



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**POTENCIÁL VYUŽITÍ SEMI-INTERPENETROVANÝCH
POLYMERNÍCH SÍTÍ NA BÁZI POLY-HEMA V
MODERNÍCH NOSIČOVÝCH SYSTÉMECH**

UTILIZATION OF SEMI-INTERPENETRATING POLYMER NETWORKS BASED ON POLY-HEMA IN MODERN
DRUG-CARRIER SYSTEMS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Hana Papežíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1515/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Hana Papežiková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Potenciál využití semi-interpenetrovaných polymerních sítí na bázi poly-HEMA v moderních nosičových systémech

Zadání diplomové práce:

- 1) Zpracovat aktuální literární rešerši na téma využití semiIPN materiálů v nosičových systémech.
- 2) Na základě literární rešerše navrhnout metodu přípravy semiIPN materiálů na bázi polyHEMA a metodiku jejich charakterizace v kontextu potenciálních aplikací v nosičových systémech.
- 3) Na vybrané vzorkové sadě experimentálně ověřit možnosti cílené manipulace transportních a mechanických vlastností semiIPN materiálů na bázi polyHEMA.
- 4) Na základě získaných experimentálních dat zhodnotit potenciál využití semiIPN materiálů na bázi polyHEMA v moderních nosičových aplikacích.

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

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

Bc. Hana Papežiková
student(ka)

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Náplní této diplomové práce bylo prozkoumat transportní, bariérní a tokové vlastnosti modelových hydrogelových systémů, jakožto klíčové materiálové charakteristiky z hlediska vývoje nosičů pro cílené uvolňování léčiv. Konkrétně byly studovány možnosti ovlivnění těchto vlastností inkorporováním semi-interpenetrované polymerní sítě do gelové matrice. Jako interpenetrovaný lineární polymer byl použit polyelektrolyt polystyrensulfonát sodný, zatímco jako modelový systém byl pro tuto práci vybrán hydrogel na bázi hydroxyethyl methakrylátu, díky jeho aplikačnímu potenciálu v biomedicíně. Pro zkoumání struktury trojrozměrné sítě hydrogelů byla použita skenovací elektronová mikroskopie. Pomocí difúze byly testovány tokové vlastnosti gelů.

Abstract

The content of this diploma thesis was to examine the transport and barrier properties of model hydrogel systems as an important material characteristic in terms of the development of the targeted drug delivery system. In particular, the possibilities of influencing these properties by incorporating a semi-interpenetrated polymer network into the gel matrix have been studied. Polyelectrolyte sodium polystyrene sulfonate was used as an interpenetrated linear polymer, while hydrogel based on hydroxyethyl methacrylate was selected as a model system, due to its application potential in biomedicine. Scanning electron microscopy was used to examine structure of the three-dimensional hydrogel network. Transport properties were tested by using diffusion and diffusion cells.

Klíčová slova

Hydrogel, semi-interpenetrované polymerní sítě, polyhydroxyethyl methakrylát, difúze

Keywords

Hydrogel, semi-interpenetrating polymer network, poly(2-hydroxyethyl methacrylate), diffusion

PAPEŽÍKOVÁ, Hana. Potenciál využití semi-interpenetrovaných polymerních sítí na bázi poly-HEMA v moderních nosičových systémech. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131144>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Petr Sedláček.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana VUT.

.....

Hana Papežíková

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Ing. Petru Sedláčkovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, trpělivost, vstřícnost, cenné, a hlavně užitečné rady a především čas, který mi po celou dobu věnoval. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Monice Trudičové, za její čas, nápady a rady během řešení experimentální části práce bez kterých bych se neobešla. Na závěr bych ráda poděkovala mé rodině, která mě během celého studia na vysoké škole podporovala.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Gely jako disperzní soustavy	8
2.1.1	Charakterizace gelových systémů.....	8
2.1.2	Vznik gelů a rozdělení gelů	9
2.1.3	Ireverzibilní gely	9
2.1.4	Reverzibilní gely	10
2.1.5	Vlastnosti gelu	12
2.2	Aplikační potenciál hydrogelů.....	13
2.2.1	Rozdělení hydrogelů	14
2.2.2	Interpenetrované a semi-interpenetrované polymerní sítě.....	14
2.2.3	2-hydroxyethyl-methakrylát jako modelový gelotvorný materiál	15
2.3	Difúze.....	17
2.3.1	Fickovy zákony	18
2.3.2	Difúze v hydrogelovém prostředí	20
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	21
3.1	Možnosti úpravy mechanických vlastností poly-HEMA hydrogelu.....	21
3.2	Využití hydrogelů jako tenkých filmů pro buněčnou kulturu.....	22
3.3	Hydrogely jako nosiče léčiv pro cílené uvolňování.....	23
3.4	Aplikace v tkáňovém inženýrství.....	25
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
4.1	Použité chemikálie	26
4.2	Použité přístroje	26
4.3	Příprava hydrogelu na bázi polyhydroxyethyl methakrylátu.....	26
4.4	Strukturní analýzy hydrogelu.....	27
4.4.1	Vymývání nezreagovaného monomeru	27
4.4.2	Vliv ethanolu na strukturu gelu	27
4.4.3	Struktura povrchu gelů.....	27
4.5	Příprava roztoku barviva Rhodaminu 6G	28
4.6	Difúzní experimenty	28
4.6.1	Difúzní cely.....	30
4.7	Transportní vlastnosti gelů na molekulární úrovni	30
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	31
5.1	Vliv ethanolu na strukturu a mechanické vlastnosti hydrogelu	31
5.1.1	Botnání a sušení	32
5.1.2	Skenovací elektronová mikroskopie.....	34
5.2	Transportní vlastnosti hydrogelu	37
5.3	Bariérové vlastnosti hydrogelu	48
5.4	Studium transportních vlastností gelů na molekulární úrovni	54
6	ZÁVĚR.....	56
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	58

8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	63
9	SEZNAM PŘÍLOH	64
10	PŘÍLOHY	65

1 Úvod

Na poli biomedicíny si hydrogely, definované též jako dvou nebo více složkové soustavy prostorové sítě polymerních řetězců a vody, která vyplňuje prostor mezi makromolekulami, vydobily v posledních desetiletích klíčové postavení, ať už v oblasti krytů ran, řízeného uvolňování anebo jako scaffoldy v tkáňovém inženýrství. Je to díky jejich specifickým vlastnostem jako je biokompatibilita nebo vysoký obsah vody. Polyhydroxyethylmethakrylát byl prvním synteticky vyrobeným hydrogelem, který našel své uplatnění v medicíně (kontaktní čočky, masti proti popáleninám). Pro hojně využití tohoto gelu v medicíně byl zvolen jako vzorový příklad také v rámci experimentální studie realizované v této práci. I když jsou gely již v této době hojně využívány, jsou stále předmětem zkoumání a bádání. Vlastnosti hydrogelů je možné modifikovat dle konkrétní potřeby jednotlivých aplikací. Semi-interpenetrované polymerní sítě jsou jednou z možností, jak upravit morfologickou strukturu sítě hydrogelu. Díky ní je pak snadné změnit také další parametry gelů, jako například transportní, tokové nebo bariérové vlastnosti.

Diplomová práce si klade za cíl prozkoumat právě zmíněný vliv semi-interpenetrované polymerní sítě na vlastnosti gelů, a to především s ohledem na případné rozšíření možností jejich uplatnění jako nosičového systému pro cílené uvolnění léčiv. Práce navazuje na bakalářskou práci, kde byla hlavním tématem optimalizace přípravy toho hydrogelu. V předložené diplomové práci je hlavní pozornost věnována transportním a bariérovým vlastnostem, neboť právě ty jsou pro zmíněné potřeby důležité. Ke zkoumání bylo přistupováno jak z pohledu přímého rozlišení struktury, tak z pohledu efektů na užité materiálové vlastnosti, které změna struktury zapříčiní. Vzorky byly tedy podrobovány strukturním charakteristikám, jakou je například skenovací elektronová mikroskopie, ale také difúzním testům různého zaměření, jako příklad jsou zde uvedeny testy s difúzními celami nebo fluorescenční korelační mikroskopie. Ve všech experimentech byl využit polyelektrolyt polystyrenulfonát sodný, jehož lineární řetězce byly inkorporovány do nosné gelové sítě především za účelem zvýšení jejího efektivního náboje, a tedy i schopnosti interagovat s iontovými nízkomolekulárními soluty. Obecným cílem práce tedy bylo posoudit, nakolik uvedená manipulace zvýší potenciál vzniklé semi-penetrované gelové sítě ovlivnit uvolňování těchto solutů coby modelových aktivních látek používaných v aktuálně vyvíjených hydrogelových nosičích.

Teoretická část této práce se věnuje stručnému popisu gelů, jejich vzniku, rozdělení a jejich vlastnostem. Dále se pozornost soustředí na uplatnění hydrogelů obecně i pro konkrétní případy také se semi-interpenetrovanou polymerní sítí. Poté se zaměřuje na metodu strukturní analýzy, která byla pro tuto práci klíčová. A tou je difúze.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Gely jako disperzní soustavy

Disperzní systémy jsou soustavy, které obsahují minimálně dvě chemická individua. Jedna nespojitá fáze nebo složka, která se označuje jako disperzní podíl, je více či méně rozptýlena v druhé spojitě fázi nebo složce. Tato složka se nazývá disperzní prostředí. Disperzní systémy dělíme podle tvaru částic, velikosti částic, počtu fází a podle skupenství jak disperzního prostředí, tak disperzního podílu [1].

Dělení disperzních soustav na základě tvaru částic

Podle tvaru částic je možné disperzní soustavy klasifikovat do tří skupin. První je globulární disperzní soustava. Tato soustava je složená z izometrických částic. Další dvě soustavy obsahují anizometrické částice. Ovšem u laminárně disperzní soustavy je jeden rozměr částic řádově menší než ostatní. Kdežto u fibrilárně disperzní soustavy je jeden rozměr řádově vyšší než ostatní [2].

Dělení na základě velikosti částic

Dále jsme schopni rozlišit disperze podle jejich velikosti částic na celkem tři systémy. A to analytické disperze, koloidní disperze a disperze hrubé.

Analytické disperze mají částice o průměru menším než 10^{-9} m. Částice prostupují filtračním papírem, nesedimentují a nejsou patrné ani pod elektronovým mikroskopem. Mají velkou rychlost difúze, jsou homogenní a stálé [1].

V rozmezí velikosti částic disperzního podílu mezi 10^{-9} až 10^{-6} m se nacházejí koloidní disperze. Tyto disperze už můžeme pozorovat pomocí elektronového mikroskopu. Systémy jsou často průhledné, při bočním osvětlení opaleskují. Některé membránové systémy je již mohou zachytit. Pomalu sedimentují a difundují. Tyto disperze jsou ještě rozděleny podle vzniku a jejich stability na lyofilní a lyofobní disperze [3].

U rozměrů částic větších než 10^{-6} již mluvíme o hrubých disperzích. Tyto disperze jsou patrné optickým mikroskopem nebo dokonce pouhým okem, jsou zakalené, neprůhledné, neprocházejí membránami ani filtračním papírem. Sedimentace je v těchto systémech velmi rychlá. Netvoří se samovolně, nýbrž mechanickým rozmělněním disperzního podílu [1, 3].

Dělení na základě počtu fází

Podle počtu fází můžeme systémy rozdělit na heterogenní a homogenní. U homogenních směsí disperzní prostředí a podíl tvoří jednu fázi (jako je tomu například u analytických disperzí), zatímco u heterogenních směsí fázový rozdíl odděluje disperzní prostředí od disperzního podílu (např. emulze, pěny, mlhy) [1].

2.1.1 Charakterizace gelových systémů

Gely jsou obvykle koloidní disperzní systémy, které jsou tvořené trojrozměrnou sítí prostupující celým disperzním prostředím. Spojitě tudíž není jen disperzní prostředí, ale také disperzní podíl, čímž se gelové systémy zásadně odlišují od ostatních typů disperzí. Makromolekulární řetězce, jež tvoří trojrozměrnou síť, jsou spojeny v pevných uzlových bodech. Díky nimž se částice nemohou samovolně pohybovat a jediný pohyb, který jsou schopny vykonávat, je pohyb vibrační. Spojení řetězců je uskutečněno díky adhezním silám, ty mohou být fyzikálního nebo chemického původu [4]. Obecně se dá říct, že gely připomínají pevné rosolovité látky. I když mají soustavy kapalně disperzní prostředí, jejich vlastnosti jsou

spíše typické pro pevné látky. To vše je způsobeno v důsledku jejich uspořádání. Proces gelace a gely samotné hrají velkou roli v lékařství a biologii, protože buněčné prostředí (coby vodný roztok s vysokou koncentrací polymerních složek) má do určité míry charakter hydrogelu. Disperzní prostředí gelů je tvořeno vždy nějakým rozpouštědlem. Organogely je název pro gely obsahující organické rozpouštědlo, hydrogely obsahují vodu [1].

2.1.2 Vznik gelů a rozdělení gelů

Obecně se vznik gelů označuje jako gelace. Jedná se o proces, při kterém dochází ke spojování molekulárních řetězců a v důsledku toho se formuje a zpevňuje prostorová síť. Místa, kde dochází ke spojení, se nazývají styčné body neboli uzly. Tvoření sítě probíhá až do bodu gelace, což je okamžik, kdy se v systému objeví nekonečná trojrozměrná síť [2]. Gely mohou vznikat z roztoku nebo také z pevného stavu. Z roztoku vznikají změnou ve fyzikálním stavu systému, nebo také díky chemickým (kovalentním) interakcím. Z pevného stavu dochází ke vzniku reversibilních gelů botnáním xerogelu. [1].

