docházelo k jejímu rozpouštění.

Výběr rozpouštědel nebo směsí rozpouštědel pro rozpuštění polymerů je založené na zkušenostech, pokusech a omylech či pravidlu „podobné se rozpouští v podobném“. V literatuře se píše například o Hildebrandově parametru rozpustnosti, Hansenových parametrech rozpustnosti nebo o trojúhelníkovém diagramu nazývaném Teasův graf (Burke, 1984).

2.3.1 Hildebrandův rozpustnostní parametr

Hildebrandův parametr rozpustnosti je číselná hodnota, která naznačuje chování specifického rozpouštědla a je odvozena od hustoty kohezní energie. Tato veličina odpovídá energii, která je potřeba k překonání přitažlivých sil mezi molekulami a díky níž následně dojde k oddělení molekul při jejich odpařování. Hustota kohezní energie je definována jako:

$$c = \frac{\Delta H - RT}{V_m}, \quad (1)$$

kde c je hustota kohezní energie, ΔH změna entalpie, R plynová konstanta, T Teplota a V_m molární objem (Hildebrand, 1936).

Hildebrand stanovil druhou odmocninu hustoty kohezní energie jako parametr rozpustnosti, který je dán vztahem:

$$\delta = \sqrt{c} = \left(\frac{\Delta H - RT}{V_m} \right)^{\frac{1}{2}}. \quad (2)$$

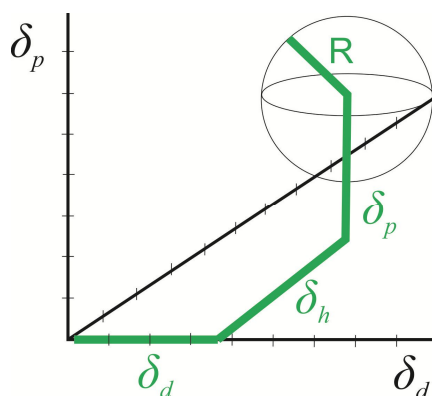
Parametr rozpustnosti je vyjadřován v jednotkách $(\text{cal} \cdot \text{cm}^3)^{1/2}$ nebo $\text{MPa}^{1/2}$ a charakterizuje všechny přitažlivé síly mezi molekulami. Hildebrand stanovil parametry rozpustnosti pro jednotlivá rozpouštědla, a tím také získal jejich „spektrum“. Lze tedy očekávat, že určitý materiál bude v sousedních rozpouštědlech rozpustný (Burke, 1984).

2.3.2 Hansenovy parametry rozpustnosti

Nejrozšířenější systém složený ze tří komponent založil v roce 1966 Charles M. Hansen a celkový Hildebrandův parametr rozpustnosti rozdělil do tří částí, na složku disperzních sil, polarizačních sil a vodíkových můstků. To znamená, že Hansenovy parametry jsou dány vztahem:

$$\delta_t^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2, \quad (3)$$

kde δ_t^2 je celkový Hildebrandův parametr, δ_d^2 disperzní parametr, δ_p^2 polární parametr a δ_h^2 parametr vodíkových vazeb. Charles Hansen ke zjištění rozpustnosti polymeru použil trojrozměrný model zobrazený na obr. 15. Graf je složen ze tří os, na kterých jsou vyneseny tři složky parametrů rozpustnosti polymeru δ_d , δ_p a δ_h . Průsečíky těchto tří složek určují střed rozpustnostní sféry polymeru, jež je definována poloměrem R . V případě, že bod tvořený souřadnicemi Hansenových parametrů rozpustnosti rozpouštědla leží uvnitř sféry polymeru, pak rozpouštědlo polymer rozpouští. V opačném případě, kdy bod tvořený souřadnicemi Hansenových parametrů rozpustnosti rozpouštědla leží mimo sféru, rozpouštědlo polymer nerozpouští (Hansen, 1967).



Obr. 15 Hansenův trojrozměrný model rozpustnosti určitého polymeru (Burke J., 1984)

2.3.3 Teasův graf

Zjednodušený dvojrozměrný model ve tvaru trojúhelníku v roce 1968 představil Jean P. Teas. Teas zavedl frakční parametry, jež jsou matematicky odozeny z Hansenových parametrů a udávají procentuální příspěvky, kterými každý z Hansenových parametrů přispívá k celkovému Hildebrandovu parametru rozpustnosti. Tyto frakční parametry lze vyjádřit jako:

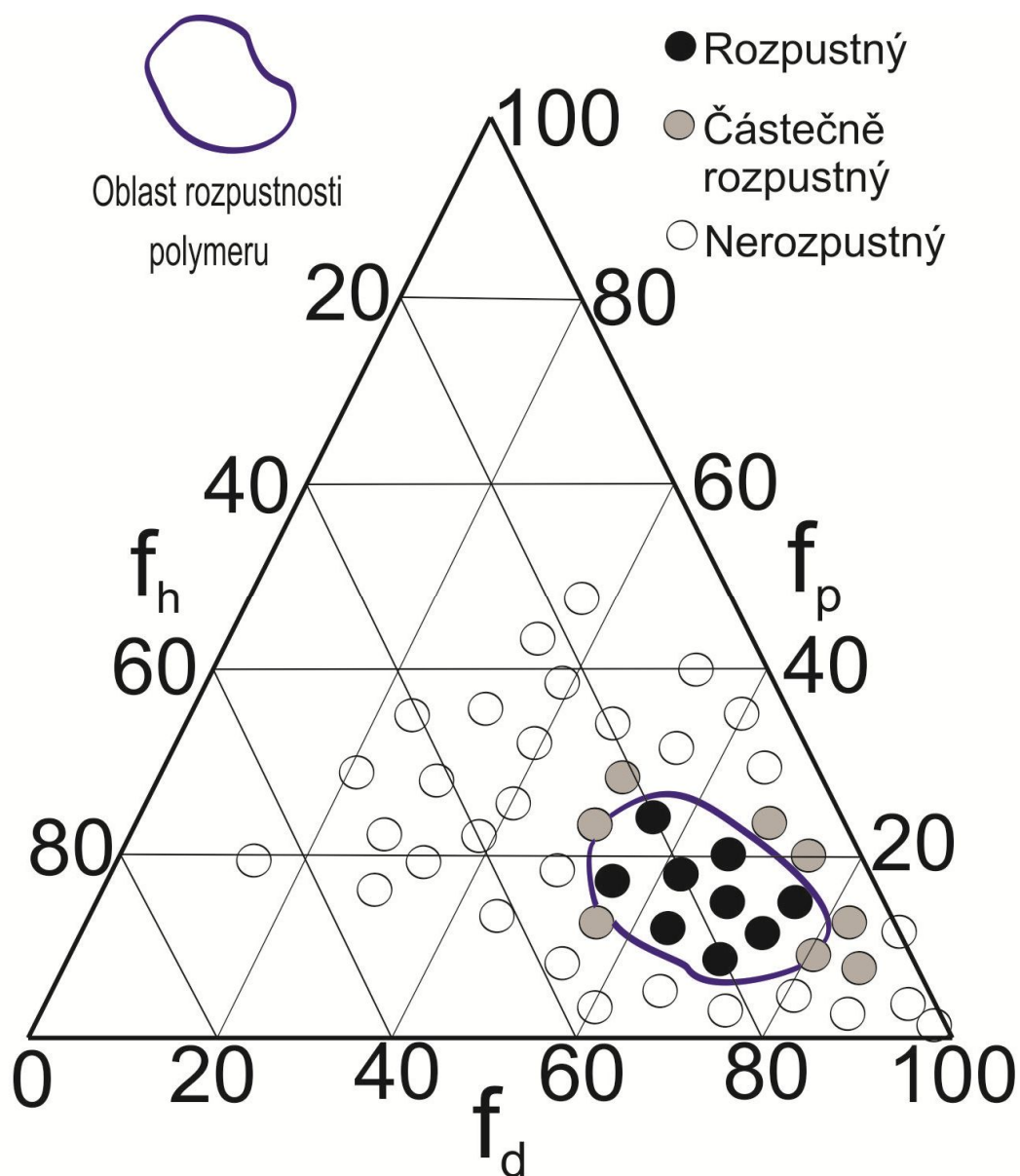
$$f_d = 100 \frac{\delta_d}{\delta_d + \delta_p + \delta_h}, \quad (4)$$

$$f_p = 100 \frac{\delta_p}{\delta_d + \delta_p + \delta_h}, \quad (5)$$

$$f_h = 100 \frac{\delta_h}{\delta_a + \delta_p + \delta_h}. \quad (6)$$

V trojúhelníkovém diagramu, který je plochý, jsou celkem tři osy. Každá ze stran trojúhelníku je určena pro jeden ze tří frakčních parametrů. Frakční parametr vodíkových vazeb se nachází na levé straně, frakční polární parametr na pravé straně a frakční disperzní parametr na spodní straně trojúhelníku. Pomocí těchto frakčních parametrů lze v trojúhelníkovém grafu umístit rozpouštědla na přesně definovaná místa (Teas, 1968).

Pro jednotlivé polymery lze v trojúhelníkovém diagramu stanovit jejich oblasti rozpustnosti (viz *obr. 16*), jež jsou testovány experimentálně. Podle stupně bobtnání nebo rozpuštění polymeru v různých rozpouštědlech jsou v trojúhelníkovém diagramu na pozici každého testovaného rozpouštědla zakresleny body, z nichž následně vzniká oblast, ve které se nacházejí rozpouštědla se schopností polymer rozpouštět (Burke, 1984). Rozpouštědla, jež ohraničují tuto oblast, mají rozpouštěcí schopnost pouze částečnou. Oblast rozpustnosti polymeru má specifickou velikost, tvar a umístění v trojúhelníkovém diagramu v závislosti na polaritě, molekulové hmotnosti polymeru, koncentraci a teplotě, při které se měření provádějí. Teplota má za následek zvětšení oblasti rozpustnosti polymeru kvůli nárůstu míry neuspořádanosti (entropie) systému. S nižší koncentrací polymeru dochází také ke snížení neuspořádanosti systému, a tudíž se i oblast rozpustnosti určitého polymeru zmenšuje. Viskozita roztoku se liší v závislosti na tom, kde se v oblasti rozpustnosti polymeru rozpouštědlo nachází. Rozpouštědla ve středu oblasti rozpustnosti polymeru rozpouštějí polymer tak účinně, že jednotlivé molekuly polymeru se rozvinují a natahují. Za těchto podmínek se molekulární povrch s odpovídajícím zvýšením mezimolekulární přitažlivosti zvětšuje. Molekuly tak mají tendenci se navzájem přitahovat a zamotávat, což vede k roztokům s vyšší viskozitou. Viskozita rozpuštěného polymeru je tedy vyšší v případě, že se rozpouštědlo nachází poblíž středu oblasti rozpustnosti polymeru (Teas, 1968).



Obr. 16 Hansenovy parametry rozpustnosti zobrazené pomocí Teasova grafu s oblastí rozpustnosti určitého polymeru (Burke J., 1984)

3 Experimentální část

Cílem této práce je ověření návrhu Dr. Dietmara Appelhans, že fyzikálního zesíťování nanovlákněné vrstvy z želatiny a dendrimerů lze dosáhnout použitím kyseliny polyakrylové. Dosud bylo vyvinuto mnoho metod pro zesíťování makromolekul želatiny, avšak tyto metody se zabývají zesíťováním želatiny ve formě roztoku, nebo ve formě tenkých filmů. Ne všechny jsou vhodné pro síťování nanovláken (Komárek, 2005).

Tato diplomová práce v kapitole 3.1 charakterizuje látky, jež byly v experimentální části použity. Kapitola 3.2 popisuje postup výroby nanovlákněných vrstev a v kapitole 3.3 jsou uvedeny pokusy o jejich zesíťování.

3.1 Použité látky

V následující kapitole jsou popsány látky, které byly v experimentální části použity.

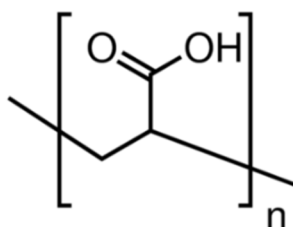
Rybí želatina

Želatina z kůže ryb ze studených vod byla zakoupena v pevném stavu od společnosti Sigma Aldrich. Rybí želatina má totiž oproti ostatním typům želatiny výhodu ve schopnosti reverzibilně gelovat a roztavit se pod 37 °C (Feng, 2014).

Kyselina polyakrylová

Roztok kyseliny polyakrylové (dále jen PAA) s molární hmotností 100.000 g·mol⁻¹ a koncentrací 35 % ve vodě byl zakoupen od společnosti Sigma Aldrich. PAA ve formě prášku s hmotnostní průměrnou molární hmotností 1.080.000 g·mol⁻¹ a početní průměrnou molární hmotností 135.000 g·mol⁻¹ byla zakoupena od společnosti Acros Organics.

PAA je hygroskopická, bezbarvá kapalina s teplotou tání téměř 106 °C a strukturním vzorcem zobrazeným na obr. 17.