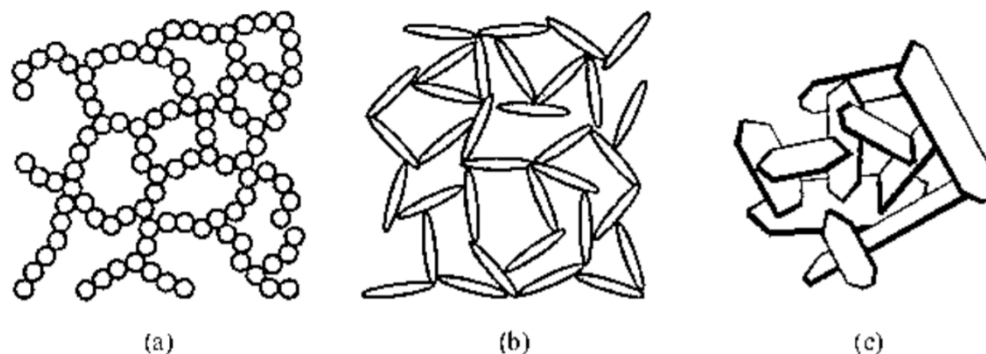
Na průběh gelace může mít vliv mnoho faktorů od teploty, přes koncentraci disperzního podílu až po pH prostředí. Zvýšení teploty má obvykle negativní vliv na vznik gelu. Roste totiž intenzita tepelného pohybu. Její snížení má naopak pozitivní efekt na tvorbu gelů (čehož se využívá mimo jiné při přípravě tzv. termoreverzibilních gelů). Při zvýšení koncentrace částic disperzního podílu roste i počet jejich srážek a tím se zvyšuje i počet mezičásticových vazeb, což napomáhá vzniku gelu u vysokomolekulárních látek. Při hodnotě pH odpovídající izoelektrickému bodu probíhá gelace nejlépe zejména u vodných roztoků amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů, protože při nejmenší intenzitě odpuzivých interakcí je četnost kontaktů největší [3].

Nejčastěji se k rozdělení gelů přistupuje na základě jejich vlastností ve vysušeném stavu. Při klasifikaci gelů z tohoto hlediska rozlišujeme gely ireverzibilní a reverzibilní. Další možností rozdělení gelů je podle toho, zda obsahují či naopak neobsahují rozpouštědlo. Jedná se o lyogely, které rozpouštědlo obsahují a vznikají nabotnáním xerogelu. Druhý typ je právě xerogel, jež vzniká vysušením lyogelu [3].

2.1.3 Ireverzibilní gely

V případě ireverzibilních (tj. nevratných) gelů se po vysušení jejich objem nezmenší čili dostáváme stejný objem, jako měl původní gel (lyogel). Typickým znakem pro ně je vznik porézního xerogelu. Při styku s disperzním prostředím jsou schopny sorbovat malé množství kapaliny. Ovšem do původního rosolovitého stavu se tímto nevrátí. Mluvíme tedy o procesu nevratném. Tyto gely vznikají gelací lyofobních koloidních roztoků (solů) v důsledku snížení jejich agregátní stálosti. Při odstranění stabilizačního faktoru se částice navzájem spojují ve větší agregáty a nastává koagulace. Pokud není gel zbaven ochranné vrstvy úplně, stabilitu ztrácejí jen některé úseky povrchu částic a v důsledku toho se tyto částice vzájemně spojí a vzniká prostorová síť, v níž je uzavřeno disperzní prostředí [3, 5].

U ireverzibilních gelů má velký vliv na tvorbu gelu tvar částic. Pokud jsou částice anizometrické, vzniká gel mnohem snáze. Anizometrické částice mají na hranách nejméně vyvinutou elektrickou dvojitou vrstvu nebo solvatační obaly. Tudíž ke spojování částic dochází právě zde. Pro vznik struktury stačí menší koncentrace disperzního podílu, který tvoří jehlicovité (obr. 1b) nebo destičkovité částice (obr. 1c), než u solů obsahujících izometrické částice sférické (obr. 1a) [6].



Obr. 1: Gelace lyofobních solů (a) s izometrickými částicemi, (b) s jehlicovitými částicemi, (c) s destičkovými částicemi [3]

2.1.4 Reverzibilní gely

Na rozdíl od ireverzibilních gelů se u gelů vratných (reverzibilních) po vysušení jejich objem zmenší. To vede ke vzniku kompaktních xerogelů. Při styku s disperzním prostředím jsou xerogely schopné pomocí tzv. botnání přejít opět na původní lyogel. Reverzibilní gely mohou tedy vznikat buď uvedeným botnáním, anebo gelací roztoků vysokomolekulárních látek. Prostorová síť reverzibilního gelu je tvořena sítí makromolekulárních řetězců spojených působením sil fyzikální nebo chemické povahy v místech, které se nazývají uzly [2].

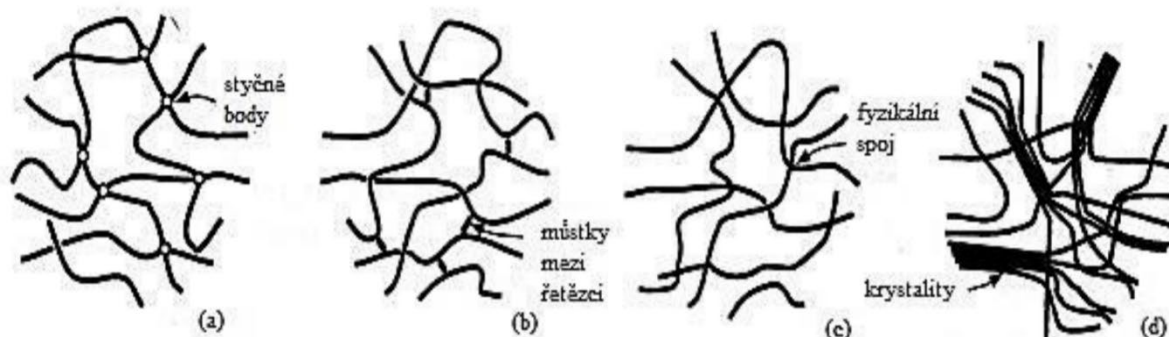
Chemicky síťované gely

Chemicky síťované gely jsou tvořeny nekonečnou trojrozměrnou sítí stabilizovanou kovalentními (chemickými) vazbami (obr. 2a, b). Vzniká pevná struktura, která v rozpouštědle botná. Převod zpět na roztok je možné odbouráním chemických vazeb, avšak tím může dojít i k porušení vazeb, které se na tvorbě gelové sítě nepodílejí. To způsobí strukturální odlišnost s výchozím polymerem. Chemické vazby mohou vzniknout polymerací monomeru nebo zesíťováním lineárních polymerů za přítomnosti vhodného činidla [3].

Síťování lineárního polymeru je proces, při kterém jako první vznikají rozvětvené makromolekuly s rostoucí hmotností. Taktéž roste stupeň rozvětvení a zvyšuje se pravděpodobnost spojení dvou makromolekul. Po dosažení bodu gelace získáme nekonečnou trojrozměrnou síť. Mezi síťovací polymerizace se řadí kondenzační a adiční polymerizace [5].

Fyzikálně síťované gely

Podstatou fyzikálního síťování je, že uzly jsou tvořené úseky vysokomolekulárních řetězců spojenými pomocí slabých fyzikálních interakcí. Těmito silami se rozumí například Van der Waalsovy síly, vodíkové můstky a elektrostatické síly. K asociaci mezi jednotlivými řetězci dochází snížením afinity vysokomolekulární látky k rozpouštědлу nebo vlivem snížení teploty. Pro zachování tepelného pohybu a ohebnosti se na řetězci střídají uzly a volné části. Stabilita těchto gelů je ovlivněna velikostí, strukturou i pevností těchto uzlů. Gely se slabými uzly mají větší tendenci se pod větším napětím rozpadat a chovat se spíše jako viskózní kapalina. Podobně jako gely s kovalentními vazbami se naopak chovají gely s pevnými fyzikálními spoji. Při vzniku gelu se části lineárních makromolekul mohou ukládat rovnoběžně, čímž se v těchto oblastech vytváří krystalická mřížka (obr. 2d). Při nepravidelné asociaci makromolekul vznikají amorfní gely (obr. 2c). Ve výsledných krystalech se střídají amorfní oblasti s krystalickou mřížkou [1, 6].



Obr. 2: (a), (b) Gely se strukturou vytvořenou chemickými vazbami, (c) fyzikální amorfní styčné body, (d) fyzikální krystalické styčné body [1]

Jako pseudogely jsou označovány struktury se střídavým vznikem a zánikem mechanického síťování. Toto síťování vzniká mechanickým propletením řetězců vlivem tepelného pohybu. Tento stav je pouze krátkodobý a po určité době se řetězce rozpletou a vzdálí za vzniku viskózní kapaliny. K tomu ovšem nemusí dojít, pokud zde budou přítomny i kovalentní vazby nebo fyzikální síly. Při optimální kombinaci geometrických uzlů s jinými uzly (fyzikální nebo chemické) má gel při následné deformaci vyšší elasticitu [3].

Botnání gelů

Botnání je proces, při kterém je pohlcováno nízkomolekulární rozpouštědlo vysokomolekulární látkou (xerogelem). Při tomto procesu xerogel zvyšuje svou hmotnost a nabývá na svém objemu, vzniká lyogel. Botnání je samovolný děj, který spěje k rovnovážnému stavu [3].

Pokud se botnání xerogelu zastaví ve stadiu lyogelu (rovnovážný stav) i za přítomnosti přebytku kapaliny, jedná se o tzv. omezené botnání. Tento děj nastává za situace, kdy je polymer omezeně mísitelný s daným rozpouštědlem. V důsledku botnání se v soustavě vytváří dvě fáze. První fází je nasycený roztok polymeru v rozpouštědle (tyto fáze představují jednotlivé uzly gelové sítě) a druhou fází je nasycený roztok rozpouštědla v polymeru (rozpouštědlem naplněné póry gelu). Toto botnání může nastat také u polymerů s příčnými vazbami mezi molekulami tvořící prostorovou mřížku, která brání odtržení molekul [1].

V systému neomezeně mísitelných látek dochází k neomezenému botnání. Při tomto procesu se xerogel během botnání nezastaví ve stadiu lyogelu, nýbrž po dosažení určitého stavu nabotnání dochází k zániku styčných bodů a jednotlivé makromolekuly přecházejí do roztoku. Dalším přídatkem rozpouštědla je možné vzniklý roztok dále ředit [3, 5].

2.1.5 Vlastnosti gelu

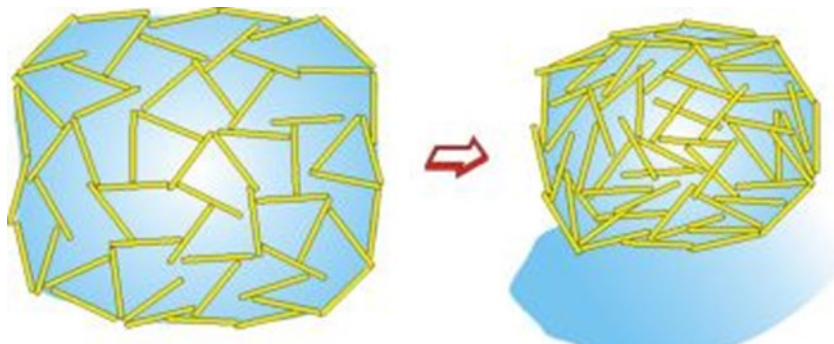
I přesto, že disperzní prostředí je kapalné, vykazují gely díky svému uspořádání vlastnosti charakteristické pro tuhé materiály. Mezi tyto vlastnosti můžeme řadit především mechanické atributy gelů [1].

Gel je schopen odolávat tečnému napětí až do určitého bodu, pod nímž se chová jako elastické, tuhé těleso. Hodnota tohoto tzv. kritického napětí závisí na koncentraci uzlů a na jejich pevnosti. Nejvíce elasticity vykazují reverzibilní gely s kovalentními vazbami, které obsahují pouze malý počet vazeb. Tudiž, čím více vazeb se bude nacházet mezi řetězci polymeru, tím se sníží možnost změny prostorového uspořádání makromolekuly a tím je i vzniklá síť rigidnější [3, 4].

Fyzikálně zesíťené gely jsou typické tixotropními vlastnostmi – časovou změnou mechanických vlastností při dlouhodobém namáhání. Podstata tohoto jevu spočívá v obnovování původních struktur. Jestliže jsou původní částice disperzní soustavy poutány pouze pomocí slabých sil, je možné gel prudkým protřepáním převést zpět do stavu solu. Tento děj je umožněn na základě porušení slabých sil mezi vazbami. Pokud se nechá vzniklý sol v klidu, dochází opět ke tvorbě vazeb mezi částicemi a systém začíná opět gelovat, viskozita nabývá původních hodnot. Tixotropii tedy není možné pozorovat u gelů, které tvoří polymery s různě pevnými vazbami. Při mechanickém namáhání se poruší nejprve slabé uzly a soustava se rozpadá na velké systémy. Pro vytvoření struktury s původními vlastnostmi by muselo dojít k obnově původních vazeb. K tomu ovšem nedochází kvůli rotačním pohybům okolo neporušených uzlů sítě [1].

Ionty jako i malé molekuly rozpuštěných látek se pohybují v disperzním prostředí gelu mezi sítí disperzního podílu téměř stejnou rychlostí jako v odpovídajícím solu. Podobně i elektrická vodivost gelů, jež obsahují disociované soli, je skoro stejně velká jako vodivost původního roztoku. Tato skutečnost je důsledkem toho, že si molekuly disperzního prostředí zachovají intenzitu tepelného pohybu v téměř stejné míře jako u kapalné fáze jednoduchého roztoku. Difuzivita nízkomolekulárních látek v gelu je tak jen o něco málo menší než v původním solu, z něhož gel vznikl, přestože při gelaci výrazně vzrůstá viskozita soustavy. Díky vzniklé síťovité struktuře ovšem difúze nízkomolekulárních iontů v gelech není téměř ovlivněna prouděním ani tepelnými konvekcemi [3].

Některé gely představují systémy mimo termodynamickou rovnováhu. Během jejich stárnutí poté dochází k mnoha samovolným dějům, kdy se navyšuje počet styčných bodů a celá struktura gelu se smršťuje. Díky tomu část kapaliny, která byla původně přítomna v gelu, je nyní vytlačována ven. Tento jev, který se nazývá synereze (obr. 3), je typický pro čerstvé gely. Jeho účinky je možné podpořit zvýšením teploty nebo přidáním elektrolytů [3].