Obr. 17 Strukturní vzorec kyseliny polyakrylové

Dendrimery

Dendrimery s označením PEI 25k – Mal B z Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden byly použity pro experimentální část této práce. Jedná se o vysoce rozvětvené polyethyleniminové dendrimery s oligosacharidovými pláštěmi (viz *obr. 14*), kde polyethylenimin o molekulové hmotnosti $25\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ tvoří jádro dendrimeru. Tyto dendrimery mají otevřenou strukturu pláště, který je ve formě maltózy. Periferní skupiny pláště jsou složeny převážně ze sekundárních aminoskupin nesoucích jednu molekulu maltózy a pouze z několika terciárních aminoskupin nesoucích dvě molekuly maltózy. V této diplomové práci byly použity dendrimery s laboratorním označením Stp 4630 a 4148.

Rozpouštědla

Vlastnosti a výrobci použitých rozpouštědel jsou uvedeny v *tab. 1*.

Tab. 1 Použitá rozpouštědla a jejich vlastnosti

Rozpouštědlo	Teplota varu [°C]	Teplota tání [°C]	Výrobce
Aceton	56	-94	PENTA s.r.o.
Benzen	80	5,5	Chemapol a.s.
N-butylalkohol	116-118	-90	PENTA s.r.o.
Diethylamin	56	50	Sigma Aldrich
N,N-dimethylacetamid	164,5-166	20	PENTA s.r.o.
N,N-dimethylformamid	153	61	PENTA s.r.o.
1,4-Dioxan	100-102	10-12	Chemapol a.s.
Ethanol	117,3	78,5	PENTA s.r.o.
Furan	32	-85,6	Sigma Aldrich
N-hexan	69	-95	PENTA s.r.o.
Chloroform	61	-63,5	PENTA s.r.o.
Isopropanol	81,4	-89,5	PENTA s.r.o.
Kyselina mravenčí	100-101	8,4	PENTA s.r.o.
Kyselina octová	116-118	17	PENTA s.r.o.
Methanol	64-65	-98	PENTA s.r.o.

Propylenglykol	187	-60	PENTA s.r.o.
Tetrahydrofuran	65-67	-108	ML chemica
Toluen	110	-94,5	Chemapol a.s.
Xylen	140	-47,87-13,26	Chemapol a.s.

3.2 Výroba nanovláknenných vrstev

Pro pokusy o zesíťování nanovláknenných vrstev z želatiny prostřednictvím dendrimerů a kyseliny polyakrylové byly připraveny tři níže popsané roztoky, které byly zahřívány na míchadle při teplotě 40 °C a následně zvlákněny. Zvláknění probíhalo na zařízení Nanospider LAB, které je složeno z jedné zvláknovací elektrody o délce 300 mm, a vyrobená nanovláknna byla nanášena na podkladový materiál spunbond s šířkou 500 mm. Použité napětí na zvláknovací elektrodě bylo -10 kV, napětí na kolektoru 55 kV, vzdálenost kolektor-zvláknovací elektroda 145 mm a rychlost odtahu 5 mm/min.

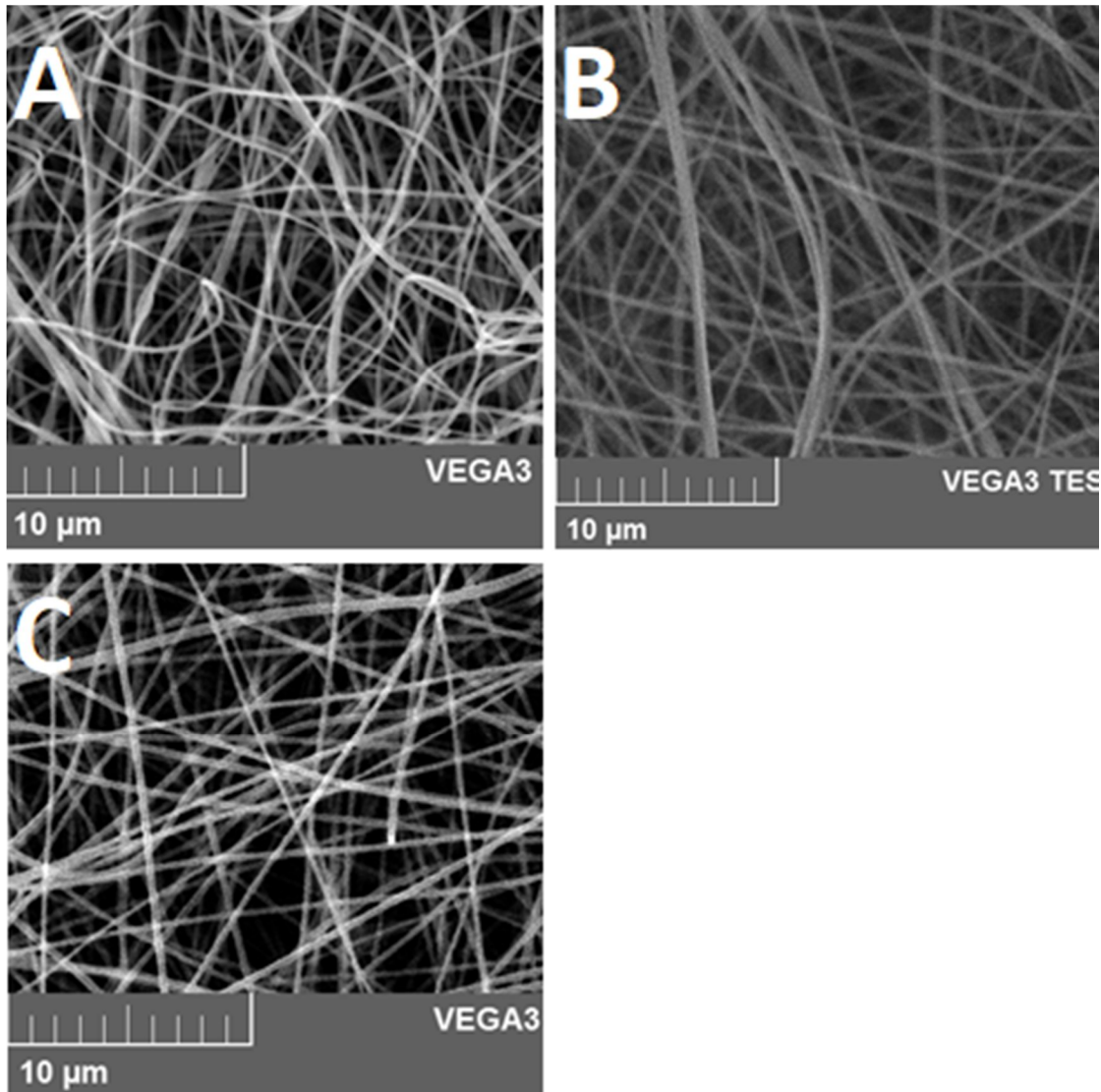
Nejdříve byl připraven jeden 25% roztok rybí želatiny v destilované vodě s přidáním dendrimerů Stp 4630 o koncentraci 2 %. Pro zvláknění byla použita teplota vzduchu vhněného do komory 27 °C a relativní vlhkost 28 %. S cílem zesíťování byly na tyto vzorky vláknenné vrstvy následně nanášeny vodné i nevodné roztoky kyseliny polyakrylové.

Pro zesíťování nanovláknenných vrstev nanesením kapky vody nebo vystavením parám vodných či nevodných rozpouštědel v exsikátoru byl připraven 2% roztok dendrimerů Stp 4148 v destilované vodě, do něhož byla přidána želatina o koncentraci 25 % a na závěr 1 % kyseliny polyakrylové ve formě vodného roztoku. V případě, že želatina byla přidána až nakonec, došlo již v roztoku k interakci dendrimerů s kyselinou polyakrylovou a následná reakce s želatinou už neproběhla. Bylo tedy nutné kyselinu polyakrylovou přidat do roztoku až na závěr. Zvláknění této vláknenné vrstvy probíhalo při teplotě vzduchu vhněného do komory 24 °C a při relativní vlhkosti 27 %.

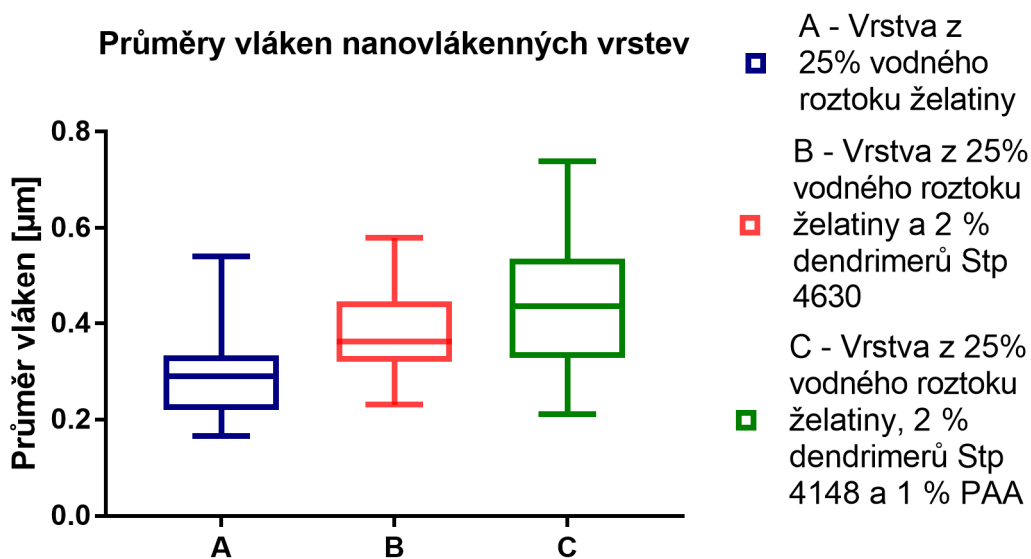
Jako poslední byl pro výrobu kontrolního vzorku připraven vodný roztok, který obsahoval pouze 25 % rybí želatiny. Během zvláknování tohoto roztoku byla teplota vzduchu vhněného do komory 29 °C a relativní vlhkost 24 %.

Po pokrytí vyrobených vzorků tenkou vrstvou (7 nm) zlata byly na elektronovém rastrovacím mikroskopu VEGA 3 od společnosti TESCAN vytvořeny snímky (viz obr.

18) a následně vyhodnoceny statistické parametry nanovláken pomocí softwaru obrazové analýzy NIS – Elements. Pro každý vzorek bylo provedeno 100 měření a získané hodnoty byly vyneseny do grafu (viz *graf 1*), ze kterého je patrné, že nejmenšího průměru vláken bylo dosaženo v případě zvláknování 25% roztoku želatiny v destilované vodě, zatímco vláknenná vrstva z 25% vodného roztoku želatiny se 2 % dendrimerů Stp 4148 a s 1 % kyseliny polyakrylové vykazovala průměry vláken nejvyšší.



Obr. 18 Snímek nanovláknenné vrstvy z 25% vodného roztoku želatiny (A), z 25% vodného roztoku želatiny s dendrimery o koncentraci 2 % (B), z 25% vodného roztoku želatiny s dendrimery o koncentraci 1 % a s 1 % kyseliny polyakrylové (C)



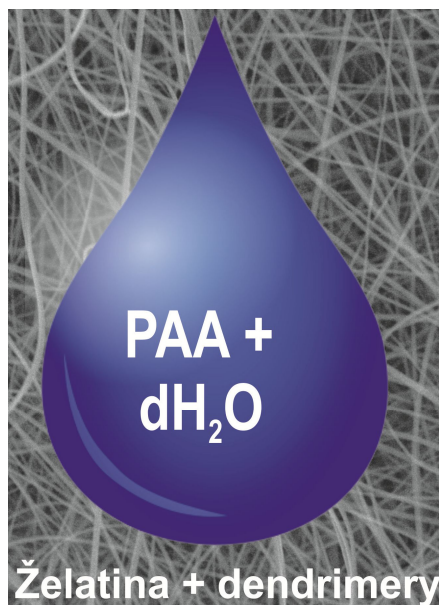
Graf 1 Naměřené hodnoty průměrů vláken nanovláčkových vrstev v programu NIS – Elements

3.3 Síťování nanovláčkových vrstev

Pro ověření návrhu z kapitoly 2.1.3 týkajícího se zesíťování nanovláčkové vrstvy z želatiny prostřednictvím dendrimerů a kyseliny polyakrylové bylo provedeno několik pokusů. Zvlákněné vrstvy byly ponořeny do vodných či nevodných rozpouštědel kyseliny polyakrylové nebo byly vystaveny parám těchto rozpouštědel. Pro zhodnocení, zda došlo k procesu síťování, byla testována rozpustnost vzorků ve vodě.

3.3.1 Síťování vláken nanosením PAA rozpuštěné ve vodě

V prvním pokusu o zesíťování vláčkové vrstvy z želatiny a dendrimerů byly na vrstvu nanášeny vodné roztoky kyseliny polyakrylové (viz obr. 19). 1% a 5% vodný roztok kyseliny polyakrylové byl připraven ze zakoupeného 35% vodného roztoku. Následně byly pomocí mikropipety tyto dva roztoky nanášeny ve formě kapek o objemu 0,4 μ l na nanovláčkovou vrstvu. Jednalo se o vrstvu zvlákněnou z vodného roztoku želatiny a vrstvu z vodného roztoku želatiny a dendrimerů.

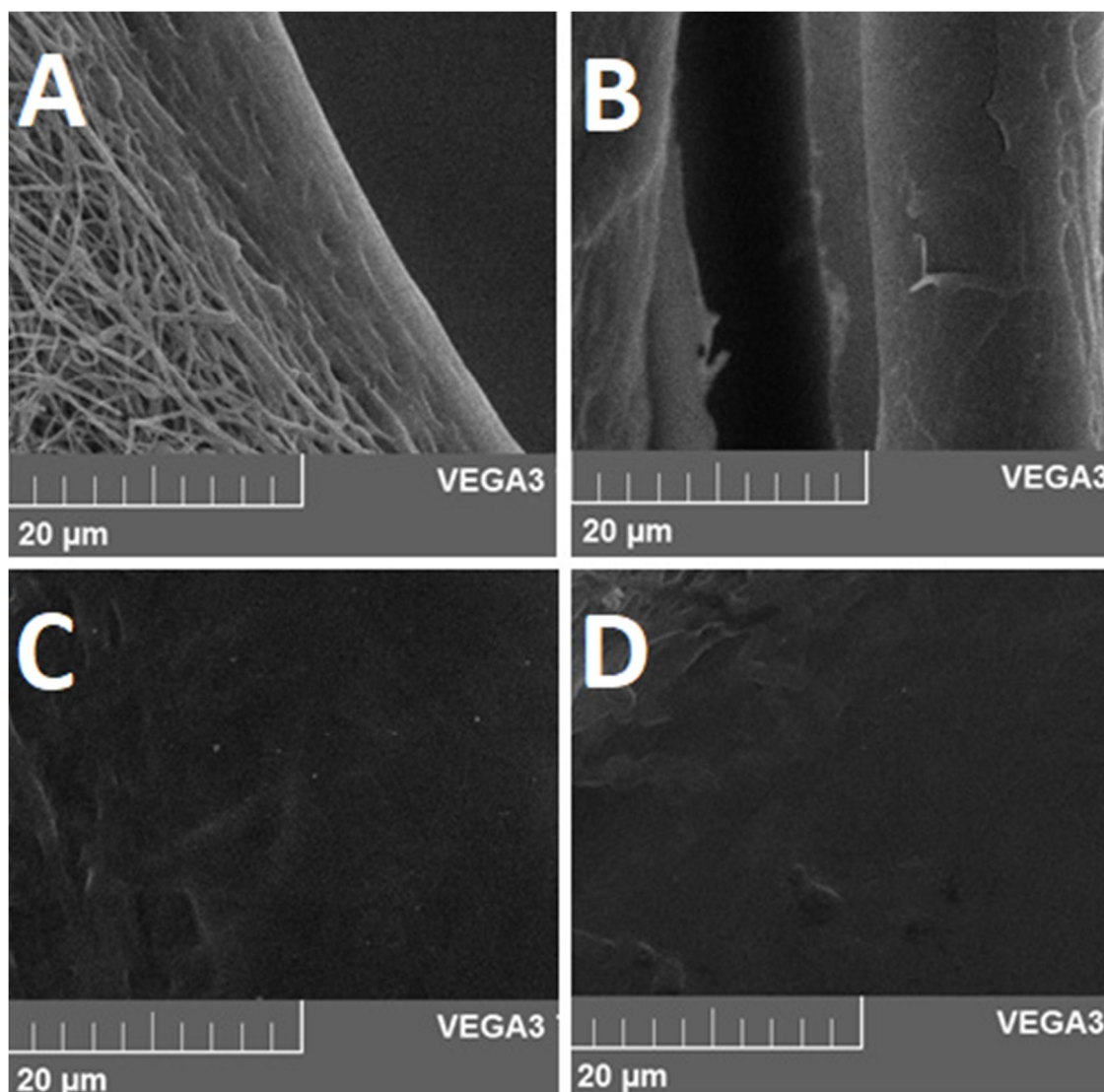


Obr. 19 Schématické zobrazení nanosení 1% nebo 5% vodného roztoku kyseliny polyakrylové na nanovláknennou vrstvu z vodného roztoku želatiny a dendrimerů

Ze snímků (viz obr. 20), které byly po nanosení kapek vytvořeny pomocí elektronového rastrovacího mikroskopu, je patrné, že ve všech případech došlo v místě nanosení kapek k rozpuštění vláknenné vrstvy, a bylo tedy nutné zvolit jinou metodu síťování. Dá se předpokládat, že nanosením vodných roztoků kyseliny polyakrylové na vláknennou vrstvu z želatiny a dendrimerů nestihlo k interakci dendrimerů ani aminokyselin s kyselinou polyakrylovou dojít, proto byla pro následující experiment kyselina polyakrylová přidána už do roztoku želatiny ještě před jeho zvlákněním.

3.3.2 Síťování nanosením vody na vrstvu zvlákněnou s přidáním PAA

V předchozím experimentu s cílem zesíťování vláknenné vrstvy nanosením vodného roztoku kyseliny polyakrylové nestihlo k interakci dendrimerů ani aminokyselin s kyselinou polyakrylovou dojít a v místě nanosení roztoku došlo k rozpuštění vzorku. Pro další experiment byla tedy kyselina polyakrylová přidána do vodného roztoku želatiny s dendrimery ještě před procesem zvlákněním a následně byly na vyrobenou vláknennou vrstvu nanoseny pomocí mikropipety kapky destilované vody o objemu 0,4 μ l (viz obr. 21).



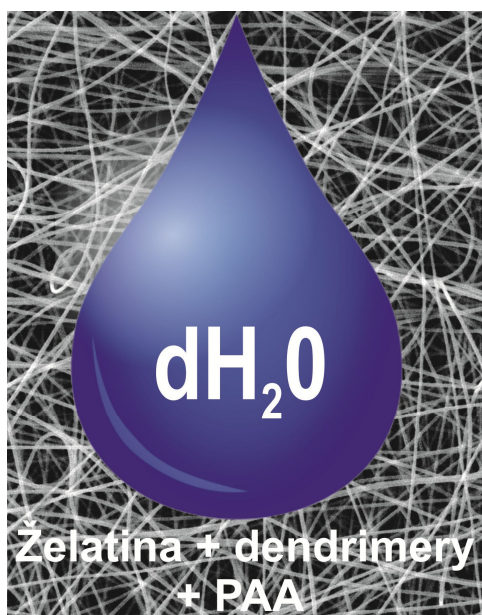
Obr. 20 Snímky nanovláknenných vrstev z vodného roztoku želatiny: (A) po kápnutí 1% vodného roztoku PAA, (B) po kápnutí 5% vodného roztoku PAA, (C) s dendrimery po kápnutí 1% vodného roztoku PAA, (D) s dendrimery po kápnutí 5% vodného roztoku PAA

Ze snímku na obr. 22 je patrné, že nanesením kapky destilované vody na nanovláknennou vrstvu došlo opět v místě nanesení k jejímu rozpuštění. Pro další pokusy byla tedy navržena jiná metoda síťování, která je šetrnější k vrstvě, a to vystavení vláken vodním parám.

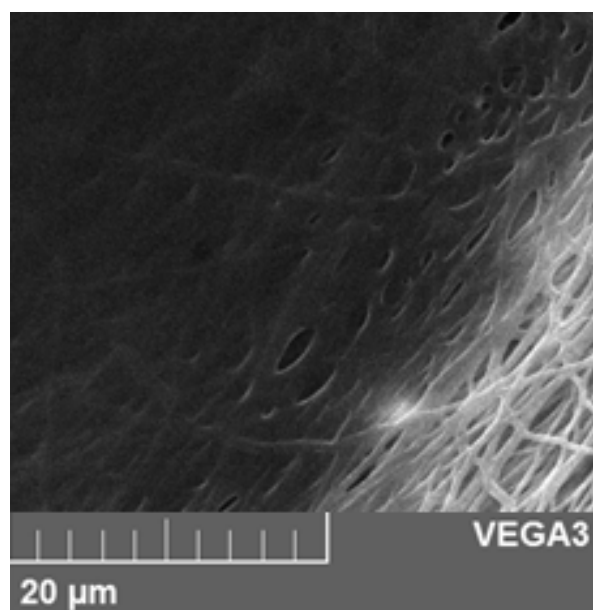
3.3.3 Síťování vláken vystavením vodním parám v exsikátoru

V kapitole 3.3.2 byl popsán experiment s cílem zesíťování vláknenné vrstvy nanesením kapky vody na vrstvu z želatiny, dendrimerů a kyseliny polyakrylové. Vzhledem k tomu, že nanesením kapky vody došlo k rozpuštění vláknenné vrstvy, tak byla pro další

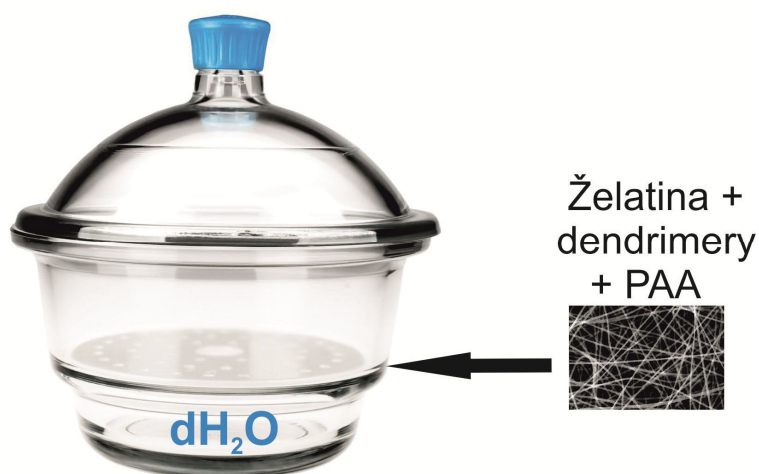
pokus zvolena metoda šetrnější k vlákně vrstvě, a to síťování prostřednictvím vodních par v exsikátoru. Pro tento experiment byla použita vrstva zvlákněná z vodného roztoku želatiny, dendrimerů a kyseliny polyakrylové. Na dno exsikátoru byla umístěna voda, nad níž byly na horní děrovanou porcelánovou plošinku položeny vzorky v Petriho miskách (viz obr. 23). Pomocí vlhkoměru byla v exsikátoru předem naměřena relativní vlhkost 91,1 % a teplota 22,7 °C.



Obr. 21 Schématické zobrazení nanosení destilované vody na vláknennou vrstvu z vodného roztoku želatiny, dendrimerů a PAA



Obr. 22 Snímek nanovláknenné vrstvy z vodného roztoku želatiny, dendrimerů a PAA po nanosení destilované vody



Obr. 23 Schématické zobrazení síťování nanovláknenné vrstvy z vodného roztoku želatiny, dendrimerů a PAA vystavením vodním parám v exsikátoru

Dvě hodiny po umístění vzorků do exsikátoru však došlo ke ztrátě morfologie vláken a ze vzorků se stala fólie. Díky účinku vodní složky plynné fáze došlo k narušení struktury nanovlákněné vrstvy, a bylo tedy nutné nalézt takové rozpouštědlo, které by kyselinu polyakrylovou rozpustilo, zatímco nanovlákněná vrstva z želatiny by se po nanesení roztoku této kyseliny nerozpustila.

3.3.4 Síťování vláken ponořením do PAA ve vhodném rozpouštědle

V experimentu uvedeném v kapitole 3.3.1 týkajícího se zesíťování vlákněné vrstvy z želatiny a dendrimerů prostřednictvím nanesení vodného roztoku kyseliny polyakrylové došlo k okamžitému rozpuštění vlákněné vrstvy. Po nanesení vody na vlákněnou vrstvu z želatiny, dendrimerů a kyseliny polyakrylové (viz kapitola 3.3.2) došlo také k rozpuštění vzorků, a tak bylo nutné nalézt takové rozpouštědlo kyseliny polyakrylové, které by nanovlákněnou vrstvu z želatiny a dendrimerů nerozpustilo a zároveň by kyselina polyakrylová rozpuštěná v tomto rozpouštědle nanovlákněnou vrstvu zesíťovala. Při kontaktu s vodou totiž docházelo ke ztrátě morfologie vláken.

Hledání rozpouštědla odpovídajícímu těmto podmínkám bylo provedeno Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Hansenova modelu a Teasova grafu. Pro tyto experimenty byla použita kyselina polyakrylová ve formě prášku a nanovlákněná vrstva vyrobená z vodného roztoku želatiny.

Hledání vhodného rozpouštědla využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenova modelu

Pro nalezení rozpouštědla, které kyselinu polyakrylovou rozpouští, zatímco nanovlákněnou vrstvu z želatiny ne, byly sestaveny Hansenovy parametry rozpustnosti pomocí Hansenova modelu s použitím polárního parametru a parametru vodíkových vazeb. Již sestavené Hansenovy parametry rozpustnosti pomocí Hansenova modelu se sférou rozpustnosti kyseliny polyakrylové nebo želatiny však v dostupné literatuře nalezeny nebyly, proto byly provedeny experimenty rozpustnosti kyseliny polyakrylové a nanovlákněné vrstvy z želatiny v náhodně zvolených rozpouštědlech.