Obr. 3: Stárnutí gelu – synereze [6]

Většina gelů vyskytujících se v živých organismech disponuje další vlastností – anizotropií. Ta je dána podmínkami tvorby gelů. U uměle vytvořených gelů je příčinou vzniku anizotropie nerovnoměrná deformace při vzniku nebo nerovnoměrná objemová koncentrace při vysoušení. Celá řada vlastností takto vzniklých gelů, jako je smršťování při sušení, optické a mechanické vlastnosti nebo roztažnost během bobtnání, jsou potom v různých směrech odlišné [3].

2.2 Aplikační potenciál hydrogelů

Oční rohovka, ochrana povrchu vnitřních orgánů, jako jsou například játra či plíce nebo pojivové tkáně. Tyto a mnohé další části organismu jsou tvořeny právě hydrogelovou fází. Je tedy zřejmé, že jsou gely přirozenou součástí našich těl.

Makromolekulární hydrogely jsou tvořeny trojrozměrnou sítí polymerů hydrofilního charakteru. Tyto polymery nejsou ve vodě zcela rozpustné, ovšem disponují schopností ve vodě botnat. Prostor mezi makromolekulárními řetězci je tedy vyplněn vodou. Množství vody, které je schopná nanoskopická struktura pojmout, závisí na chemickém složení polymeru a morfologii sítě. Hydrogely jsou charakteristické svou měkkou konzistencí, připomínající živé tkáně. Se změnou vnějšího prostředí jako je například hodnota pH, teplota nebo iontová síla mohou vykazovat změny ve struktuře polymerní sítě, v mechanické pevnosti či botnání [7]. Příkladem polymerních gelů mohou být přirozeně se vyskytující polymerní sítě kolagenu nebo želatiny, tyto gely však mohou být také uměle syntetizovány. Syntetické hydrogely mají obvykle definovanou strukturu, která může být modifikována tak, aby lépe vyhověla potřebám aplikací, pro které je polymer určen. Přírodní polymery například nevykazují dostatečnou pevnost a mohou obsahovat i nežádoucí látky, ovšem oproti syntetickým polymerům vykazují mnoho zajímavých vlastností typických právě pro přírodní polymery, jako například podpora buněčné aktivity a jiné [8].

Gely mají širokou škálu svého aplikačního potenciálu. Například v zemědělství uplatňují svou schopnost zadržet velké množství vody v půdě [9]. Dále mohou být využity v hygienických prostředcích (např. při výrobě jednorázových plen nebo jiných hydrosorpčních materiálů) [10], v potravinových doplňcích a v mnoha dalších průmyslových odvětvích. Nejdůležitější se pro nás jeví již zmíněná podobnost se živými tkáněmi, která nachází své uplatnění v biomedicinských a farmaceutických aplikacích. Historický milník ve výrobě

syntetických hydrogelů s uplatněním v medicíně představuje vynález kontaktních čoček, která byla uskutečněna českými vědci Ottou Wichterlem a Drahoslavem Límem. V posledních letech je výzkum zaměřen na výrobu hydrogelů coby systémů s řízeným uvolňováním léčiv. Tkáňové inženýrství, biosenzory, léčiva, ošetření ran, separace buněk, to je jen malý výčet toho, kde všude do dnešní doby hydrogely našly své uplatnění [11].

2.2.1 Rozdělení hydrogelů

Hydrogely se mohou klasifikovat podle mnoha kritérií. Jedním z nich je rozdělení gelů na základě jejich původu na přírodní, které obsahují proteiny (kolagen, želatina) a polysacharidy (škrob, agaróza), a na syntetické [12].

Dalším kritériem může být jejich elektrický náboj vyskytující se v řetězcích, respektive jeho přítomnost či absence. Známé jsou čtyři skupiny tohoto dělení: gely neutrální, iontové, amfoterní a zwitterionové [13].

Klasifikace gelů může mít základ v samotném složení hydrogelu. Homopolymerní hydrogely, jak už z názvu vyplývá, mají polymerní síť tvořenou pouze jedním druhem monomeru, který je tedy základní strukturní jednotkou polymeru. Kopolymerní hydrogely už obsahují dva či více druhů monomerů a nejméně jednu hydrofilní složku v náhodném nebo střídavém uspořádání. Multipolymerní interpenetrované hydrogely jsou syntetizovány ze dvou syntetických nebo přírodních polymerních složek uspořádaných v síťové formě. U semi-interpenetrovaných hydrogelových sítí je jedna složka ve formě zesíťovaného polymeru, kdežto druhá složka je polymer nesesíťovaný [14].

2.2.2 Interpenetrované a semi-interpenetrované polymerní sítě

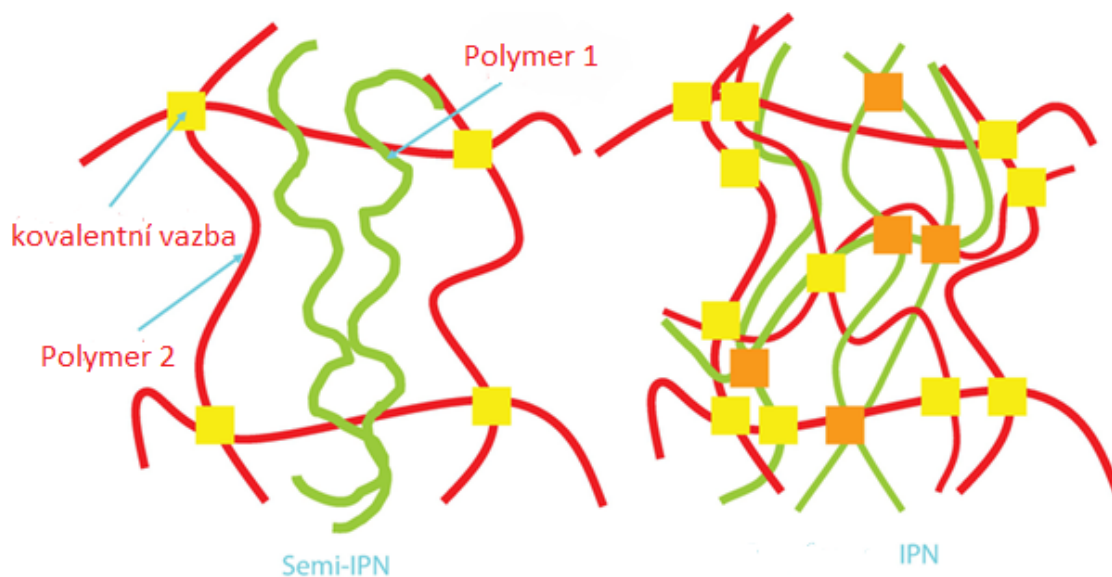
První zmínka o interpenetrované polymerní síti (IPN) pochází již z roku 1914, kdy Jonas Aylsworth vytvořil síť fenol-formaldehydové pryskyřice s přírodním kaučukem. To bylo ovšem ještě před zavedením pojmů jako IPN nebo dokonce polymer. Proto první použití termínu interpenetrovaná polymerní síť přichází až v roce 1960 J.R. Millarem, který zkoumal vlastnosti těchto materiálů [15].

Podle IUPAC zní definice pro IPN: "*Polymer obsahující dvě nebo více sítí, které jsou přinejmenším částečně propletené v molekulárním měřítku, ale nejsou vzájemně kovalentně vázané a nemohou být odděleny, pokud nebudou chemické vazby přerušeny*" [16]. Jestliže je ovšem v síti (nebo v systému více sítí) mechanicky propleten i lineární polymer, jedná se o tzv. semi-interpenetrované polymerní sítě (semi-IPN). Definice podle IUPAC pro tento druh polymerní sítě je následující: "*Polymer obsahující jednu nebo více sítí a jeden nebo více lineárních nebo rozvětvených polymerů vyznačující se pronikáním na molekulární úrovni alespoň jedné ze sítí alespoň některými z lineárních nebo rozvětvených makromolekul*" [16]. Ke každé definici je přidána poznámka, která zdůrazňuje odlišnosti mezi polymerními sítěmi. U IPN je to poznámka o tom, že směs dvou nebo více předem vytvořených polymerů netvoří IPN. U semi-IPN je poznámka přidána k vyzdvižení rozdílu právě mezi IPN a semi-IPN: "*Semi-IPN se odlišují od IPN, protože lineární nebo rozvětvené polymery tvořící síť mohou být principiálně odděleny od sítě polymerů bez porušení chemické vazby*" [16] (obr. 4).

K tvorbě IPN sítí se v současnosti nejčastěji využívá metoda in situ polymerace, která spočívá ve smíchání monomerů či polymerů v roztoku již před samotným síťováním. Dvě sítě tedy mohou být vytvořeny současně nebo postupně. Vše se odvíjí od síťovacích vlastností systémů. Dalším možným postupem je vytvoření IPN přes tzv. mezikrok semi-IPN. V první řadě se vytvoří polymerní síť a následně se monomery nanesou do připravené sítě. Nyní dochází

k vytvoření semi-IPN sítě, která může být převedena na IPN, pokud u přidaného polymeru dojde vhodnou iniciací k vytvoření druhé sítě [17, 18].

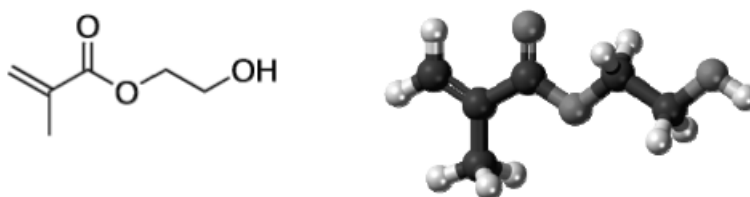
Aplikační potenciál těchto materiálů je velmi rozmanitý od automobilových dílů přes strojírenské plasty až po systémy s cíleným uvolňováním léčiv či tkáňové inženýrství. Poslední zmíněné obory často využívají hydrogely, které mohou vzniknout při vzájemné penetraci dvou hydrofilních polymerů. Je tak možné sloučení i syntetických a přírodních polymerů, které mohou disponovat velkou škálou vlastností, která je umožněna synergií obou složek sítě [14, 18].



Obr. 4: Struktura IPN a semi-IPN polymerních sítí [17]

2.2.3 2-hydroxyethyl-methakrylát jako modelový gelotvorný materiál

První historické zmínky o 2-hydroxyethyl-methakrylátu (HEMA) a jeho polymerech se datují do třicátých let 20. století. Monomer, polymer i jejich příprava byly popsány, ovšem skutečného využití se dočkaly až při systematickém výzkumu hydrofilních struktur, kterému se věnovali O. Wichterle s D. Límem. Použití tohoto hydrogelu pro první kontaktní čočky vzbudilo ve světě obrovský ohlas a nastínilo možnost použití hydrogelových systémů ve zdravotnictví. Díky tomuto výzkumu se poly-HEMA gel stal materiálem první volby pro biomedicínské aplikace, zejména ve fázi pilotních pokusů. Materiál potom může být modifikován mnoha způsoby podle konkrétních potřeb aplikace [19, 20].



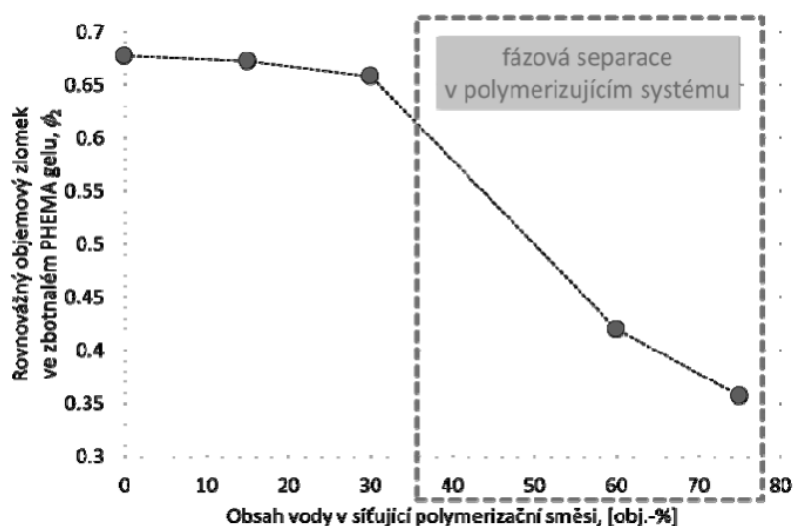
Obr. 5: Struktura monomeru hydroxyethyl-methakrylátu [20]

Struktura monomeru je zobrazena na obr. 5 a jeho vlastnosti jsou shrnuty v tabulce 1. Hodnoty jsou stanoveny za standardních podmínek [20].

Tabulka 1: Vlastnosti monomeru HEMA

Chemický sumární vzorec	$C_6H_{10}O_3$
Molekulová hmotnost	$130,14 \text{ g mol}^{-1}$
Vzhled	Bezbarvá kapalina
Hustota	$1,07 \text{ g cm}^{-3}$
Bod tání	$-99 \text{ }^\circ\text{C}$
Bod varu	$213 \text{ }^\circ\text{C}$
Tenze par	$0,08 \text{ hPa}$

Obvyklým postupem přípravy poly-HEMA hydrogelů je polymerace methakrylátu volnými radikály. Polymery HEMA lze připravit jako makroskopicky homogenní, opticky čiré, nebo naopak heterogenní hmoty, projevující ztrátu čirosti a opalescenční lom světla. Lze jej dokonce obecně rozdělit do několika tříd: neporézní, mikroporézní (obsahuje póry o velikosti $<2 \text{ nm}$), mezoporézní ($2\text{-}50 \text{ nm}$), makroporézní ($50 \text{ nm}\text{-}1 \text{ }\mu\text{m}$) a superporézní (stovky μm). V nabotnalém stavu se tento hydrogel projevuje jako pružný gel, v suchém stavu je nepružný a křehký. Poznatek, že obsahuje-li polymerizační systém více než zhruba 50 objemových procent vody coby disperzního prostředí, získáme bílý, heterogenní materiál, je ilustrován na Obr. 6. Běžné kovalentně zesíťované hydrogely obsahují cca 38 % vody a jsou transparentní. Největším nedostatkem tohoto materiálu, který omezuje jeho aplikaci ve zdravotnictví, je jeho nižší biologická rozložitelnost [20, 21].