Z literatury bylo zjištěno, že kyselina polyakrylová je rozpustná v dioxanu, dimethylformamidu, ethanolu, methanolu a ve vodě (Hughes, L. J. a Britt, 1961). V našich experimentech bylo 1 % kyseliny polyakrylové rozpuštěno v dimethylacetamidu, acetonu, butylalkoholu, chloroformu, xylenu, toluenu, hexanu, cyklohexanu a tetrahydrofuranu.

Pro ověření informace z literatury byly provedeny i experimenty rozpustnosti 1% kyseliny polyakrylové v dioxanu, dimethylformamidu, ethanolu a methanolu. Provedením experimentů bylo zjištěno, že methanol, ethanol, dioxan, dimethylformamid a dimethylacetamid kyselinu polyakrylovou rozpouští, zatímco aceton, benzen, butylalkohol, chloroform, tetrahydrofuran, xylen, toluen, hexan a cyklohexan ne.

V literatuře bylo dále zjištěno, že celkový Hildebrandův parametr rozpustnosti (δ_t) kyseliny polyakrylové je $24,6 \text{ MPa}^{1/2}$ a Hansenovy parametry rozpustnosti leží v blízkosti hodnot kyseliny akrylové (Thomas, Grohens a Jyotishkumar, 2015). Disperzní parametr (δ_d) kyseliny akrylové je $17,7 \text{ MPa}^{1/2}$, parametr vodíkových vazeb (δ_h) je $14,9 \text{ MPa}^{1/2}$ a polární parametr (δ_p) je $6,4 \text{ MPa}^{1/2}$ (Hansen, 2013). Interakční poloměr, v jehož objemu ležící rozpouštědla kyselinu polyakrylovou rozpouští, však v dostupné literatuře nalezen nebyl. Za použití Hansenových rozpustnostních parametrů rozpouštědel z *tab. 2* a kyseliny akrylové uvedených výše (Hansen, 2013) byl v grafu zobrazeném na *obr. 24* modře vyznačen střed rozpustnostní sféry kyseliny polyakrylové. Na základě provedených experimentů byla do grafu modře vepsána ta rozpouštědla, která kyselinu polyakrylovou rozpustila, a to byl methanol, ethanol, dioxan, dimethylformamid a dimethylacetamid. Dále byla načrtnuta rozpustnostní sféra kyseliny polyakrylové zjištěná z experimentů. Uvnitř sféry tohoto polymeru však leží podle Hansenových parametrů rozpustnosti i ta rozpouštědla, která kyselinu polyakrylovou v našich experimentech nerozpustila, a to byl tetrahydrofuran a butylalkohol.

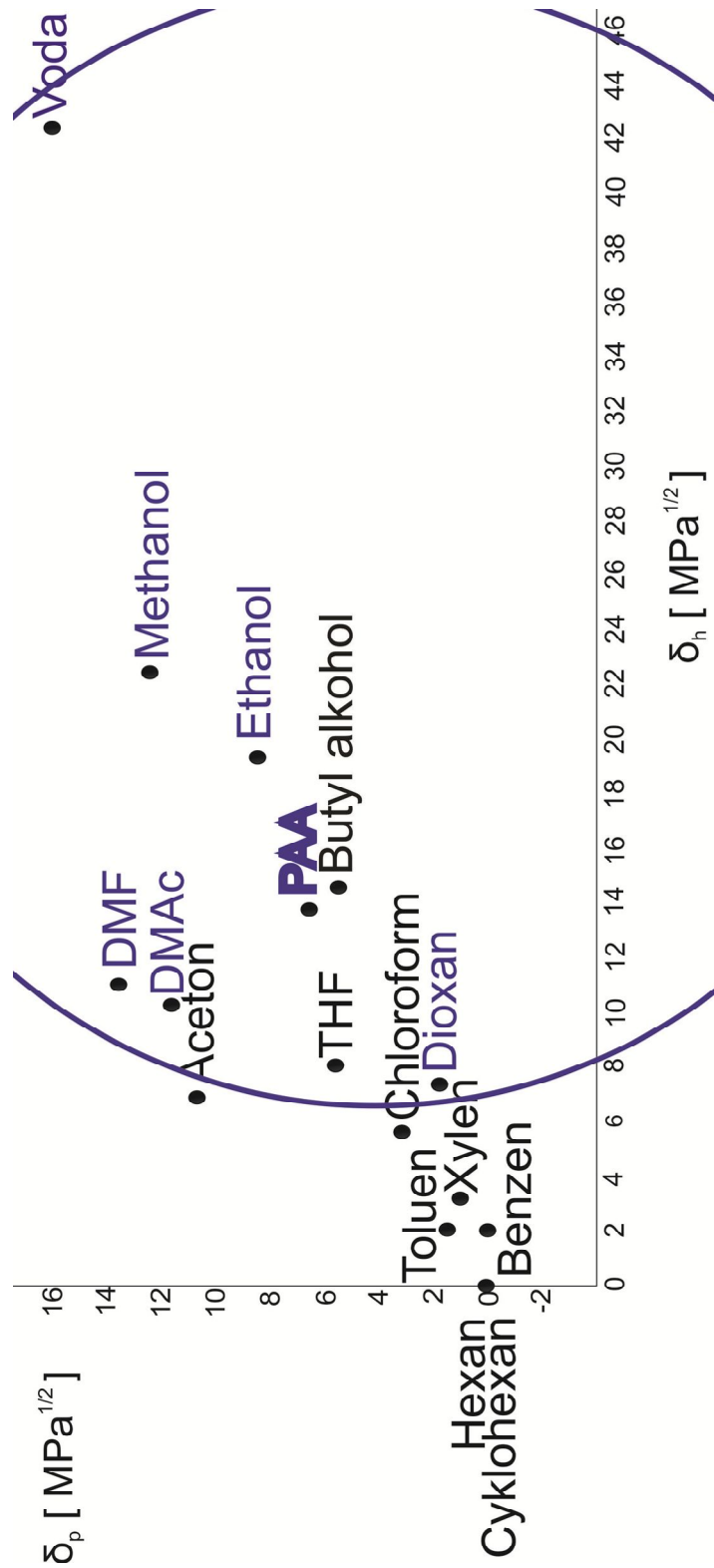
Tab. 2 Hansenovy rozpustnostní parametry v $\text{MPa}^{1/2}$ a frakční parametry rozpustnosti (Burke J., 1984)

Rozpouštědlo	δ_t	δ_d	δ_p	δ_h	fd	fp	fh
Hexane	14,9	14,9	0	0	100	0	0
Cyklohexan	16,8	16,8	0	0,2	94	2	4
Benzen	18,6	18,4	0	2,0	78	8	14
Toluen	18,2	18,0	1,4	2,0	80	7	13
Xylen	18,0	17,8	1,0	3,1	83	5	12

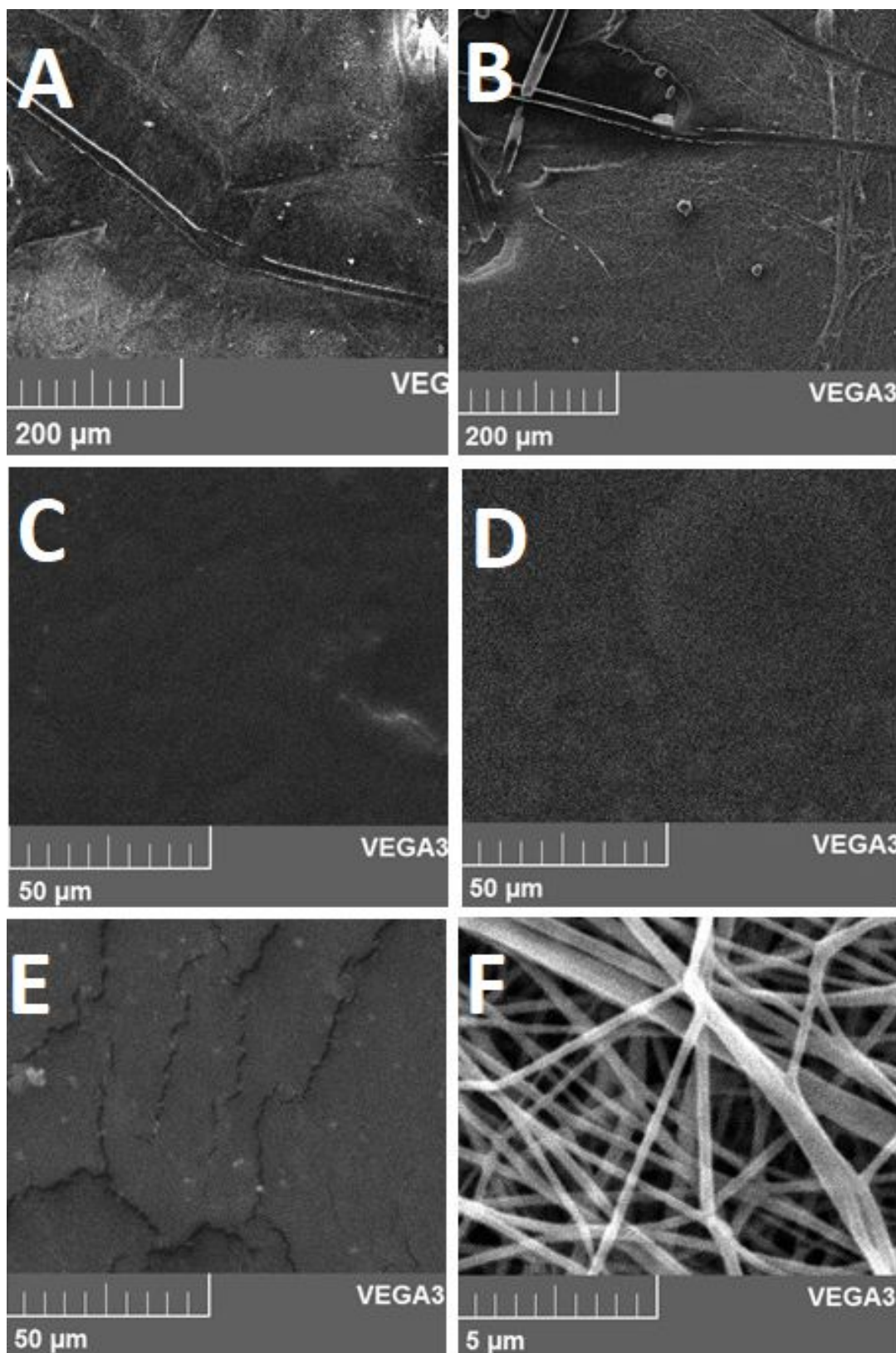
Chloroform	19,0	17,8	3,1	5,7	67	12	21
Tetrahydrofuran	19,4	16,8	5,7	8,0	55	19	26
Dioxan	20,5	19,0	1,8	7,4	67	7	26
Aceton	20,0	15,5	10,4	7,0	47	32	21
Methanol	29,6	15,1	12,3	22,3	30	22	48
Ethanol	26,5	15,8	8,8	19,4	36	18	46
Butyl alkohol	22,2	15,8	5,7	14,5	43	15	42
Dimethylformamid	24,8	17,4	13,7	11,3	41	32	27
Dimethylacetamid	22,8	16,8	11,5	10,2	44	30	26
Voda	47,8	15,6	16,0	42,3	18	28	54

Pro nalezení rozpouštědla, jež kyselinu polyakrylovou rozpouští, zatímco nanovláknennou vrstvu z želatiny ne, byly provedeny i experimenty rozpustnosti nanovláknenné vrstvy z želatiny v těch rozpouštědlech, která již byla použita pro testování rozpustnosti kyseliny polyakrylové, a následně byly na základě výsledků sestaveny Hansenovy parametry rozpustnosti pomocí Hansenova modelu pro nanovláknennou vrstvu z želatiny.