Obr. 6: Závislost stupně nabotnutí poly-HEMA hydrogelu (s 0,5 mol.% ethylendimethakrylátu jako síťovadla) na obsahu vody v polymerizační směsi [20]

2.3 Difúze

Difúze je děj, při němž jsou molekuly v nehybném uzavřeném systému transportovány z jedné do druhé části systému zcela neuspořádaným pohybem. Tento posun se odehrává díky tepelnému pohybu částic, které systém tvoří. Pokud se na soustavu díváme z molekulárního hlediska, žádný směr tepelného pohybu molekuly není preferovaný, ovšem makroskopicky vždy pozorujeme pohyb složky z oblasti s vyšší koncentrací jejích molekul do oblasti s koncentrací nižší. Tento proces je v kapalinách poměrně pomalý, neboť v důsledku velkého počtu srážek, ke kterým dochází během pohybu, se molekula vychyluje od směru své trajektorie. Přestup látky je vzájemný, např. v systému kapalina pevná látka difunduje rozpouštědlo do pevné látky a naopak [1, 6].

Hnací silou difúze je koncentrační gradient (obecně gradient chemického potenciálu) transportované látky v místech, kde se difúze uskutečňuje. Rychlost šíření částic je ovlivněna vlastnostmi prostředí, teplotou i samotnou velikostí částic. U koloidních disperzí je značně pomalejší než u disperzí analytických. U hrubých disperzí je rychlost difúze prakticky neměřitelná [6].

Během transportu jednoho molu látky z místa o chemickém potenciálu μ na místo s chemickým potenciálem $\mu + d\mu$ je maximální práce dw (jiná než objemová) rovna změně chemického potenciálu $d\mu$. V systému, kde je chemický potenciál závislý na prostorové změně souřadnice x dostáváme: [22]

$$dw = \left(\frac{\partial \mu}{\partial x} \right)_{p,T} dx. \quad (1)$$

Porovnáním s obecným teoretickým vyjádřením práce získáme:

$$dw = -Fdx \quad (2)$$

kde F je síla působící v opačném směru.

Tato síla není opravdovou silou, která by působila na částici ve směru gradientu chemického potenciálu. Vyjadřuje spontánní tendenci částic k rozptýlení, což je následek druhého zákona termodynamiky. Difúze je tedy nevratný proces spojený se vzrůstem entropie, který se podílí na mnoha biologických, chemických i fyzikálních procesech [23].

Difúze může probíhat v plynech, kapalinách, a dokonce i v pevných látkách. Plyny mají nižší hustotu i viskozitu než kapaliny, částice tedy mají největší kinetickou energii. Difúze v tomto prostředí je tedy nejrychlejší (okolo $10 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$). V kapalinách se částice po sobě posouvají, tento děj probíhá pomaleji (okolo $0,5 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) a je závislý na čase, teplotě, viskozitě a jejich vzájemné rozpustnosti. V pevných látkách se částice nemohou pohybovat volně, mohou pouze zaujmout místo na vedlejším volném místě krystalické mřížky. Tento děj tedy probíhá nejpomaleji (okolo $0,00001 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$). Rychlost difúze polymerů leží v rozmezí mezi rychlostí kapalin a pevných látek. Výsledná rychlost je silně ovlivněna koncentrací polymerů [22].

2.3.1 Fickovy zákony

Z výše uvedeného tedy víme, že podstatou difúze je neustálý neuspořádaný molekulární pohyb. Stejný pohyb stojí také za vedením tepla. Mezi oběma jevy tedy musí existovat určitá analogie, kterou jako první popsal v roce 1855 německý lékař Adolf Eugene Fick. Ten ve své práci uvedl, že difúze je založena na stejném principu jako vedení tepla a taktéž vedení elektřiny ve vodiči. Díky tomu mohl pomocí Ohmova zákona pro elektřinu a Fourierova zákona pro teplo vytvořit matematický popis difúzních procesů, a na jeho základě definovat dva zákony [4, 22].

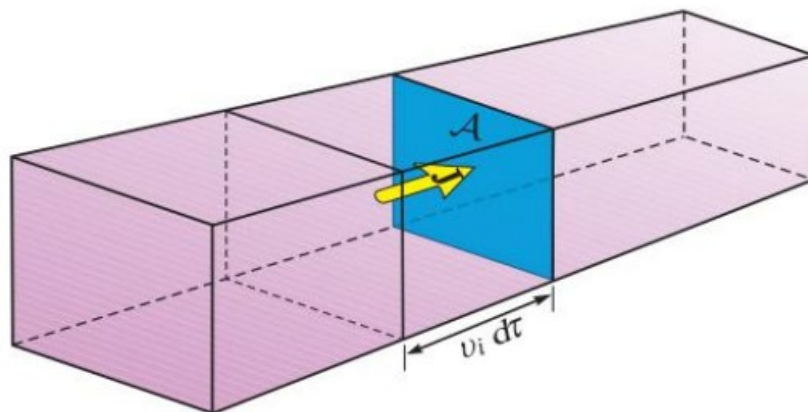
Koncentrační gradient udává, jak se mění koncentrace se vzdáleností od zvoleného počátku. Látkové množství difundující složky, které za jednotku času projde jednotkovou plochou kolmou ke směru difúze je difúzní tok J . Jeho kladná hodnota vypovídá o tom, že transport probíhá ve směru kladné osy x , záporná hodnota o opačném směru. Tok je tedy úměrný změně jiné vlastnosti se vzdáleností (gradientu) s konstantou úměrnosti vyjadřující tok odpovídající veličiny při jednotkovém gradientu. Transport se odehrává v opačném směru, než je směr gradientu. Tato skutečnost je znázorněna v rovnici 3 znaménkem mínus [4].

$$J = -\text{konstanta} \cdot \text{gradient} \quad (3)$$

Za časový interval $d\tau$ projdou zvoleným průřezem o ploše A všechny částice, které se nacházejí ve vzdálenosti $v_i d\tau$ od tohoto průřezu (obr. 7) Pro difúzní tok tedy platí:

$$J_i = \frac{dn_i}{A d\tau} = v_i c_i \quad (4)$$

Rovnice 4 je vyjádřena pro jednorozměrný případ toku, ve vícerozměrném prostoru je tok vektorem, jehož složky představují toky v jednotlivých směrech [4].



Obr. 7: Difúzní tok [4]

První Fickův zákon

Tento zákon je zavedený pro stacionární difúze. Hustota difúzního toku neboli látkové množství rozpuštěné látky, které projde za jednotku času jednotkovou plochou kolmou ke gradientu koncentrace, je v daném místě přímo úměrná gradientu koncentrace látkového množství rozpuštěné látky [22].

$$J = -D \left(\frac{\partial c}{\partial x} \right) \quad (5)$$

V rovnici 5 vystupuje jako konstanta tzv. difúzní součinitel (nebo difúzní koeficient, zkráceně difúzivita) D , který je funkcí tlaku, teploty, velikosti a pohyblivosti částic. K jeho určení slouží řada empirických vztahů. Jedním z nich je Stokes-Einsteinova rovnice 6, která se uplatňuje ve zředěných koloidních roztocích částic či polymerů. Zde k je Boltzmanova konstanta, T je termodynamická teplota, η_2 je viskozita disperzního prostředí a r_1 je poloměr disperzních částic [23].

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta_2 r_1} \quad (6)$$

Druhý Fickův zákon

Druhý zákon odvodil Fick paralelně k Fourierovu zákonu vedení tepla. Tento zákon platí pro nestacionární difúzi. K té dochází, jestliže se difúzní tok mění s polohou a koncentrační gradient se mění s časem. Obecně pro všechny směry difúze lze tedy tento zákon zapsat ve tvaru:

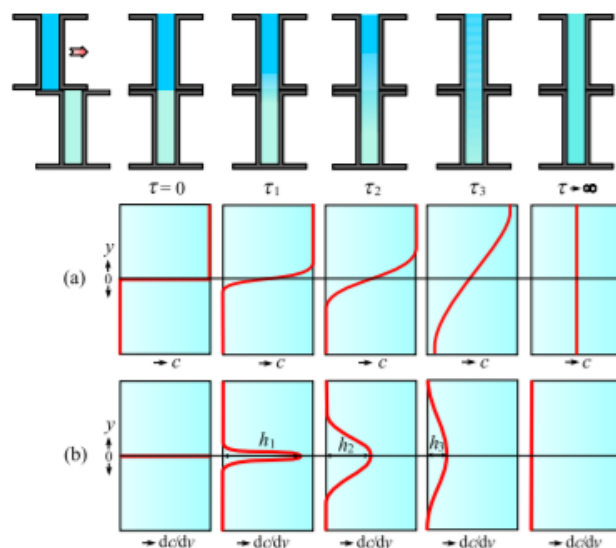
$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \text{div}(D \cdot \text{grad}) \quad (7)$$

Tato rovnice může být vyjádřena pro kartézský, sférický nebo cylindrický souřadnicový systém [3, 24].

Pro jednosměrnou nestacionární difúzi ve směru osy x je zavedena rovnici 8. Platí, pokud se mění koncentrace s časem a $D = \text{konst}$, neboli časová změna koncentrace ve zvolené vrstvě je úměrná změně gradientu koncentrace v této části [4, 23].

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \quad (8)$$

Průběh nestacionární difúze může být jednoduše vysvětlen pomocí obr. 8. Ten ilustruje měření difúzního koeficientu metodou volné difúze. Roztok v horní části kyvety se posunutím ve směru šipky dostane do styku s čistým rozpouštědlem ve spodní části kyvety. To poslouží k vytvoření ostrého koncentračního rozhraní, které se postupem času rozplývá. Poté se zvolenou analytickou metodou změří koncentrace v různých vzdálenostech a v odlišném čase od začátku experimentu [4].



Obr. 8: Průběh nestacionární difúze a) průběh koncentrace v různých časech, b) průběh koncentračního gradientu [4]

2.3.2 Difúze v hydrogelovém prostředí

Difúze solutů v hydrogelech nachází uplatnění v široké škále oborů. U separačních procesů jako je například chromatografie [25], pro enkapsulaci buněk [26], v biosenzorech [27] a pro cílené uvolňování léčiv [28], tady všude se hydrogely díky svým specifickým difúzním charakteristikám s oblibou využívají. Důležitou vlastností gelů, která spojuje všechny tyto aplikace je schopnost zpomalit rychlost difúzních procesů. Je proto zásadní pochopit princip difúze v hydrogelových systémech.

Jak již bylo zmíněno, hydrogely tvoří trojrozměrnou síť polymerů, která má své mezery vyplněny vodou. Celková struktura hydrogelu se pohybuje od homogenních, kde polymerní řetězce mají vysoký stupeň mobility, až po heterogenní, ve které jsou polymerní řetězce prakticky nehybné. Difúze probíhá jen a pouze v oblastech, které jsou vyplněny vodou, a to po klikaté trajektorii. Tím se samozřejmě celková dráha prodlouží. U heterogenních gelů nejsou otvory mezi síťovou strukturou o konstantní velikosti ani konstantní umístěním, zatímco u homogeních hydrogelů lze tyto mezery mezi řetězci považovat za konstantní. Obecně platí, že difúze rozpuštěné látky propojeným hydrogelem klesá s tím, jak se zvyšuje hustota křížového propojení, jak se zvětšuje velikost solutu a jak se snižuje objemová frakce vody v gelu [29].

Difúze rozpuštěných látek v hydrogelech je běžně modelována jedním ze tří následujících teoretických modelů. Tím prvním je hydrodynamická teorie, které bere v úvahu tření mezi solutem a okolní hydrogelovou maticí. Další model předpokládá, že solut je přepravován dynamickými prázdnými prostory mezi molekulami, tzv. teorie volného objemu rozpouštědla. Poslední model, teorie obstrukcí, modeluje polymerní síť jako bariéru pro difúzi solutu skrze kapalinu [30].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

I přesto, že gely na bázi HEMA jsou známy již od konce padesátých let, kdy se o rostoucí zájem o ně zasloužil vynález kontaktních čoček, tak se i v dnešní době těší tyto gely enormnímu vědeckému zájmu. Oproti standartním metodám přípravy se v dnešní době zkoumají i jiné inovativní přístupy, jedním zajímavým příkladem je práce *Passose a spol.*, kteří ve své studii [31] prováděli syntézu poly-HEMA gelů pomocí nového zdroje infračerveného záření. Jako laser byl zde použit ytterbiový laser. Uvádí, že při vlnové délce 1 070 nm jsou vlastnosti, struktura a biologické chování biomateriálů velmi výhodné (tkáň jsou při takovém záření propustné a samotné záření jim nijak neškodí). Tímto laserem syntetizovali hydrogel za účelem výroby zdravotnického materiálu. Materiály byly získány pomocí polymerace volných radikálů a vyhodnoceny byly z hlediska stupně propojení, pohyblivosti polymerního řetězce, tepelných a mechanických vlastností. Jejich potenciál jako využití v oblasti regenerace jako chrupavkové implantáty byl zkoumán pomocí inkubace s kulturou chondrocytových buněk a kvantifikací DNA. Výsledky této studie ukázaly vhodnost infračerveného světla při tvorbě volných radikálů a rychlém růstu polymerního řetězce. Získaný porézní materiál vykazoval zlepšení týkající se regenerace tkáň chrupavky.

3.1 Možnosti úpravy mechanických vlastností poly-HEMA hydrogelu

Z hlediska praktického uplatnění musí mít hydrogely určitou mechanickou pevnost navzdory jejich měkké povaze, neboť většina aplikací musí vydržet velké zatížení a deformace. Mnoho z v současnosti nejčastěji využívaných hydrogelů touto mechanickou vlastností bohužel nedisponuje. Příčinou je například náhodný výskyt styčných bodů nebo heterogenní charakter polymerní sítě. Pro odstranění těchto nedostatků bylo v posledních letech vynaloženo velké úsilí. Byly vyvinuty opravdu pevné a silné hydrogely s mnohem lepšími mechanickými vlastnostmi, včetně nanokompozitních hydrogelů. Tyto nově vyvinuté hydrogely značně rozšířily rozsah možných aplikací. Většina hydrogelů se díky jejich povaze využívá ve vodném prostředí. Nicméně, obvykle jsou polymerní řetězce připraveny „za sucha“. Po nabotnutí, tedy po zvýšení obsahu vody v jejich objemu, se mechanické vlastnosti změň. Tento fakt často omezuje jejich praktické využití [32]. Díky tomu se mnoho vědců snaží vyvinout hydrogelový materiál, který bude mít výborné mechanické vlastnosti i v nabotném stavu. Například *Kamata a spol.* navrhli a též připravili nebotnající hydrogel smícháním vodných roztoků polymerních jednotek s termoreaktivními a hydrofilními komponentami. Při optimální teplotě si hydrogel dokázal udržet svůj tvar i ve vodném prostředí, a tím si zachoval potřebné mechanické vlastnosti [33]. Další možný postup uvedl *Qin a spol.* [34], když připravovali hydrogel založený na velké hustotě micel. Bylo připraveno mnoho hydrogelů, ovšem většina dosahovala nízkého stupně botnání jen za určité teploty nebo pouze v čisté vodě. Jejich stabilita ve vodném roztoku s různými hodnotami pH nebyla zdaleka dostačující.

Liu a spol. se zaměřili na vývoj nového poly-HEMA hydrogelu, který by mohl udržet své mechanické vlastnosti pod vodou bez ohledu na hodnotu pH či teplotu [35]. Hydrogely byly vytvořeny radikálovou polymerací monomeru HEMA v roztoku vody s methylimidazolium chloridem (BmimCl). Následovalo vymývání BmimCl vodou. Autoři uvádějí, že připravený hydrogel by měl disponovat pevností v tahu 173 kPa a prodloužením až o 705 %. Tyto gely prokázaly také vynikající stabilitu v roztocích s rozmanitým pH od 1 do 13. Závěry z tohoto výzkumu ukazují, že tento nový druh poly-HEMA gelu má velký potenciál v různých biomedicínských a průmyslových aplikacích [35].

Díky schopnosti přijímat do své struktury velké množství vody se hydrogely chovají jako živá tkáň více než jakékoliv jiné materiály [36]. Byly proto často využívány pro krytí ran. V posledních letech se pro hojení ran využívají biopolymery, a to například polysacharidy, proteoglykany a bílkoviny [37]. Jedním z nejvíce studovaných biopolymerů je chitosan. Tento polysacharid je biokompatibilní, biologicky rozložitelný, má antibakteriální účinky a může být dokonce protizánětlivý [38][38]. Semi-interpenetrované polymerní sítě (semi-IPN) jsou typem sítě, kde je lineární polymer propleten mezi sítí zkříženého polymeru. U semi-IPN hydrogelů můžeme mechanické vlastnosti modulovat pomocí obsahu lineárního řetězce polymeru. Další možnost, jak zlepšit vlastnosti gelů, je použití nanomateriálů k vytvoření nanokompozitů [39]. *Ruiz-Galindo a spol.* proto ve své studii [40] navrhli vytvoření semi-IPN hydrogelu poly-HEMA pomocí fotoiniciace s karboxymethyl chitosanem (CMCh). Tato kombinace značně posílila pevnost v tahu a mohla také zlepšit biologické vlastnosti tohoto materiálu. Kromě toho začlenění nanogelů do semi-IPN je činí lepšími kandidáty pro aplikaci na hojení ran. Výsledky jejich studie dokazují, že takto připravený semi-IPN hydrogel v nabotnalém stavu má mechanické vlastnosti velmi podobné kůži. Avšak stále to zcela nesplňovalo požadavky, které si autoři kladli na začátku. Začlenění nanogelů do semi-IPN je činí lepšími kandidáty pro aplikaci na hojení ran. Proto byly semi-IPN hydrogely naplněny směsí N vinylkaprolaktamu a polyethylenglykol methylether methakrylátu (PVCL/PEGMA). V nabotnalém stavu tyto nanogely poskytly dostatečnou stabilitu – vykazovaly deformaci až 36 %, což je téměř stejná hodnota jako má kůže. Z toho vyplývá, že mechanické vlastnosti semi-IPN hydrogelů naplněných nanokompozity byly více podobné kůži než semi-IPN hydrogely bez nich. Dále bylo prokázáno, že zavedení lineárního hydrofobního řetězce, jako je CMCh do poly-HEMA hydrogelové matrice může také pozitivně měnit mechanické vlastnosti. Pokud jsou navíc do hydrogelu přidány viskoelastické nanočástice jako je například PVCL/PEGMA nanogel, dochází k dalšímu mechanického vylepšení. Biomateriály vyvinuté autory této studie tak mohly být použity jako mechanicky vyztužené obvazy na rány pro velké plochy poškozené kůže.

3.2 Využití hydrogelů jako tenkých filmů pro buněčnou kulturu

Jak již bylo zmíněno, hydrogely nachází široké uplatnění. Jedním z mnoha je také využití hydrogelů pro buněčnou kulturu jako substrát pro kultivaci. Jsou navrženy jako tenké filmy připojené k tuhému substrátu. Jelikož jsou tyto gely mechanicky omezeny (podkladový substrát), mohou botnat jen ve směru svislém k podkladu. Výsledkem je dvouosé tlakové napětí v gelu. Když je napětí dostatečně velké, volný povrch filmu se lokálně přetrhne a vytvoří různé vzorované povrchy. Tento problém byl studován jak teoreticky, tak experimentálně [41]. Tento problém (po botnání nastává mechanická nestabilita gelového filmu) může být využit jako metoda pro povrchové zvrásnění. Právě toto nachází uplatnění u buněčných kultur. Nepravidelné vzory vznikající při povrchovém zvrásnění jsou pro mnoho praktických aplikací ztěžující okolností, zejména pokud se jedná o pěstování mnohobuněčných kultur. Zajímavé jsou poly-HEMA gely/filmy, které po nabotnání vytvoří na povrchu vzor připomínající včelí plástve. Nicméně ve většině případů je potřeba udržovat volný povrch gelového filmu plochý. V těchto případech by mělo být zabráněno mechanické nestabilitě, která povede k hrubému, vzorovanému povrchu. Proto je velmi žádoucí, aby nestabilita vyvolaná na hydrogelovém filmu se mohla samovolně regenerovat. Na rozdíl od běžných hydrogelů jsou v gelech, které se využívají k zabránění vytvoření vzorovaného povrchu pomocí regenerace, vzájemné vazby reverzibilní. Proto může být jakékoli poškození gelů samovolně regulováno. Různé reverzibilní vazby, včetně nekovalentních interakcí jako jsou vodíkové vazby, iontové vazby, hydrofobní

interakce a některých kovalentních interakcí jako například disulfidické vazby, byly začleněny do gelové struktury. Po nařezání na několik kusů mohou být tyto gely spojeny zpět do jednoho celku. Snížení mechanické pevnosti lze po silné deformaci také rychle obnovit, jakmile skončí namáhání [42]. Právě za účelem ověření, zdali gely mohou regenerovat pomocí kovalentních vazeb, syntetizovali *Wang a spol.* ve své studii [43] filmy poly-HEMA provázané disulfidickými vazbami. Stejně jako u běžných poly-HEMA filmů vedlo botnání ke zvrásnění povrchu filmů. Vzhledem k reverzibilní povaze disulfidických vazeb ve filmech však nestabilita postupně mizela s časem a povrch gelových filmů se vrátil k plochému. Monomer obsahující thiolovou skupinu (ATEMA) byl syntetizován přímo z HEMA a kyseliny thiolacetylové. Lineární kopolymer poly-(HEMA-ATEMA) byl syntetizován polymerací volných radikálů. Nakonec byly poly-(HEMA-ATEMA) filmy připraveny odpařením rozpouštědla. Bylo potvrzeno, že stejně jako běžné hydrogelové filmy podléhají mechanické nestabilitě při botnání ve směsi ethanolu a vody. Nicméně, díky dynamické povaze disulfidických vazeb může být napětí a zvrásnění zmírněno. Vzory způsobené nestabilitou mohou být regenerovány a povrch gelu se vrátí do plochého tvaru [43].

Dalšími, kdo se touto problematikou zabíral, byli *Yun a spol.* [44], kteří taktéž připravovali gelový film na bázi poly-HEMA hydrogelu. Přípravu těchto filmů popisují jako komplikovanou a dlouhou. Pro syntézu vzorovaných hydrogelových filmů poly-HEMA byla vyvinuta metoda redoxní polymerace. Polymer HEMA obsahující benzoylperoxid a polymer HEMA obsahující di-methylaminobenzaldehyd byly jednoduše smíchány a nechány polymerovat při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Po ní následovalo zahřívání na 40 °C po dobu 4 hodin. Zpočátku vykazovaly vznikající filmy vzorovaný povrch. Když však koncentrace iniciátoru klesla, byly úspěšně syntetizovány filmy s hladkým povrchem. Zvrásnění filmů nastává po botnání. Tvar a velikost vzorů lze upravit změnou množství síťovadla přidaného do roztoku polymeru nebo změnou tloušťky vznikajícího filmu. Vzhledem k jejich schopnosti syntézy in-situ v jamkách kultivačních desek, spontánnímu vzorování ve vodném prostředí bez nutnosti jakékoli šablony nebo zařízení, a opět vytváření vzorů podobných včelím plástvím, jsou velmi slibným adeptem na aplikaci u mnohobuněčných generacích. Jako ukázkou jejich využití autoři pomocí těchto filmů úspěšně kultivovali mnohobuněčné generace s vysokou monodisperzitou a vysokou životní schopností.

3.3 Hydrogely jako nosiče léčiv pro cílené uvolňování

Ačkoli jsou přírodní polymery (polysacharidy, bílkoviny) z velké části používány jako nosiče léčiv v technologii řízeného uvolňování, získaly syntetické polymery větší pozornost, protože s těmito látkami lze dosáhnout jak řízeného uvolňování, tak specifické lokalizace terapeutického účinku. Pro *Senola a Akyola* byl hlavním cílem jejich práce [45] nalézt nejvhodnější iniciátor pro syntézu hydrogelu, konkrétně hydrogelu na bázi HEMA. Fotoiniciátor měl napomoci vytvořit systém pro cílené uvolňování léčiv, který bude disponovat nejvhodnějšími vlastnostmi, jež jsou po něm požadovány. Pro studii byly zvoleny celkem tři fotoiniciátory, a to 2,2-dimethoxy-2-fenyl-acetofenon (Irgacure 651), 1-hydroxycyklohexylfenylketon (Irgacure 184) a 2-hydroxy-4-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiofenon (Irgacure 2959). Kromě toho byl zde využit i hydroxyapatit k modifikaci hydrogelu HEMA. Jako vzorové léčivo byl použit hydrochlorid donepezil. Testování in vitro bylo uskutečněno v různých prostředích pH 1,2; 6,8; 7,4. Z dosažených výsledků nejlépe dopadl fotoiniciátor Irgacure 2959, který uvolnil největší množství léčiva. Druh fotoiniciátoru,

stejně tak jako jejich množství mělo vliv na jejich botnání. Hydroxyapatit se postaral o zpomalení rychlosti uvolňování léčiva a přispěl ke zlepšení mechanických vlastností.

Zia a spol. se ve své práci [46] věnovali vývoji bezpečného, účinného systému pro cílené uvolňování léčiv, konkrétně pro nesteroidní protizánětlivá léčiva, a to ve formě mikrogelů. Pracovali s ftalát acetátu celulosy v kombinaci s poly(HEMA) hydrogely, které syntetizovali radikálovou folymerací. Vzniklé gely byly testovány pro určité hodnoty pH. Jejich hlavní motivací bylo překonat poškození sliznice, které je způsobeno běžnou lékovou formou a cílením na tlusté střevo. Nejmenší rychlost uvolňování byla prokázána u hodnoty pH 1,2 a nejvyšší uvolnění léků bylo u hodnoty pH 7,4. Vylepšené difúzní vlastnosti mikrogelů, které jim byly připisovány porézní povahou a amorfní strukturou, potvrdily testy pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu a rentgenové difrakční analýzy. Tetrazolový test (MTT test) prokázal absenci cytotoxicity proti řadě buněčných linií. Proto se dospělo k závěru, že autoři této studie syntetizované mikrogely mohou být účinně použity k zapouzdření nesteroidních protizánětlivých léků pro cílené uvolnění, které by se mohly použít k léčbě bolesti a snížily by se jejich nežádoucí účinky.

Lokální oční kapky jsou v současné době nejoblíbenější léčbou oftalmologických onemocnění, ale jejich časté dávkování je nezbytné k dosažení žádoucího klinického výsledku na úkor systémových vedlejších účinků. Kontaktní čočky obsahující léčivou látku mají velký potenciál jako alternativa očních kapek. Proto *Li, Guan* a jejich tým vyvinuli nový poly-HEMA hydrogel začleněním β -cyclodextrinhyaluronanové sítě do poly-HEMA hydrogelu [47]. Kromě zlepšení povrchových vlastností (hydrofility), schopnosti absorpce vody, průchodu kyslíku a flexibility, pHEMA/ β -CD-crHA hydrogel také snížil adsorpci slzných proteinů v důsledku vzájemné elektrostatické repulze, omezil přilnavost modelové patogenní bakterie *Staphylococcus aureus*, zvýšil zapouzdření léčiva a prodloužil uvolňování léků. Hydrogel pHEMA/ β -CD-crHA je tedy potenciálním materiálem pro výrobu kontaktních čoček pro léčbu oftalmologických onemocnění.