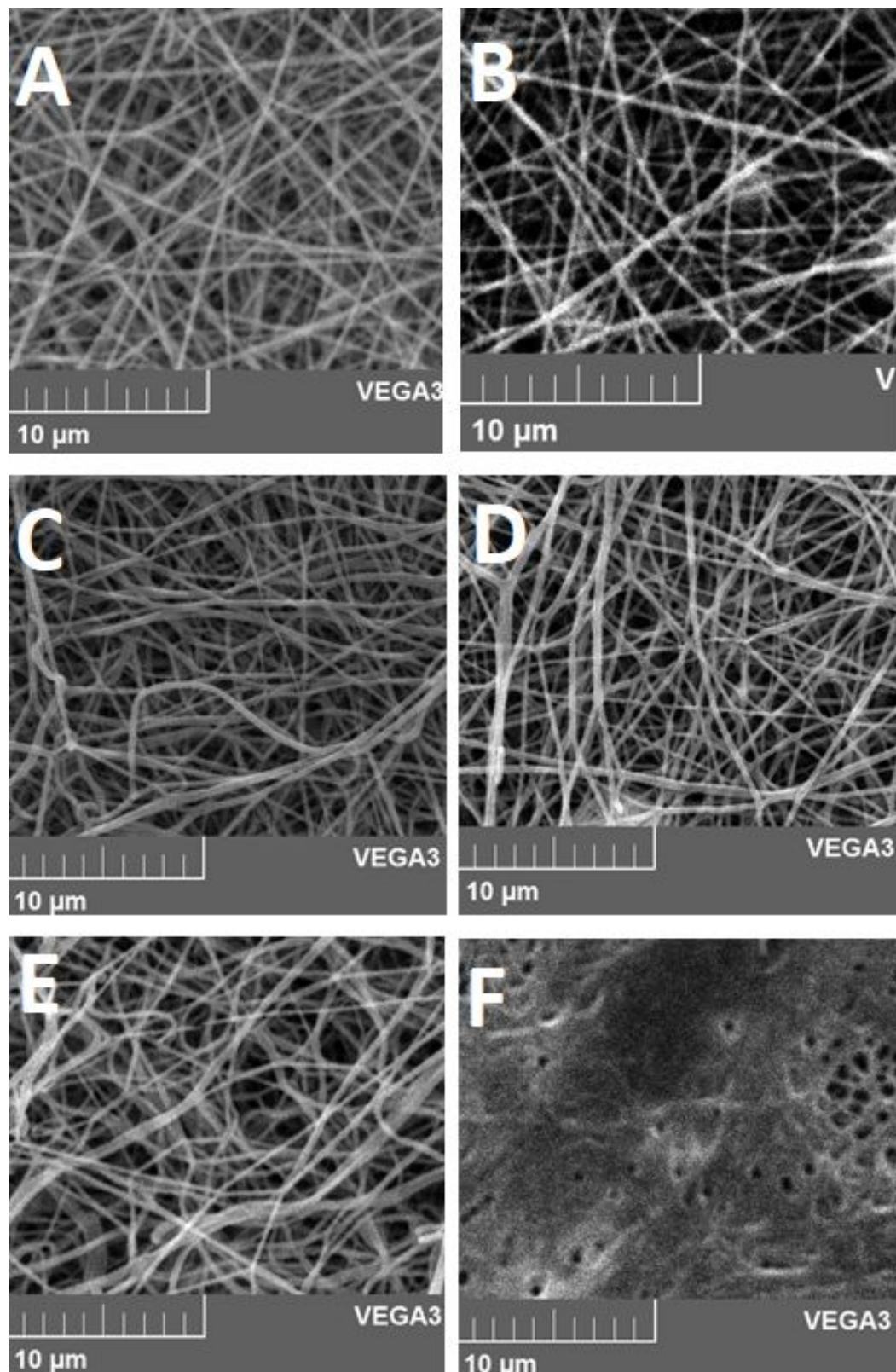
Vzorky vrstvy zvlákněné z vodného roztoku želatiny byly jednotlivě ponořeny do rozpouštědel a následně byla vyhodnocena míra jejich rozpustnosti na elektronovém rastrovacím mikroskopu. Ze snímků (viz obr. 25 až obr. 27) je patrné, že nanovláknenná vrstva z želatiny je rozpustná v methanolu, ethanolu, dimethylformamidu, dimethylacetamidu a hexanu, zatímco v butylalkoholu, acetonu, chloroformu, xylenu, toluenu a cyklohexanu rozpustná není. V tetrahydrofuranu a benzenu se nanovláknenná vrstva rozpustila pouze částečně a v dioxanu nabobtnala.



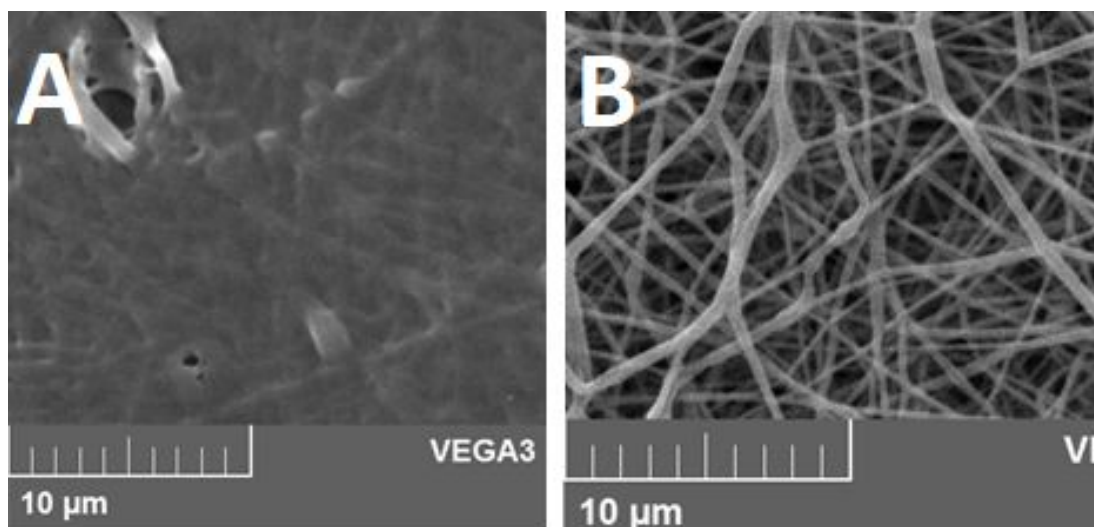
Obr. 24 Hansenovy parametry rozpustnosti zobrazené pomocí Hansenova modelu pro kyselinu polyakrylovou se středem její rozpustnostní sféry zjištěné z literatury a s rozpustnostní sférou načrtnutou na základě provedených experimentů (modře)



Obr. 25 Snímky nanovlákněné vrstvy z vodného roztoku želatiny po ponoření do (A) methanolu, (B) ethanolu, (C) dimethylformamidu, (D) dimethylacetamidu, (E) hexanu a (F) butylalkoholu

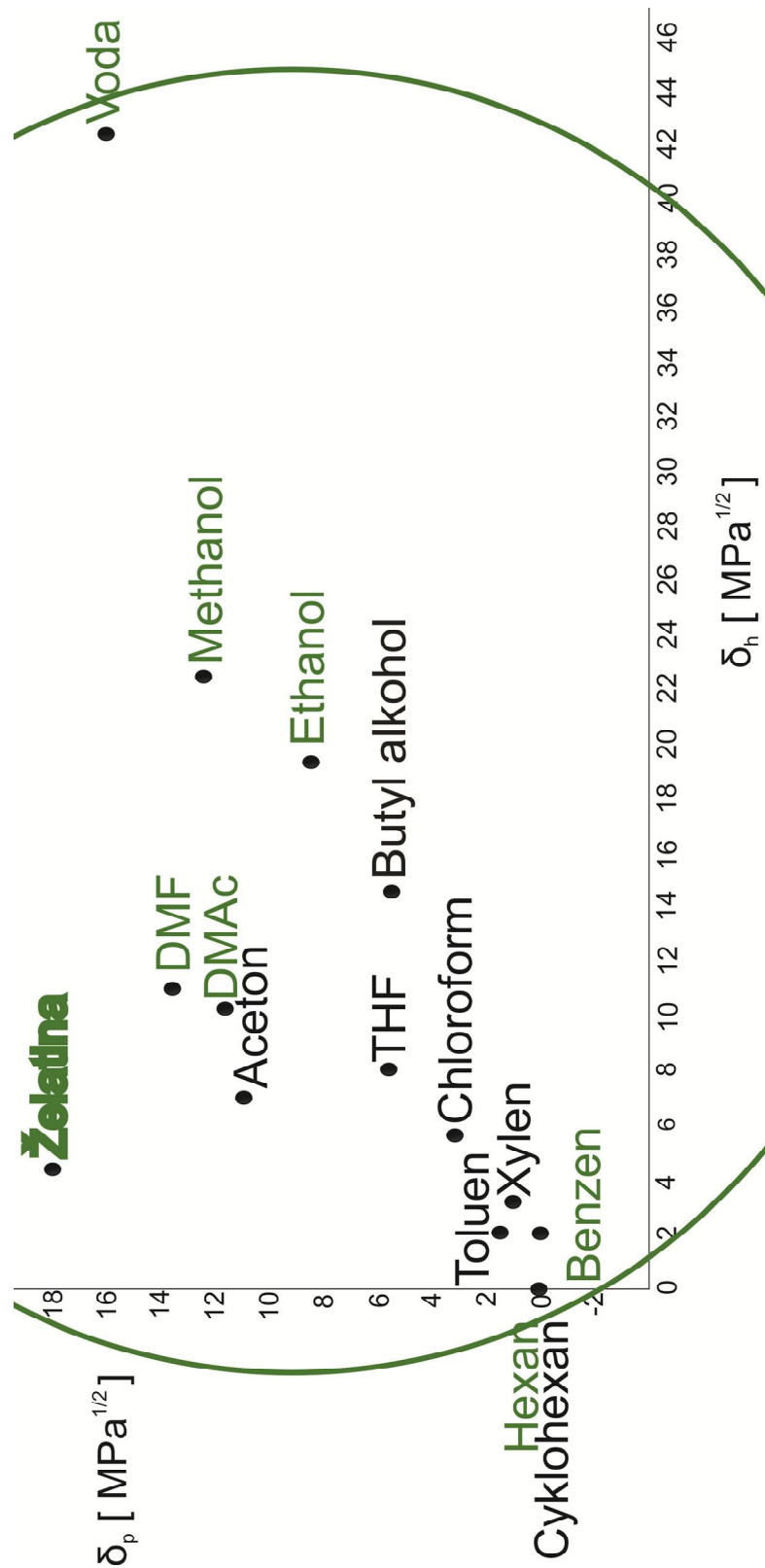


Obr. 26 Snímek nanovlákněné vrstvy z vodného roztoku želatiny po ponoření do (A) acetonu, (B) chloroformu, (C) xylenu, (D) toluenu, (E) cyklohexanu a (F) benzenu



Obr. 27 Snímek nanovláknenné vrstvy z vodného roztoku želatiny po ponoření do (A) tetrahydrofuranu a (B) dioxanu

Z literatury bylo zjištěno, že želatina má celkový Hildebrandův parametr rozpustnosti (δ_t) $24,5 \text{ MPa}^{1/2}$, disperzní parametr (δ_d) přibližně $17,19 \text{ MPa}^{1/2}$ a polární parametr (δ_p) okolo $17,98 \text{ MPa}^{1/2}$ (Patra, Basak and Tibarewala, 2016). Z rovnice (3) lze dopočítat parametr vodíkových vazeb (δ_h), který bude přibližně $4,3 \text{ MPa}^{1/2}$. V dostupné literatuře však interakční poloměr, v jehož objemu leží ta rozpouštědla, jež želatinu rozpouští, nalezen nebyl. Za použití Hansenových rozpustnostních parametrů rozpouštědel z tab. 2 a želatiny uvedených výše (Patra, Basak and Tibarewala, 2016) byl v grafu zobrazeném na obr. 28 zeleně vyznačen střed rozpustnostní sféry želatiny. Na základě provedených experimentů byla do grafu zeleně vepsána ta rozpouštědla, která vláknennou vrstvu želatiny rozpustila, a to byl benzen, methanol, ethanol, dimethylformamid, dimethylacetamid, hexan a voda. Dále byla zeleně načrtnuta rozpustnostní sféra vláknenné vrstvy želatiny zjištěná z experimentů, z níž je patrné, že střed této sféry nesouhlasí se středem nalezeným v literatuře. Uvnitř rozpustnostní sféry této nanovláknenné vrstvy leží podle Hansenových parametrů rozpustnosti i ta rozpouštědla, která vrstvu želatiny v našich experimentech nerozpustila, a to byl butylalkohol, aceton, chloroform, xylen, toluen a cyklohexan.



Obr. 28 Hansenovy parametry rozpustnosti zobrazené pomocí Hansenova modelu pro vláknennou vrstvu z želatiny se středem její rozpustnostní sféry zjištěné z literatury a s rozpustnostní sférou (zeleně) načrtnutou na základě provedených experimentů

Pro nalezení rozpouštědla kyseliny polyakrylové a zároveň nerozpouštědla nanovlákněné vrstvy, bylo nezbytné sloučit Hansenovy parametry rozpustnosti zobrazené pomocí Hansenova modelu pro kyselinu polyakrylovou s Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Hansenova modelu pro nanovlákněnou vrstvu z želatiny. Po sloučení těchto Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenových modelů však taková oblast, ve které leží rozpouštědla, jež kyselinu polyakrylovou rozpouští a zároveň nanovlákněnou vrstvu z želatiny nerozpouští, nalezena nebyla.

Využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenova modelu byla nalezena další dostupná rozpouštědla (viz *tab. 3*), která se nacházejí v rozpustnostní sféře kyseliny polyakrylové, a to kyselina mravenčí, kyselina octová, isopropanol a propylenglykol (viz *obr. 29*), a následně bylo u těchto rozpouštědel experimentálně ověřeno, zda kyselinu polyakrylovou skutečně rozpouští a případně nanovlákněnou vrstvu z želatiny ne.