Další, kdo se zabýval přípravou materiálu vhodného pro řízené uvolňování léčiv byl *Garcia a spol.*, kteří syntetizovali interpenetrovanou polymerní síť skládající se z chitosanu a 2-hydroxyethyl-methakrylátu [48]. U těchto materiálů bylo vykonáno mnoho testů, například schopnost materiálu botnat při různých hodnotách pH, což souviselo s množstvím chitosanu obsaženého ve vzorku. Bylo prokázáno, že materiál vykazoval viskoelastické vlastnosti. Kvetiapin byl zde použit jako modelové léčivo pro řízené uvolňování. Difúze a relaxace polymerní sítě byly hlavními procesy, kterými bylo uvolňování léčiva řízeno. Na závěr byl za simulovaných fyziologických podmínek materiál podroben degradaci za použití lysozymu. Vyšší stupeň degradace byl zaznamenán u materiálů, které obsahovali více chitosanu.

Bakan a spol. se zaměřili na syntézu nového materiálu a jeho potenciální využití v biomedicinském odvětví. Cílem jejich studie [49] bylo charakterizovat a vyhodnotit toxicitu a biokompatibilitu polymerního řetězce L-glutamová kyselina-co-poly-HEMA. Materiály byly úspěšně syntetizovány různými technikami polymerace. Všechny provedené toxikologické testy (např.: laktátdehydrogenázový test) nevykazují signifikantní negativní výsledky, což naznačuje, že tento polymerní řetězec je bezpečný a biokompatibilní pro biomedicinské aplikace, jako například řízené uvolňování léčiv.

Novou polymerní síť připravil *Singh a spol.*, když se zabývali léčbou chronického průjmu a cíleným podáváním antibiotika meropenemu pro léčbu tohoto onemocnění [50]. Polymerní matici tvořil polysacharidový arabinogalaktanový protein získaný z moringy olejodárné a poly-HEMA. Výsledky studie prokazují, že řetězec reagoval na změny hodnot pH, tudíž je

vhodný pro kontrolované podávání léčiv, je biokompatibilní, antioxidační a mukoadhesivní. Syntéza byla prováděna radiační metodou, proto je výsledná látka čistá a sterilní. Difúzní profil meropenenu odpovídal kinetickému Korsmeyer-Peppas modelu.

Zajímavý výzkum [51] provedl *Tomíč a spol.*, který syntetizoval poly(2-hydroxyethylmethyl-co-itakonotová kyselina) hydrogely (P(HEMA/IA) radikálovou polymerací 2-hydroxyethyl-methakrylátu a kyseliny itakonové. Studium kinetiky difúze a řízeného uvolňování byly provedeny pomocí gravimetrie a UV spektrofotometrie. Na základě experimentálních dat dospěli k závěru, že zavedením vysoce hydrofilní kyseliny itakonové do struktury poly-HEMA významně zlepšilo botnání gelu, jeho hemokompatibilitu a parametry uvolňování léčiv. P(HEMA/IA) hydrogely připravené v této studii lze považovat za potenciální matrice citlivé na pH pro systémy s cíleným uvolňováním léčiv vhodné pro transdermální podání a obvazy na hojení ran.

3.4 Aplikace v tkáňovém inženýrství

Poškození nervového systému v důsledku stáří, onemocnění nebo traumatu může inhibovat přenos signálu podél nervového systému. Pokud je periferní nervová soustava poškozena, axony jsou schopny regenerovat pouze krátké poškozené segmenty. Jedna z možností léčby je přišití konců poškozeného nervu k sobě. Mezera musí být ovšem opravdu malá. Pokud dojde k tříštivému zranění a nervy jsou rozdrceny, tkáňové inženýrství vyrábí tzv. nervová vodítka, která zajišťují regeneraci periferních nervů. Existují nové studie, které vyvíjejí pokročilou mikroarchitekturu, jako jsou například zarovnaná vlákna, aby poskytly řízené uvolňování růstových faktorů pro lepší regeneraci. Vše je za přítomnosti podpůrných buněk jako jsou Schwannovy buňky nebo kmenové buňky [52]. K výrobě nervových nosičů se používají syntetické polymery jako je například silikon nebo polyethylenglykol. Většina z nich jsou ovšem biologicky nerozložitelné látky. Přírodní polymery jako je kolagen, želatina, chitosan a kyselina hyaluronová se také používají. I když jsou biokompatibilní a hlavně rozložitelné, často postrádají mechanickou pevnost, která je potřebná pro stabilitu nervového nosiče v poraněném místě. Kombinace těchto polymerů by mohla vytvořit ideální nervový nosič pro poraněné periferní nervy [53]. Ve studii *Dursun a spol.* používali ve svém výzkumu [54] jako přírodní polymer methakrylátovou želatinou (GelMA) a v kombinaci se syntetickým polymerním hydrogelem poly-HEMA, aby se zvýšila její mechanická pevnost pro vytvoření vnější části nervového nosiče. Dále byly využity Schwannovy buňky jako podpůrné buňky. Ty poskytují vedení regeneračních axonů k jejich cílům a poskytují také nezbytnou trofickou podporu poškozených neuronů. Poté byla použita 15% želatina-poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát) vyrobená elektrostatickým zvlákňováním, pro poskytnutí vnitřní části nervového nosiče. Při experimentech bylo zjištěno, že jejich vlastnosti jako je pórovitost, degradace, mechanická pevnost a stupeň vyrovnání byly vyhovující a vhodné k možným aplikacím. Testy byly prováděny s buňkami PC12, které se úspěšně množily podél celé délky nosiče.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

2-hydroxyethylmetakrylát (HEMA)	Sigma-Aldrich, 97%, CAS: 868-77-9
Ethylenglykol-di-methakrylát (EGDMA)	Sigma-Aldrich, 98%, CAS: 97-90-5
Irgacure 2959	Aldrich, 98% CAS: 106797-53-9
Polystyrensulfonát sodný (PSS)	Sigma-Aldrich, CAS: 25704-18-1
Rhodamin 6G	Sigma, 95%, CAS: 989-38-8

4.2 Použité přístroje

Analytické váhy	Sartorius Entris
UV/VIS Spektrometr	Hitachi U-3900H
Lampa	Osram, HQL 125W, UVB
Sušárna	BMT, Durocell
Horizontální difúzní cely	PermeGear
Detektor	OceanOptics USB2000+
Spektrometr	Datacolor SF600, PLUS-CT
Skenovací elektronový mikroskop	ZEISS EVO LS 10
Lyofilizátor	VirTis BenchTop K (Biotrade)
Fluorescenční korelační spektroskop	MicroTime 200, PicoQuant

4.3 Příprava hydrogelu na bázi polyhydroxyethyl methakrylátu

Složení roztoku polymeru vychází z bakalářské práce, jejíž nedílnou součástí byla právě optimalizace přípravy. Ve vialce byly smíchány veškeré komponenty roztoku. A to v poměru 2:3 objemu deionizovaná voda a monomer polyhydroxyethyl methakrylát. Dále bylo přidáno 0,125 % obj. EGDMA, který slouží jako síťovadlo, a jako iniciátor byl zde použit Irgacure 2959 v množství 1 % vztažené na obsah monomeru. K syntéze dochází radikálovou polymerizací pomocí fotoiniciace. Na Petriho misku o průměru 3,5 cm byla nanášena tenká vrstva roztoku polymeru o objemu 2,5 ml. Až 6 Petriho misek současně mohlo být umístěno zhruba 16 cm pod UV lampu tak, aby výsledná intenzita záření byla okolo 2,4 mW/cm². Podle intenzity se upravovala doba polymerizace. Při této intenzitě záření byla doba syntézy 30 minut. Po 15 minutách, tedy v polovině času přípravy, byly všechny Petriho misky vždy pootočeny o 180° tak, aby bylo zabezpečeno rovnoměrné ozáření. Pro potřebu větších rozměrů gelů lze použít Petriho misek různých rozměrů. Je potřeba změnit objem polymerního roztoku v misce, aby nedocházelo dříve k jeho odpaření než zesíťování. Například pro Petriho misku o průměru 6 cm je zapotřebí 6,5 ml objemu roztoku.

Příprava s přídavkem polyelektrolytu

K výše zmíněnému roztoku polymeru byl přidán polyelektrolyt polystyrensulfonát sodný (PSS) v takovém množství, že jeho výsledná koncentrace v reakční směsi činila 0,1 g/l. Následná syntéza pomocí fotoiniciace probíhala, dle již zmíněného postupu.

Takto připravené hydrogely byly použity pro všechny experimenty, jež tato práce obsahuje.

4.4 Strukturní analýzy hydrogelu

Pro dokončení přípravy hydrogelu bylo zapotřebí zbavit se z povrchu gelu přebytečného nezreagovaného monomeru. Experimenty probíhaly jak s gelem z čisté poly-HEMA, tak s gelem s přídavkem polyelektrolytu PSS. Dále bylo zapotřebí prozkoumat strukturu gelu.

4.4.1 Vymývání nezreagovaného monomeru

Pro dokonalé vymytí zbytkového monomeru byly zvoleny tři možné postupy. Po vyjmutí gelu z Petriho misky byl opláchnut deionizovanou vodou. Toto bylo součástí každého postupu. Následně byl gel ponořen do kádinky o objemu 25 ml, která obsahovala ethanol. Ve zbylých dvou případech byla kádinka naplněna deionizovanou vodou. Kádinky uzavřené parafilmem byly umístěny na 24 hodin do uzavřené nádoby nad hladinu deionizované vody pro zajištění 100% relativní vlhkosti. Po uplynutí této doby byly kádinky s ethanolem vyměněny za kádinky s deionizovanou vodou o stejném objemu. V jednom případě byla dále deionizovaná voda vyměněna za čistou. Po uplynutí dalších 24 hodin byla ve všech kádinkách vyměněna voda za čistou, kádinky byly opět uzavřeny parafilmem a uloženy na 12 hodin opět do uzavřené nádoby nad hladinu deionizované vody. Poté byla změřena absorbance vody na UV VIS spektrometru s důrazem na posunutí základní linie. Rozsah vlnových délek byl nastaven od 800 do 300 nm s krokem po 1 nm. Po uplynutí každého časového úseku byl gelům změřen průměr a byla zvážena hmotnost.

4.4.2 Vliv ethanolu na strukturu gelu

Po přípravě gelu dle kapitoly 4.3 byly připravené vzorky ponořeny do kádinky s ethanolem. Každé dvě hodiny po dobu 12 hodin byly gely vyfoceny, zváženy a byl změřen jejich průměr. Druhý den ráno byly gely vyjmuty z ethanolu a umístěny do kádinky s deionizovanou vodou. Opět byly podrobeny každé dvě hodiny vážení, měření a focení. Pro zkoušku reverzibility tohoto děje byly gely ponořeny znovu do ethanolu.

Dále byly připraveny gely, které byly podrobeny botnání za 3 různých podmínek. Prvním postupem bylo připravený hydrogel umístit do sušárny, která byla vyhřátá na 50 °C, na 24 hodin a následně nechat botnat v deionizované vodě. Další postup měl na začátku přidaný krok umístění gelu na 24 hodin do ethanolu. A poslední variantou experimentu bylo vložení gelu do ethanolu na jeden den, následně ponoření na dalších 24 hodin do vody a teprve potom následovalo sušení a botnání. V každé fázi experimentu byly gely zváženy.

4.4.3 Struktura povrchu gelů

Pro skenovací elektronovou mikroskopii bylo připraveno celkem 12 vzorků, z toho šest bylo zmrazeno tekutým dusíkem a zbylých šest bylo zmrazeno v mrazáku. Každá skupina obsahovala stejnou řadu vzorků, tři s přídavkem polyelektrolytu PSS a tři bez něj. První dvojice gelů (PSS a bez PSS) byly zmrazeny ihned po jejich syntéze. Druhá dvojice byla zmrazena až po 24 hodinách, během kterých byl vzorek ponořen do ethanolu a poslední trojice byla zmrazena až po 48 hodinách, kdy se po jednom dni v ethanolu umístili na jeden den do vody. Z takto připravených vzorků byly odebrány reprezentativní části a vloženy do vakuové naprašovačky pro pokovení. Poté byly vzorky podrobeny analýze SEM v modu interakcí sekundárních elektronů a s urychlovacím napětím na 15 kV.

4.5 Příprava roztoku barviva Rhodaminu 6G

Pro difúzní experimenty bylo jako modelová transportní látka zvoleno barvivo Rhodamin 6G, a to z toho důvodu, že svojí strukturou (aromatický kationt) dobře modeluje řadu reálných aktivních látek (např. analgetika) a zároveň umožňuje snadnou spektroskopickou detekci (fotometrie, fluorimetrie). Byl připraven zásobní roztok smícháním 200 ml deionizované vody a 0,2 g barviva. Výsledná koncentrace roztoku tedy činila 1 g/l. Z tohoto roztoku pomocí desítkového ředění byly připravovány následující koncentrace: 0,1; 0,01 a 0,001 g/l. Následným ředěním byly připraveny koncentrace 0,05; 0,025; 0,005; 0,0025; 0,0005; 0,00025 g/l. Tři roztoky byly změřeny na UV/VIS spektrometru a jejich hodnoty absorbance při vlnové délce 526 nm sloužily ke sestavení kalibrační křivky pro výpočet koncentrace barviva během experimentů.

4.6 Difúzní experimenty

Pro charakterizaci transportních vlastností gelu a vlivu přídavku polyelektrolytu bylo využito následujících difúzních experimentů, kde právě roztok barviva rhodaminu sloužil jako difúzní sonda.

Tyto testy probíhaly vždy po dobu jednoho týdne. Základní postup byl vždy stejný. V pátek byly připraveny gely, 9 gelů čisté poly-HEMA a 9 gelů s přídavkem PSS dle kapitoly 4.3. Poté během víkendu probíhalo vymývání nezreagovaného monomeru v deionizované vodě. V pondělí byly gely jednotlivě umístěny do kádinek a zality 25 ml roztoku Rhodaminu. Vždy byly vybrány tři koncentrace barviva ve třech opakováních. Po 24 hodinách byly gely vyjmuty z roztoku barviva a zality deionizovanou vodou, kde byly ponechány do konce týdne. Během celého experimentu probíhalo v určitý čas měření absorbance na UV VIS spektrometru v rozmezí vlnových délek od 800 do 300 nm po kroku 1 nm. Ze spektra poté byly odečteny hodnoty absorbance pro 526 nm a 650 nm, které sloužily pro výpočet koncentrace rhodaminu. V tabulce 2 jsou shrnuty základní parametry jednotlivých experimentů.

Tabulka 2: Základní parametry pro jednotlivé difúzní experimenty

Pořadí experimentu	Koncentrace rhodaminu [g/l]	Čas měření vzorku v rhodaminu [hod]	Čas měření vzorku ve vodě [hod]	Pozn.
1	0,00025	2; 4; 6; 8; 10; 24	×	Absorbance
	0,00050			
	0,00100			
2	0,025	24	12; 24; 36; 48; 60; 72	Resorpce
	0,050			
	0,100			
3	0,025	24	8; 24; 36; 48; 60; 72	Výměna vody
	0,050			
	0,100			
4	0,1	×	12; 24; 36; 48; 60; 72; 84	Barvivo přímo v syntéze gelu
5	0,0025	2; 4; 6; 8; 10; 24	12; 24; 36; 48; 60; 72	Ethanol
	0,0050			
	0,0100			

Během experimentu č. 2 bylo mimo jiné zkoumáno i množství rhodaminu absorbovaného přímo v gelu. Jako první metodou byl zvolen UV/VIS spektrometr s integrační sférou (metoda difúzní reflektance). Měření probíhalo v R/S modu, v rozsahu vlnových délek 800 až 300 nm. Základní linie byla změřena pomocí referenčního vzorku BaSO₄ a poté se za vzorek vkládalo zrcátko k lepšímu odrazu paprsků. Kvůli nevyhovujícím výsledkům (měření bylo pravděpodobně zatíženo snížením detekovaného signálu rozptylem záření v gelu mimo integrační kouli) bylo měření v následujících experimentech realizováno pomocí jednoúčelového difúzně reflektančního spektrometru datacolor. Ten je schopný zajistit měření ve vysoce barevném rozlišení při vysoké efektivitě zachytu odraženého a rozptýleného záření. Přístroj umožňuje měření dopadajícího světla s krokem po 10 nm v rozsahu vlnových délek od 360 do 700 nm. Přístroj je řízený počítačovým programem, který také zpracovává naměřená data a statisticky je vyhodnocuje. Pomocí standardu černé, bílé a zelené barvy byl přístroj nejprve nakalibrován. Měření probíhalo s podkladem bílé dlaždičky, na kterou byla změřena základní linie. Vzorky byly poté jednotlivě proměřeny, každý 5krát na různých místech. Získaná data reflektance byla převedena na hodnotu absorbance. K přepočtu došlo za předpokladu, že díky bílé podložce dochází k odrazu veškerého dopadajícího světla.

Mezi experimentem číslo 2 a 3 byl proveden test, který měl odhalit čas, při kterém dochází ke zlomu a nastává resorpce barviva zpět do gelu (viz diskuse výsledků). Začátek experimentu probíhal stejně jako výše zmíněné testy. Gel byl umístěn do kádinky s deionizovanou vodou a magnetickým míchadlem a následně byl umístěn na magnetickou míchačku. Do kádinky byla ponořena vláknová spektrofotometrická transmitanční sonda spojená s halogenovým zdrojem záření OceanOptics a detektorem OceanOptics přes optická vlákna. Detektor byl připojen k počítači, který zaznamenával data pomocí softwaru Spectra Suite od společnosti OceanOptics. Před ponořením sondy ji byla nastavena základní čára (měření vody) a odečten šum detektoru. Měření probíhalo kontinuálně každých 5 minut po dobu 24 hodin a data byla automaticky ukládána. Rozsah měření byl nastaven na 800 až 300 nm. Z naměřených spekter byly odečteny hodnoty absorbance při 526 a 650 nm. Z toho byla vypočtena skutečná hodnota absorbance a podle bodu zlomu v nárůstu a poklesu hodnot byl určen čas, při kterém dochází k resorpci barviva.

K následujícímu pokusu během difúze transportované látky z gelu ven bylo přistupováno ze tří stran. U jedné sady vzorků byla voda ponechána celou dobu stejná, u druhé sady byla voda vyměněna po 12 hodinách (čas byl zvolen dle výsledků předchozího experimentu tak, aby odpovídal době po resorpci barviva) a u poslední sady docházelo k výměně při každém měření čili po 12 hodinách.

U experimentu číslo čtyři byly gely syntetizovány s inkorporovaným barvivem. Během míchání roztoku polymeru ve vialkách bylo přidáno takové množství zásobního roztoku barviva, že jeho výsledná koncentrace činila 0,1 g/l. U tohoto experimentu byla tedy sledována pouze difúze barviva ven z gelu.

Poslední experiment byl realizován jak s gely, které prošly vymýváním nezreagovaného monomeru v deionizované vodě, tak také s gely, které byly ponořeny na 24 hodin do ethanolu a až poté do vody. Výsledky byly vzájemně porovnány.

4.6.1 Difúzní cely

Pro určení bariérmích vlastností hydrogelu byly dále realizovány penetrační experimenty v difúzních celách. Jako první byly použity Franzovy difúzní cely. Styčné plochy mezi horní, donorovou a spodní, přijímací komorou byly namazány silikonovou pastou, aby nedocházelo k protečení zdrojového roztoku do přijímací cely. Mezi tyto komory byl umístěn gel. Spodní komora byla naplněna 20 ml deionizované vody tak, aby se nikde neutvořily bubliny a gel byl dokonale smáčen. V donorové komoře byly 4 ml roztoku barviva rhodaminu. Spoj byl obalen parafilmem a mechanicky přitlačen svorkou. Cela byla umístěna na magnetickou míchačku a upevněna přichycením ke stojanu. K odběru vzorků byla použita stříkačka s dlouhou jehlou, absorbance vzorků byly změřeny na spektrometru v rozsahu 300 až 800 nm. Nastavení bylo stejné jako u předchozích experimentů.

K dlouhodobému difúznímu experimentu byly následně využity horizontální difúzní cely. Styčné plochy byly opět namazány silikonovou pastou. Mezi komory byl umístěn gel, který byl připraven ve větší Petriho misce (průměr 6 cm), aby pokryl celou mezeru mezi oběma komorami. Z obou stran byla umístěna netkaná polypropylenová síťovina monofil, z důvodu zabránění proklouznutí gelu do komory. Přijímací komora byla naplněna 65 ml deionizované vody a donorová komora byla naplněna roztokem barviva rhodaminu o koncentraci 0,1 g/l a stejném objemu. Do obou komor bylo vloženo míchadlo. Cely byly uchyceny do stojanu a umístěny na magnetickou míchačku. Po zkušenostech s Franzovými celami docházelo k odběru vzorků v určitých časových intervalech. První po 9 dnech a následně každý den. Ty byly opět měřeny na spektrometru. Tento experiment byl prováděn jak s gely připravenými dle kapitoly 4.3, ale taktéž s gely zmíněnými v kapitole 4.4.2, které byly na 24 hodin ponořeny do ethanolu.

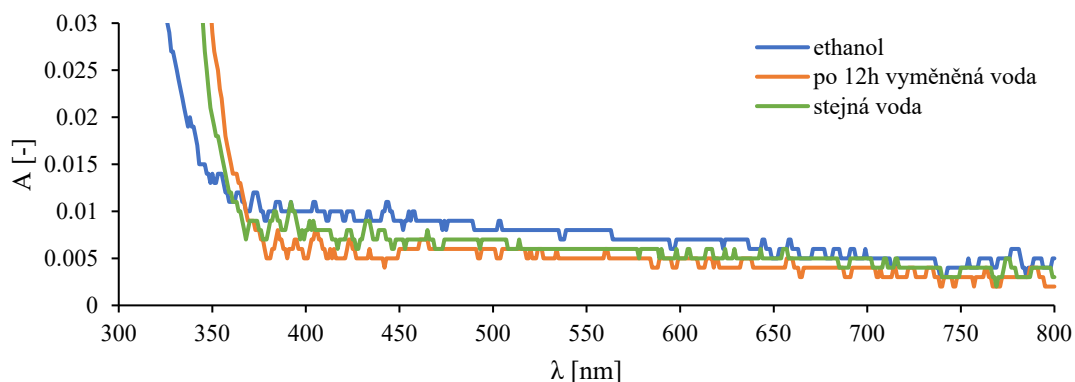
4.7 Transportní vlastnosti gelů na molekulární úrovni

Difúze v gelech na molekulární úrovni byla testována pomocí fluorescenční korelační spektroskopie (FCS). Během této techniky jsou měřeny spontánní fluktuace intenzity fluorescence v mikroskopickém objemu určeném fokusovaným excitačním laserovým paprskem. Analýza probíhala na přístroji MicroTime 200 s inverzním konfokálním mikroskopem Olympus IX71. Využívaný byl objektiv s vodní imerzí, pinhole o velikosti 50 μm a jako excitační zdroj byl použit laser s vertikální polarizací o vlnové délce 510 nm. Dichroické zrcadlo bylo nastavené na hodnotu 514/640 nm a emisní filtr na 550/49 nm. Pro kalibraci byl využit vodný roztok Rhodaminu. Tak byla zjištěna velikost efektivního objemu odchýlení od tvaru koule. Systém FCS určil další rozměry potřebné pro stanovení difúzního koeficientu. Gely, se kterými se během tohoto experimentu pracovalo, byly syntetizovány dle kapitoly 4.3. Byly měřeny vzorky čerstvě připravené, i ty, které byly podrobeny vymývání jak v čisté vodě, tak také v ethanolu. Z každého vzorku byl pomocí korkovrtu vyříznut váleček a ten byl ponořen do rhodaminu o koncentraci 10^{-15} g/l. Pro samotné měření musela být určena poloha gelu na rozhraní se sklíčkem. K tomu sloužilo změření v ose z, kde byl proveden sken v ose xz nebo yz. Měření probíhalo zhruba 5 μm nad hranicí sklíčka. Při měření byly využívány dva detektory.

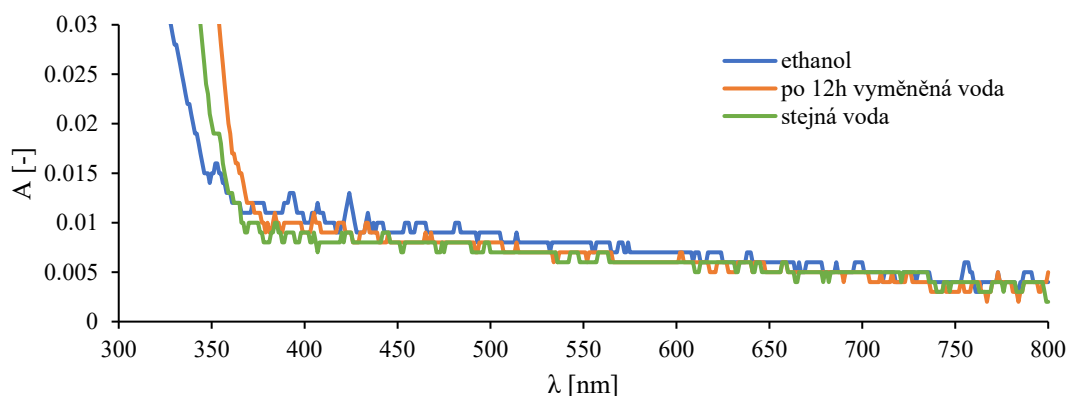
5 VÝSLEDKY a DISKUZE

5.1 Vliv ethanolu na strukturu a mechanické vlastnosti hydrogelu

Určení strukturního charakteru gelu je nedílnou součástí pochopení transportních vlastností gelů. Velikost pórů má vliv na rychlost difúze. Pokud jsou póry mnohem větší než molekuly difundující látky, je proces zpomalen jen v důsledku přítomnosti polymerní sítě. Avšak pokud se velikost molekul blíží velikosti pórů, zvýší se vliv interakcí difundující látky s pevnou fází gelů a dojde ke zpomalení transportu. Z literatury i z předchozích provedených experimentů vyplynulo, že při kontaktu s vodou se mohou výrazně měnit optické vlastnosti gelu (zakalování), což jednoznačně souvisí se změnou vnitřní struktury. Proto byla práce nejprve zaměřena na optimalizaci postupu, především z hlediska snahy o dosažení gelové struktury co nejméně kontaminované nezreagovanými komponentami. Důležité bylo vyzkoušet, jak se vymývací kroky projeví na změnách optických vlastností, které jsou projevem změny vnitřní struktury. První spočíval v samotném vlivu ethanolu na vymývání nezreagovaného monomeru z povrchu připraveného hydrogelu. Postup je zmíněn v kapitole 4.4.1. Z absorpčního spektra je patrné, že po dvou dnech je výsledek posunutí základní linie takřka stejný (obr. 9 a obr. 10). Po prvních 24 hodinách byl vidět rozdíl u vzorků, ve kterých se po 12 hodinách vyměnila voda, což je z logiky věci samozřejmé (viz přílohy). Pro následující experimenty ale bylo potřeba zjistit, jestli vymývání v jedné vodě po delší čas je dostačující či nikoli. Prokázalo se to jako vhodný postup. Během ponoření gelu do ethanolu byly patrné změny jeho strukturních vlastností, které byly proto následně zkoumány.