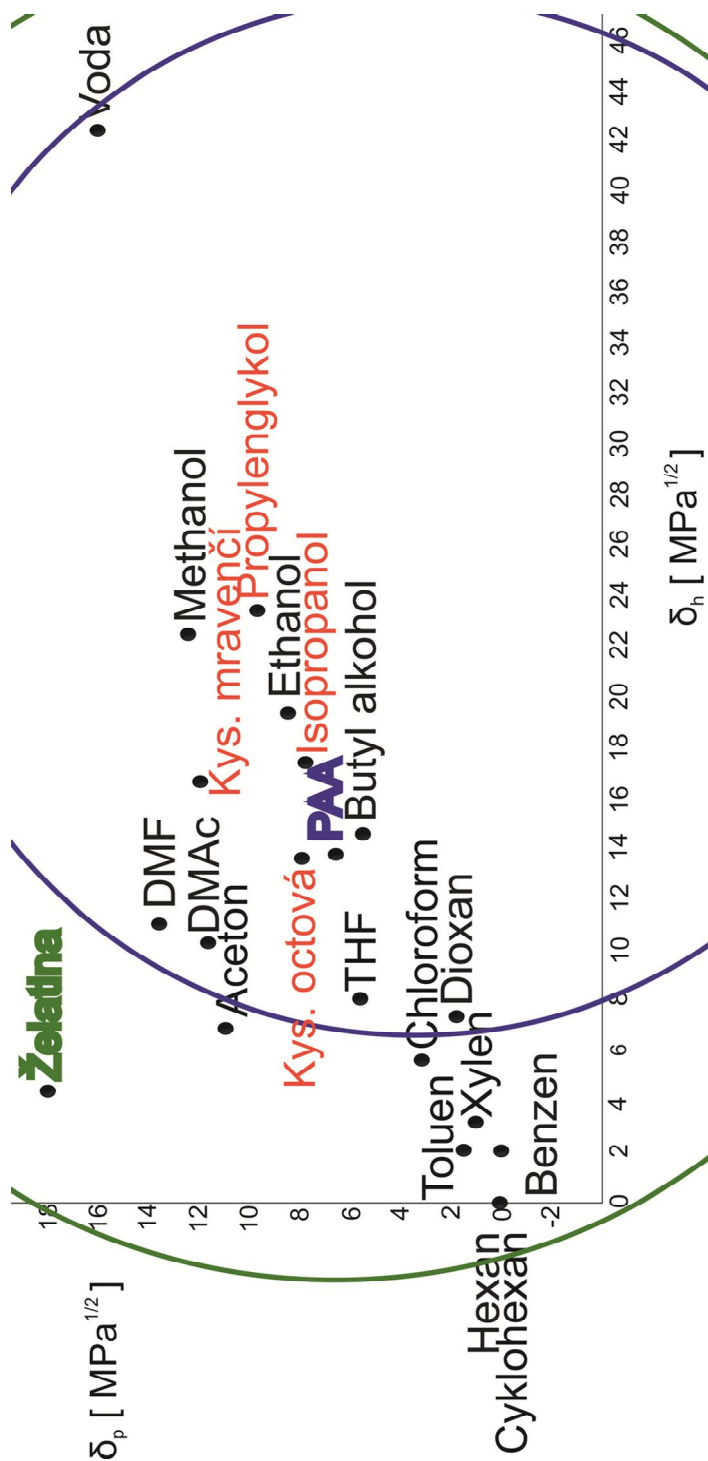
Tab. 3 Hansenovy rozpustnostní parametry nalezených rozpouštědel v $MPa^{1/2}$ (Burke J., 1984)

Rozpouštědlo	δ_t	δ_d	δ_p	δ_h
Isopropanol	23,5	15,8	6,1	16,4
Kyselina mravenčí	24,9	14,3	11,9	16,6
Kyselina octová	21,4	14,5	8,0	13,5
Propylenglykol	30,2	16,8	9,4	23,3

Po ponoření vzorků zvlákněných z vodného roztoku želatiny do kyseliny mravenčí došlo k jejich okamžitému rozpuštění a vzorky ze stejného materiálu se po ponoření do propylenglykolu rozlomily na několik částí, a tak pro další experimenty nebyla tato dvě rozpouštědla vhodná. Z kyseliny octové a isopropanolu byly připraveny dva 1% roztoky kyseliny polyakrylové, ve kterých se však kyselina polyakrylová nerozpustila.

Využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenova modelu pro nalezení rozpouštědla kyseliny polyakrylové a zároveň nerozpouštědla nanovlákněné vrstvy z želatiny nebyla nalezena žádná vhodná rozpouštědla. Tato získaná informace byla dále ověřena Hansenovými parametry zobrazenými pomocí Teasova grafu, do

kterého byla kromě osy s frakčním parametrem vodíkových vazeb a osy s frakčním polárním parametrem vynesena i osa s frakčním disperzním parametrem.



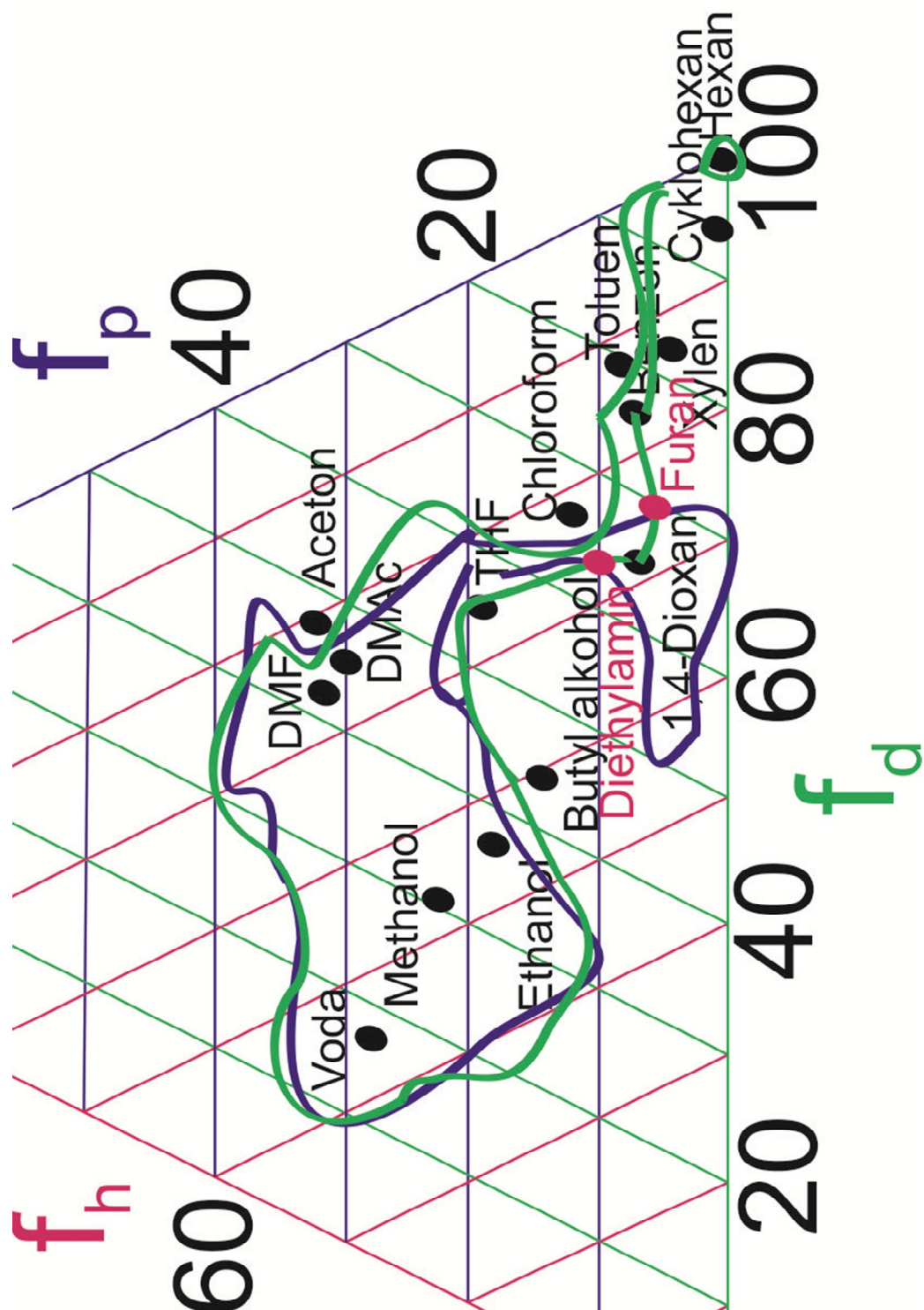
Obr. 29 Sloučení Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenova modelu pro kyselinu polyakrylovou (modře) s Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Hansenova modelu pro želatínu (zeleně) a další nalezená rozpouštědla v rozpustnostní sféře PAA (červeně)

Hledání vhodného rozpouštědla využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu

Hledání rozpouštědla kyseliny polyakrylové a zároveň nerozpouštědla nanovlákněné vrstvy z želatiny využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Hansenova modelu bylo neúspěšné nejspíše z důvodu zanedbání disperzních sil. Pro následující nalezení rozpouštědla byly tedy použity Hansenovy parametry rozpustnosti zobrazené pomocí Teasova grafu, který pro určení oblasti rozpustnosti polymeru využívá nejen frakční parametr vodíkových vazeb a frakční polární parametr, ale i frakční disperzní parametr.

Z předchozích experimentů bylo zjištěno, že methanol, ethanol, dioxan, dimethylformamid a dimethylacetamid kyselinu polyakrylovou rozpouští, zatímco aceton, benzen, butylalkohol, chloroform, tetrahydrofuran, xylén, toluen, hexan a cyklohexan ne. Dále bylo ponořením vzorků zvlákněných z vodného roztoku želatiny do různých rozpouštědel zjištěno, že nanovlákněná vrstva z želatiny je rozpustná v methanolu, ethanolu, dimethylformamidu, dimethylacetamidu, hexanu a ve vodě, zatímco v butylalkoholu, acetonu, chloroformu, xylenu, toluenu a cyklohexanu rozpustná není. V tetrahydrofuranu a benzenu se nanovlákněná vrstva rozpustila pouze částečně a v dioxanu nabobtnala. Z těchto získaných informací a za použití Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova trojúhelníkového diagramu a frakčních parametrů rozpustnosti rozpouštědel z *tab. 2* byla načrtnuta oblast rozpustnosti kyseliny polyakrylové a nanovlákněné vrstvy z želatiny. Obě tyto oblasti rozpustnosti vykazovaly velmi atypický tvar.

Pro zesíťování nanovlákněné vrstvy z želatiny a dendrimerů bylo nutné najít využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova trojúhelníkového diagramu takovou oblast, v níž se nacházejí rozpouštědla, která kyselinu polyakrylovou rozpouští, zatímco vlákněnou vrstvu z želatiny nerozpouští. Po sloučení Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu pro kyselinu polyakrylovou s Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Teasova grafu pro nanovlákněnou vrstvu z želatiny byl jako rozpouštědlo odpovídající naší podmínce vybrán dioxan. Následně byla vyhledána další dvě rozpouštědla, jejichž parametry rozpustnosti se pohybují v požadovaném rozmezí (viz *tab. 4*). Těmito rozpouštědly jsou furan a diethylamin a jsou zobrazeny na *obr. 30*.



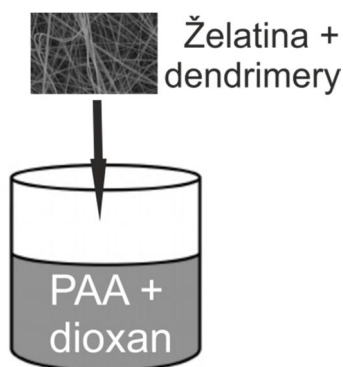
Obr. 30 Sloučení Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu pro kyselinu polyakrylovou (modře) s Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Teasova grafu pro nanovláčennou vrstvu z želatiny (zeleně) a další nalezená rozpouštědla (červeně)

Tab. 4 Frakční parametry rozpustnosti diethylaminu a furanu (Burke J.,

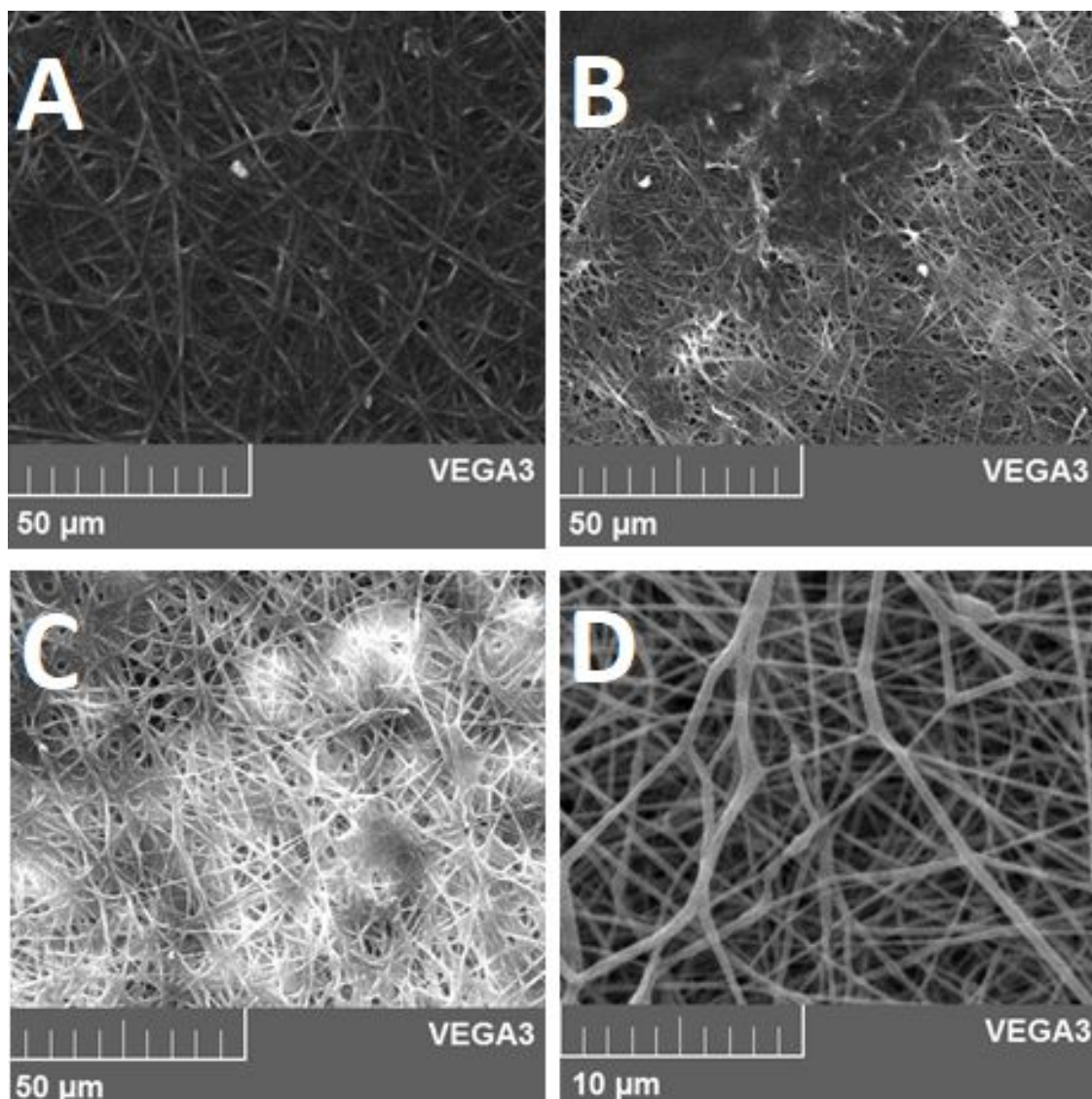
Rozpouštědlo	f_d	f_p	f_h
Diethylamin	64	10	26
Furan	72	7	21

Na základě sloučení Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu pro kyselinu polyakrylovou s Hansenovými parametry rozpustnosti zobrazenými pomocí Teasova grafu pro nanovláknennou vrstvu z želatiny byl jako vhodné rozpouštědlo vybrán dioxan s furanem a diethylaminem. Následně byl připraven jeden 0,5% roztok kyseliny polyakrylové rozpuštěné v dioxanu, jeden 1% roztok kyseliny polyakrylové ve furanu a jeden 1% roztok kyseliny polyakrylové v diethylaminu. Kyselina polyakrylová se však ve furanu a v diethylaminu nerozpustila, a tak následující experimenty byly provedeny pouze za použití 0,5% roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu.

Pro ověření návrhu týkajícího se zesíťování byly vzorky nanovláknenné vrstvy zvlákněné z vodného roztoku želatiny a dendrimerů ponořeny do 0,5% roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu (viz obr. 31). Pro kontrolu byly vzorky zvlákněné pouze z vodného roztoku želatiny ponořeny do 0,5% roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu nebo jen do dioxanu a vzorky zvlákněné z vodného roztoku želatiny a dendrimerů byly ponořeny do dioxanu. Ze snímků (viz obr. 32), které byly po ponoření vzorků do roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu nebo jen do dioxanu vytvořeny pomocí elektronového rastrovacího mikroskopu, je patrné, že ve všech případech struktura vláken zůstala zachována.



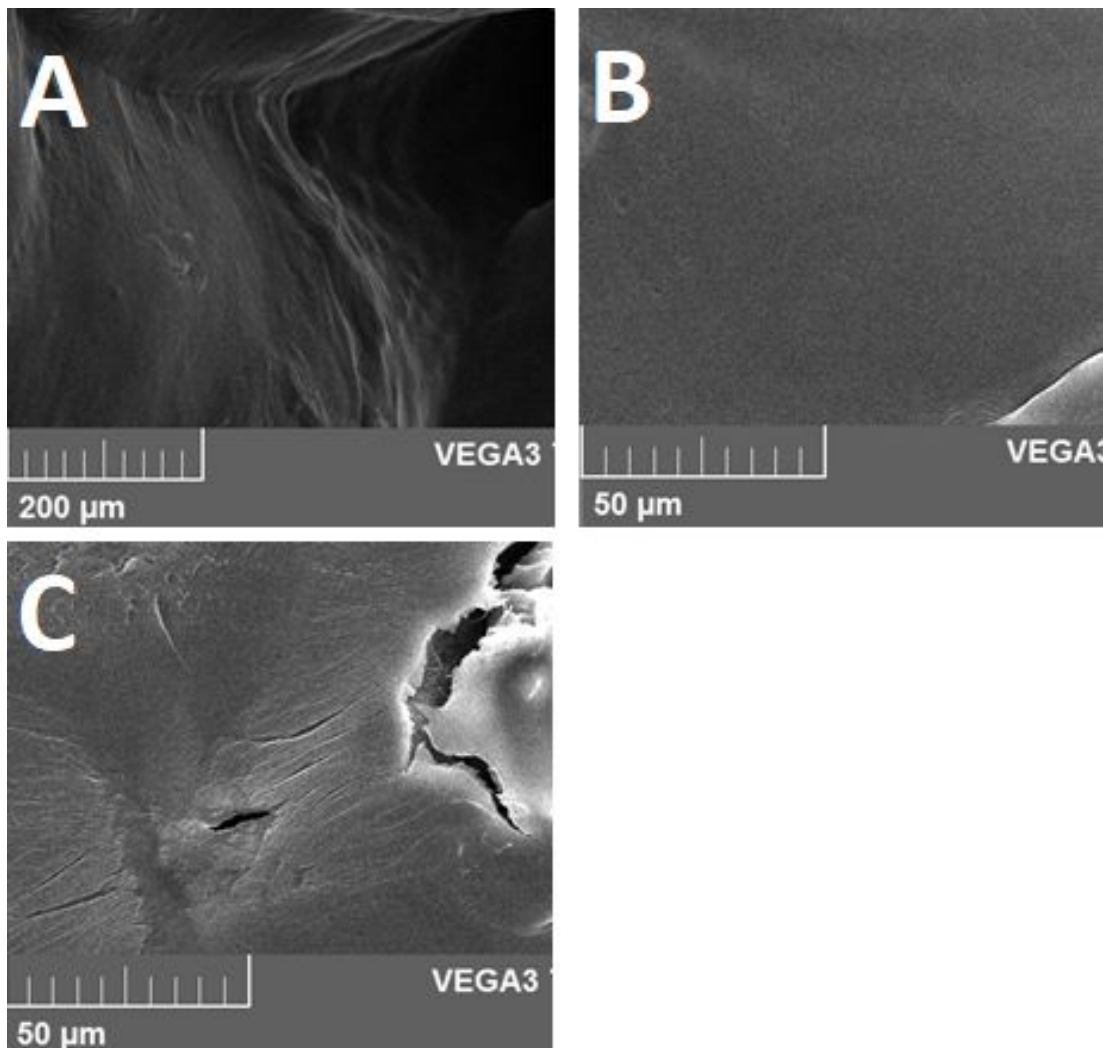
Obr. 31 Schéma ponoření vrstvy z želatiny a dendrimerů do 0,5% roztoku PAA v dioxanu



Obr. 32 Snímky vrstev zvlákněných z vodného roztoku želatiny: (A) a dendrimerů po ponoření do 0,5% roztoku PAA v dioxanu, (B) po ponoření do 0,5% roztoku PAA v dioxanu, (C) a dendrimerů po ponoření do dioxanu, (D) po ponoření do dioxanu

Tyto vzorky byly následně vysušeny a ponořeny do vody, kde došlo k porušení morfologie vláken a z nanovlákněných vrstev se stal hydrogel (viz obr. 33). Hydrogel však nevznikl ze vzorku nanovlákněné vrstvy zvlákněné pouze z vodného roztoku želatiny a následně ponořené do dioxanu. V tomto případě došlo k rozpuštění vrstvy. Lze tedy říci, že přidáním dendrimerů do vlákněné vrstvy želatiny a následném ponoření vrstvy do dioxanu dochází ke snížení rozpustnosti ve vodném prostředí i přesto, že kyselina polyakrylová v dioxanu obsažena není.

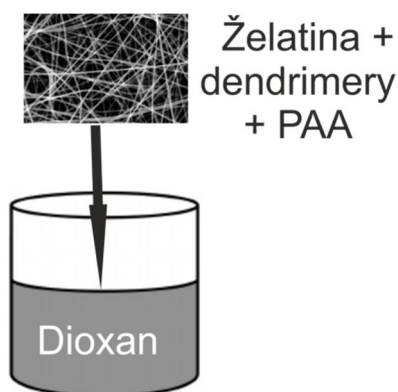
Provedením těchto experimentů se dioxan ukázal jako vhodné rozpouštědlo kyseliny polyakrylové a zároveň nerozpouštědlo nanovláknenné vrstvy z želatiny. Po nanesení 0,5% roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu na nanovláknennou vrstvu z želatiny a dendrimerů totiž došlo k jejímu fyzikálnímu zesíťování a výraznému snížení rozpustnosti ve vodném prostředí. Pro další experimenty byl tedy jako rozpouštědlo použit právě dioxan.



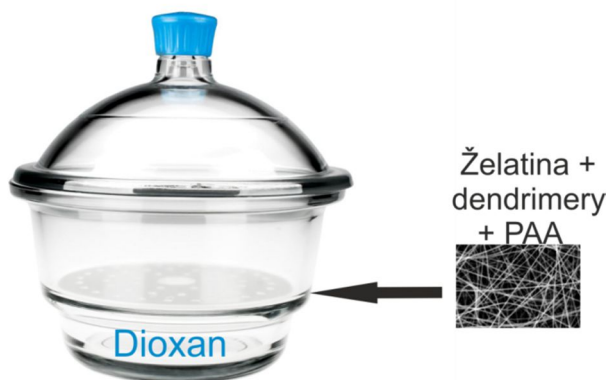
Obr. 33 Snímky vrstev z vodného roztoku želatiny: (A) a dendrimerů po zesíťování v roztoku PAA v dioxanu a následném ponoření do vody, (B) po ponoření do roztoku PAA v dioxanu a následně do vody, (C) a dendrimerů po ponoření do čistého dioxanu a následně do vody

3.3.5 Síťování vláken ponořením do dioxanu

Experimenty v kapitole 3.3.4 dokazují, že ponořením vláknenné vrstvy z želatiny a dendrimerů do kyseliny polyakrylové rozpuštěné v dioxanu dochází k fyzikálnímu zesíťování vrstvy. Pro nalezení další metody o zesíťování byla vrstva zvlákněná z vodného roztoku želatiny, kyseliny polyakrylové a dendrimerů ponořena do čistého dioxanu (viz obr. 34).



Obr. 34 Schéma ponoření vrstvy z želatiny, dendrimerů a PAA do dioxanu



Obr. 35 Schéma vystavení vrstvy z želatiny, dendrimerů a PAA parám dioxanu v exsikátoru

Po ponoření do dioxanu se však z vláknenné vrstvy stal gel a následně se ve vodném prostředí rozpustil. Dalo by se tedy předpokládat, že touto metodou k zesíťování vláknenné vrstvy nedošlo, a tak byla navržena metoda, která je k vrstvě šetrnější, a to síťování vystavením vláken parám dioxanu.

3.3.6 Síťování vláken vystavením parám dioxanu v exsikátoru

Přestože experiment popsaný v kapitole 3.3.4 ukazuje, že vláknennou vrstvu z želatiny a dendrimerů lze úspěšně fyzikálně zesíťovat nanesením roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu, tak ponořením vzorku zvlákněného z želatiny, dendrimerů a kyseliny polyakrylové do dioxanu k zesíťování nedochází (viz kapitola 3.3.5). Byla tedy zvolena metoda šetrnější k vláknenné vrstvě, a to síťování prostřednictvím par dioxanu v exsikátoru. Vzorky připravené z vodného roztoku želatiny, kyseliny polyakrylové a dendrimerů byly na 24 hodin v exsikátoru vystaveny parám dioxanu (viz obr. 35). Po jejich následném ponoření do vody došlo k okamžitému rozpuštění. Dá se tedy předpokládat, že k síťování nedošlo.

4 Souhrn a diskuze výsledků

Ověření návrhu týkajícího se zesíťování nanovlákněné vrstvy z rybí želatiny a dendrimerů pomocí kyseliny polyakrylové bylo provedeno několika experimenty.

Prvním z pokusů bylo nanesení vodného roztoku kyseliny polyakrylové na nanovlákněnou vrstvu z želatiny a dendrimerů. K interakci dendrimerů ani aminokyselin s kyselinou polyakrylovou však nestihlo dojít, jelikož po nanesení roztoku kyseliny polyakrylové došlo k rozpuštění vrstvy, a tak byla tato kyselina přidána do roztoku želatiny ještě před jeho zvlákněním. Nanesením kapky vody na tuto vlákněnou vrstvu však došlo opět k jejímu rozpuštění, a tudíž byla zvolena jiná metoda síťování, která je šetrnější k vrstvě, a to vystavení vláken vodním parám v exsikátoru. Po dvou hodinách se však z vrstvy stala fólie. Díky účinku vody docházelo k narušení struktury nanovlákněné vrstvy, a tak bylo nalezeno takové rozpouštědlo, které kyselinu polyakrylovou rozpustilo, zatímco nanovlákněná vrstva z želatiny se po nanesení roztoku této kyseliny nerozpustila.

Využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu byl jako vhodné rozpouštědlo kyseliny polyakrylové a nerozpouštědlo vlákněné vrstvy z želatiny vybrán dioxan. Vzorky nanovlákněné vrstvy zvlákněné z vodného roztoku želatiny a dendrimerů byly ponořeny do roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu. Struktura vláken zůstala zachována, a tak byl vzorek následně ponořen do vody, kde došlo k tvorbě hydrogelu. Přeměnou vlákněné vrstvy na hydrogel byla výrazně ovlivněna morfologie vláken, ale zároveň se snížila její rozpustnost. Dá se předpokládat, že touto metodou bylo dosaženo fyzikálního zesíťování, a tudíž došlo ke spojení řetězců vodíkovými můstky.

Pro další experimenty byl jako rozpouštědlo použit právě dioxan. Vzorky nanovlákněné vrstvy z vodného roztoku želatiny, kyseliny polyakrylové a dendrimerů byly ponořeny do čistého dioxanu, kde se z nich však okamžitě stal gel, který se následně ve vodném prostředí rozpustil. V dalším experimentu byly vzorky připravené z vodného roztoku želatiny, dendrimerů a kyseliny polyakrylové na 24 hodin vystaveny parám dioxanu, ale po následném ponoření do vody došlo k jejich okamžitému rozpuštění.

5 Závěr

Sítování želatiny se zachováním morfologie vláken je v současné době velmi problematické, proto bylo navrženo pokusit se o zesíťování nanovlákněné vrstvy z želatiny a dendrimerů pomocí kyseliny polyakrylové.

Pro potvrzení nebo vyvrácení tohoto návrhu bylo provedeno několik pokusů o zesíťování vlákněných vrstev prostřednictvím vodného roztoku kyseliny polyakrylové, vody či vodních par, ale ve všech případech došlo díky účinku vody k rozpuštění vrstev nebo k tvorbě fólie. Z tohoto důvodu byl využitím Hansenových parametrů rozpustnosti zobrazených pomocí Teasova grafu jako rozpouštědlo kyseliny polyakrylové zvolen dioxan, který vlákněnou vrstvu z želatiny nerozpustil. Nanovlákněná vrstva z vodného roztoku želatiny a dendrimerů byla ponořena do roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu, kde došlo k jejímu fyzikálnímu zesíťování. Při následném kontaktu s vodou se nanovlákněná vrstva přeměnila na hydrogel, a tudíž se dá předpokládat existence vodíkových můstků mezi kyselinou polyakrylovou a maltózovým pláštěm dendrimerů nebo aminokyselinami želatiny.

Dendrimery tedy mohou zajistit snížení rozpustnosti nanovlákněné vrstvy z želatiny a zároveň by mohly být využity pro transport látek a jejich postupné uvolňování do organismu.

U kontrolních vzorků nanovlákněných vrstev, které neobsahovaly dendrimery nebo byly ponořeny pouze do dioxanu bez rozpuštěné kyseliny polyakrylové, však došlo při kontaktu s vodou také k tvorbě hydrogelu. Pro další experimenty tedy navrhuji zjistit, o jakou dobu se ve srovnání s kontrolními vzorky snížila rozpustnost nanovlákněné vrstvy z želatiny a dendrimerů zesíťované v roztoku kyseliny polyakrylové v dioxanu. Dalším z experimentů by také mohlo být zvýšení koncentrace dendrimerů, želatiny a kyseliny polyakrylové, čímž dojde k přiblížení molekul a případně i k účinnějšímu sítování nanovlákněné vrstvy. Vzhledem k tomu, že přeměna nanovlákněné vrstvy na hydrogel má výrazný vliv na morfologii materiálu, tak další optimalizace je nezbytná.

Vzhledem k nedostatku dendrimerů nebylo již možné provést další pokusy a ověřit výsledky provedených experimentů.

Použitá literatura

- Abbasi, E. *et al.* (2014) ‘Dendrimers: synthesis, applications, and properties’, *Nanoscale Research Letters*, 9(1), pp. 247–256. doi: 10.1186/1556-276X-9-247.
- Akiyama, H. *et al.* (2013) ‘Synthesis of novel polyesteramine dendrimers by divergent and convergent methods’, *Tetrahedron*. Elsevier Ltd, 69(33), pp. 6810–6820. doi: 10.1016/j.tet.2013.06.024.
- Alfaro, A. da T. *et al.* (2014) ‘Fish Gelatin: Characteristics, Functional Properties, Applications and Future Potentials’, *Food Engineering Reviews*, 7(1), pp. 33–44. doi: 10.1007/s12393-014-9096-5.
- Bakravi, A. *et al.* (2018) ‘Synthesis of gelatin-based biodegradable hydrogel nanocomposite and their application as drug delivery agent’, *Advances in Polymer Technology*, (August 2017), pp. 1–11. doi: 10.1002/adv.21938.
- Bigi, A. *et al.* (2001) ‘Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking’, *Biomaterials*, 22(8), pp. 763–768. doi: 10.1016/S0142-9612(00)00236-2.
- Bigi, A. *et al.* (2002) ‘Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin’, *Biomaterials*, 23(24), pp. 4827–4832. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00235-1.
- Burke, J. (1984) ‘Solubility Parameters: Theory and Application’.
- Courts, W. A. G. . A. (1977) ‘The Science and Technology of Gelatin’, *The Science and Technology of Gelatin*, pp. 444–445. doi: 10.1016/0021-9797(78)90323-5.
- Dias, J. R. *et al.* (2017) ‘In situ crosslinked electrospun gelatin nanofibers for skin regeneration’, *European Polymer Journal*. Elsevier, 95(April), pp. 161–173. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.08.015.
- Dongargaonkar, A. A., Bowlin, G. L. and Yang, H. (2013) ‘Electrospun blends of gelatin and gelatin-dendrimer conjugates as a wound-dressing and drug-delivery platform’, *Biomacromolecules*, 14(11), pp. 4038–4045. doi: 10.1021/bm401143p.
- Dufès, C., Uchegbu, I. F. and Schätzlein, A. G. (2005) ‘Dendrimers in gene delivery’, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(15), pp. 2177–2202. doi: 10.1016/j.addr.2005.09.017.

- Feng, X. et al (2014) 'Sustainable Seafood Processing: Utilisation of Fish Gelatin', *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(1), pp. 1–2.
- Foxx, M. and Zilberman, M. (2015) 'Drug delivery from gelatin-based systems', *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(9), pp. 1547–1563. doi: 10.1517/17425247.2015.1037272.
- GIMA (2012) 'Gelatin handbook', *GIMA, Gelatin Manufacturers Institute of America*, p. 25. Available at: http://gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf.
- Gómez-Guillén, M. C. et al. (2002) 'Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: A comparative study', *Food Hydrocolloids*, 16(1), pp. 25–34. doi: 10.1016/S0268-005X(01)00035-2.
- Hansen, C. (1967) 'The Three Dimensional Solubility Parameter and Solvent Diffusion Coefficient and Their Importance in Surface Coating Formulation', *Copenhagen: Danish Technical Press*.
- Hansen, C. M. (2013) *Hansen Solubility Parameters A User's Handbook*, *Journal of Chemical Information and Modeling*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Hildebrand, J. H. (1936) 'The Solubility of Non-Electrolytes', *New York: Reinhold*.
- Hughes, L. J.; Britt, G. E. (1961) 'Compatibility Studies on Polyacrylate and Polymethacrylate Systems', *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE*, 5(15), pp. 337–348.
- Karim, A. A. and Bhat, R. (2009) 'Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins', *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 23(3), pp. 563–576. doi: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002.
- Kesharwani, P., Jain, K. and Jain, N. K. (2014) 'Dendrimer as nanocarrier for drug delivery', *Progress in Polymer Science*. Elsevier Ltd, 39(2), pp. 268–307. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.07.005.
- Kieliszek, M. and Misiewicz, A. (2014) 'Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review', *Folia microbiologica*, 59(3), pp. 241–250. doi: 10.1007/s12223-013-0287-x.
- Koli, J. M. et al. (2011) 'Improvement of Gel Strength and Melting Point of Fish Gelatin by Addition of Coenhancers Using Response Surface Methodology', *Journal of*

Food Science, 76(6). doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02266.x.

Komárek, M. (2005) *Sítování želatiny při přípravě nanovláken*. Technická univerzita v Liberci.

Mahmood, K. (2016) ‘Review of Fish Gelatin Extraction , Properties and Packaging Applications’, *Food science and quality management*, 56(November), pp. 47–59.

Martinová, L. (2008) *Sítování hydrofilních polymerů v nanovláčkových systémech*. Technická univerzita v Liberci.

Nicholson, J. W. (2006) ‘Chemistry of Polymers (3rd Edition)’, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/9781847552655.

Nimesh, S. (2013) ‘Dendrimers’, *Gene Therapy*, pp. 259–285. doi: 10.1533/9781908818645.259.

Patra, S., Basak, P. and Tibarewala, D. N. (2016) ‘Synthesis of gelatin nano/submicron particles by binary nonsolvent aided coacervation (BNAC) method’, *Materials Science and Engineering C*. Elsevier B.V., 59, pp. 310–318. doi: 10.1016/j.msec.2015.10.011.

Podczec, F. and Jones, B. E. (2004) ‘Dry filling of hard capsules’, *Pharmaceutical Capsules*, pp. 119–138. Available at: www.pharmpress.com.

Saddler, J. M. and Horsey, P. J. (1987) ‘The new generation gelatins: A review of their history, manufacture and properties’, *Anaesthesia*, 42(9), pp. 998–1004. doi: 10.1111/j.1365-2044.1987.tb05376.x.

Salem, S. *et al.* (2015) ‘Glycopolymer polyelectrolyte multilayers composed of heparin and maltose-modified poly(ethylene imine) as a strong/weak polyelectrolyte system for future drug delivery coatings: Influence of pH and sugar architecture on growth of multilayers and multilayer’, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 216(2), pp. 182–195. doi: 10.1002/macp.201400428.

Singh, U., Dar, M. M. and Hashmi, A. A. (2014) ‘Dendrimers: Synthetic strategies, properties and applications’, *Oriental Journal of Chemistry*, 30(3), pp. 911–922. doi: 10.13005/ojc/300301.

Tavassoli-Kafrani, E., Goli, S. A. H. and Fathi, M. (2017) ‘Fabrication and characterization of electrospun gelatin nanofibers crosslinked with oxidized phenolic compounds’, *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V., 103,

pp. 1062–1068. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.152.

Teas, J. P. (1968) ‘Re Solubility parameters’, *J. Paint Technol.*, 40(104).

Thomas, S., Grohens, Y. and Jyotishkumar, P. (2015) *Characterization of Polymer Blends: Miscibility, Morphology and Interfaces*, *Characterization of Polymer Blends: Miscibility, Morphology and Interfaces*. doi: 10.1002/9783527645602.

Thünemann, A. F. *et al.* (2011) ‘Core-Shell Structures of Oligosaccharide-Functionalized Hyperbranched Poly (ethylene imines)’, *Macromolecular Chemistry and Physics and Physics*, pp. 1–8.

Tomalia, D. A. (2005) ‘Birth of a new macromolecular architecture: Dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry’, *Progress in Polymer Science (Oxford)*, pp. 294–324. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2005.01.007.

da Trindade Alfaro, A., Fonseca, G. G. and Prentice-Hernández, C. (2013) ‘Enhancement of Functional Properties of Wami Tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) Skin Gelatin at Different pH Values’, *Food and Bioprocess Technology*, 6(8), pp. 2118–2127. doi: 10.1007/s11947-012-0859-9.

Tripp, S. *et al.* (2014) ‘Oligosaccharide shells as a decisive factor for moderate and strong ionic interactions of dendritic poly(ethylene imine) scaffolds under shear forces’, *Chemistry - A European Journal*, 20(27), pp. 8314–8319. doi: 10.1002/chem.201402147.

Verkon (no date) ‘No Title’. Available at: <https://www.verkon.cz/exsikator-s-plastovym-hmatnikem-simax/>.

Vernengo, A. J. (2016) ‘Adhesive Materials for Biomedical Applications’, *Adhesives - Applications and Properties*, 6, pp. 111–133. doi: 10.5772/64958.

Xing, Q. *et al.* (2014) ‘Increasing mechanical strength of gelatin hydrogels by divalent metal ion removal’, *Scientific Reports*, 4. doi: 10.1038/srep04706.

Příloha A - Obsah přiloženého CD

- Text diplomové práce:
 - DP_Hruskova_2018.pdf