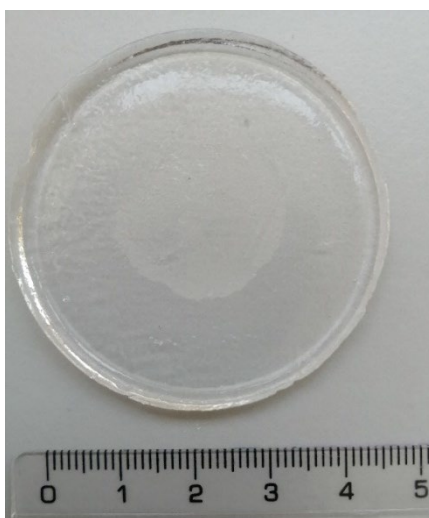
Obr. 9: Výsledná absorpční spektra poly-HEMA gelů s přidavkem PSS pro různé způsoby vymývání monomeru



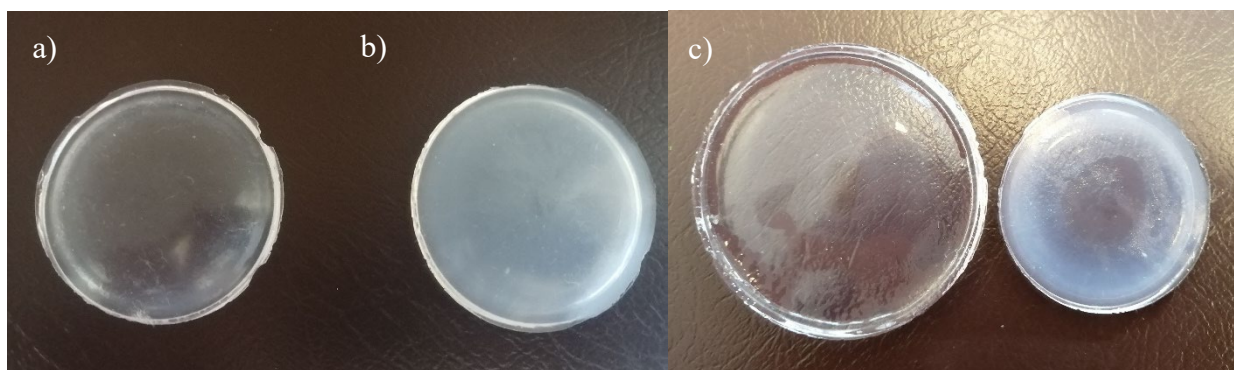
Obr. 10: Výsledná absorpční spektra čistých poly-HEMA gelů bez přidavku PSS pro různé způsoby vymývání monomeru

5.1.1 Botnání a sušení

Postup experimentů diskutovaných v této kapitole je uveden v kapitole 4.4.1. V první části byl zkoumán čistě vliv ethanolu na strukturu gelu v podobě změn hmotnosti, velikosti a optických vlastností (čirost vs. zákal gelu). Základní hodnoty výsledků jsou shrnuty v tabulce 3. Po prvním ponoření gelů do ethanolu došlo ve všech případech, tedy i u gelů s přídavkem PSS ke zvětšení jejich průměru a etanolem nabotnalý gel byl zcela transparentní. Což v surovém stavu gelu s přídavkem PSS tak není. Hmotnosti narostly až o 190 hm% a ke zvětšení průměru došlo ze 3,5 cm na 5 cm (obr. 11). Gely byly ovšem mnohem křehčí, manipulace s nimi musela být velmi opatrná, aby nedošlo k jejich nevratnému poškození (zlomení, přetrhnutí). Fotky a záznamy hmotností všech částí experimentu jsou shrnuty v přílohách 2, 3 a 4.



Obr. 11: Hydrogel s přídavkem PSS po 10 hodinách v ethanolu



Obr. 12: a) vzorek hydrogelu bez přídavku PSS po 24 hodinách ve vodě, b) vzorek hydrogelu s přídavkem PSS po 24 hodinách ve vodě; c) porovnání hydrogelu s PSS 24 h v ethanolu a 24 h ve vodě

Po ponoření gelu do vody začal ztrácet na svém objemu a u gelu s PSS se opět projevoval patrný zákal (obr. 12). Po 24 hodinách klesla hmotnost gelu, ovšem stále převyšovala hmotnost původního gelu v průměru o 15 hm%. Křehkost gelů se pomalu vytrácela, ale stále byla nutná opatrnost při manipulacích během měření jejich průměrů.

Došlo také ke zkoušce reverzibility tohoto děje. Čtyři gely byly opět ponořeny do ethanolu na 24 hodin (zbývající dva byly použity pro SEM). V tomto případě byl pozorován nárůst oproti původní váze gelu až o 200 hm%. Musí se ovšem zvážit i fakt, že počáteční hmotnost, ze které gel znovu botnal, byla vyšší oproti gelu ihned po jeho přípravě, čili nárůst hmotnosti je v obou krocích botnání v ethanolu srovnatelný. Dá se tedy konstatovat, že tento jev je reverzibilní. Opět nastalo zvětšení průměru a čirost ve všech případech. Jak se mění struktura v jednotlivých stavech gelu bude patrné na výsledcích SEM (viz kap. 5.1.2).

Tabulka 3: hodnoty hmotností po jednotlivých 24 hodinách experimentu a procentuální nárůst hmotnosti

vzorek	Hotový gel [g]	24 hod ethanol [g]	Nárůst hmotnosti [%]	24 hod ve vodě [g]	Nárůst hmotnosti [%]	24 hod ethanol [g]	Nárůst hmotnosti [%]
1	2,0872	3,9523	189,3	2,4720	118,4	4,3323	207,5
2	2,0827	3,8789	186,2	2,3079	110,8	×	×
3	2,1029	3,9280	186,7	2,3472	111,6	3,9962	190,0
PSS1	2,1141	4,1500	196,3	2,4430	115,5	4,4095	208,5
PSS2	2,1527	3,9949	185,5	2,5151	116,8	×	×
PSS3	2,1222	3,9695	187,0	2,4652	116,1	4,0975	193,0

Sušení a následné botnání bylo uskutečněno za několika podmínek. U prvního případu, kdy byl gel umístěn do sušárny hned po syntéze, se ukázalo, že obsah vody v hydrogelu byl přes 30 hm% u čistého hydrogelu a těsně pod 30 hm % u hydrogelu s PSS. Po umístění xerogelu do vody a botnání byl obsah vody u všech vzorků lehce přes 30 hm %. Další skupina vzorků byla před umístěním do sušárny ponechána 24 hodin v ethanolu. Zde se po vysušení obsah vody pohyboval v rozmezí od 30 do 40 hm %. U následného botnání se obsah vody pohyboval okolo 30 hm %. Poslední skupina vzorků byla též ponořena na 24 hodin do ethanolu, následně byla ovšem ještě umístěna na 24 hodin do vody. U těchto gelů byl obsah vody před vysušením přes 30 hm % a po botnání to bylo u čistých gelu cca 33 hm % a u gelů s PSS 36 hm %. Hodnoty naměřených hmotností hotových gelů, xerogelů a hydrogelů po nabotnání jsou uvedeny v tabulce 4. Z naměřených dat vyplývá, že na botnání xerogelu by ethanol žádný významný vliv mít neměl. Stále se hodnota pohybuje okolo 30 %, což na hydrogel je sice poměrně malé zastoupení, ovšem u hydrogelu poly-HEMA s vyšším obsahem vody dochází k zakalení (bělání), jak již bylo zmíněno v kapitole 2.2.3.

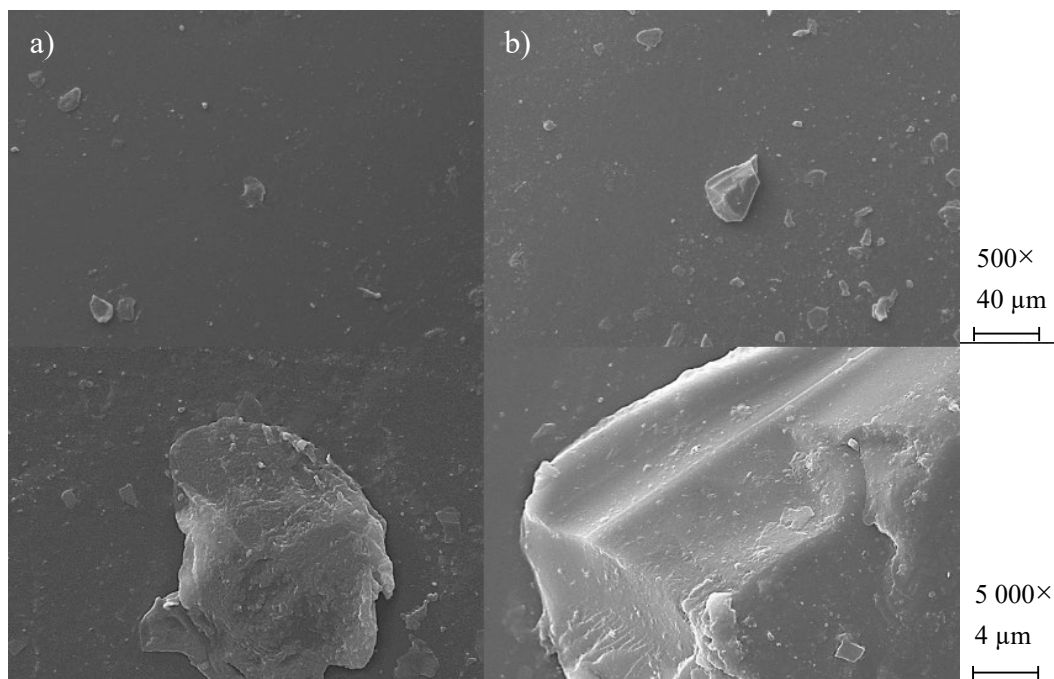
Tabulka 4: Hodnoty naměřených hmotností a procentuální zastoupení vody (A-čerstvě syntetizovaný gel, B-gel ponořený do ethanolu, C-gel ponořený do ethanolu a následně do vody; X-čistá poly-HEMA, P-poly-HEMA s PSS)

	Hotový gel [g]	Sušení [g]	Obsah vody [hm%]	Botnání [g]	Hmotnost původního [hm%]	Obsah vody [hm%]
A1X	1,9667	1,2803	34,90	1,9116	97,19	33,02
A2X	2,0914	1,3949	33,30	2,0125	96,22	30,68
A1P	1,9962	1,4006	29,83	2,0815	104,27	32,71
A1P	2,1144	1,5255	27,85	2,2931	108,45	33,47
B1X	2,2464	1,3453	40,11	1,8583	82,72	27,60
B2X	2,1295	1,3419	36,98	1,9467	91,41	31,06
B1P	2,0512	1,4258	30,48	2,0480	99,84	30,38
B2P	2,1407	1,4551	32,02	2,0879	97,53	30,30
C1X	2,2466	1,5420	31,36	2,2989	102,32	32,92
C2X	2,1092	1,4100	33,15	2,1462	101,75	34,30
C1P	2,1000	1,3846	34,06	2,1703	103,34	36,20
C2P	2,1936	1,4682	33,06	2,2950	104,62	36,02

5.1.2 Skenovací elektronová mikroskopie

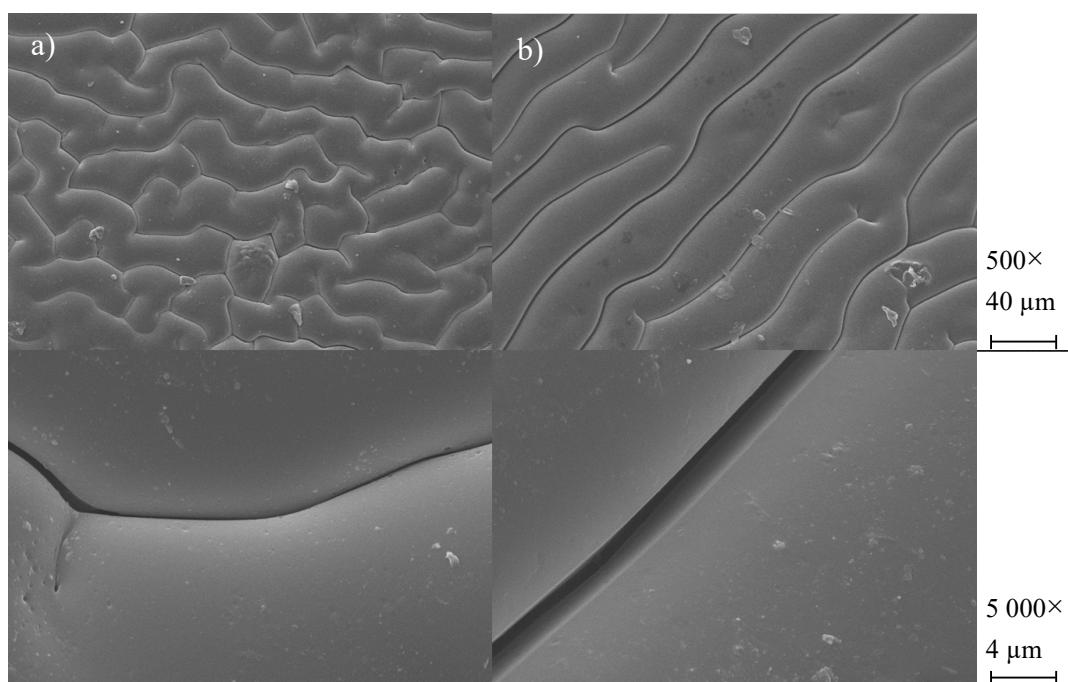
Ve snaze zjistit změnu vnitřní struktury gelů během ponoření do ethanolu byly vzorky gelů morfologicky charakterizovány metodou SEM. Výsledky ukázaly, že v tomto případě hydrogelu, který obsahuje jen zhruba 30 hm% vody je jedno, jestli bude na jeho zmrazení použit tekutý dusík nebo budou vzorky pouze umístěny do mrazáku. Během mrazení tekutým dusíkem došlo k roztržení vzorků na menší kusy, v mrazáku zůstal celý gel v jednom kuse. Taktéž tato skutečnost neměla žádný vliv na pozorovanou morfologii. Poté byli vzorky umístěny do lyofilizátoru, kde došlo k odstranění veškeré zmrzlé vody.

Při porovnání vzorků tedy není třeba rozlišovat mezi metodou mražení (rozdíl oproti makroporézním gelům, u nichž je mražení v mrazáku obvykle spojeno s výrazným ovlivněním až kolapsem vnitřní struktury). Analýza byla provedena u celkem šesti vzorků. Tři s přídavkem polyelektrolytu a tři bez něj. U první dvojice gelů došlo k zmrazení ihned po syntéze gelu. Je patrné, že struktura gelů je hladká. Žádné póry zde nejsou zřetelné. Občasné shluky mohou naznačovat nějaké polymery nezabudované do struktury (oligomery), které i přes krátké promytí zůstaly na povrchu gelu, kde samy vytvořily jakousi strukturní síť (obr. 13). Vše nasvědčuje tomu (obsah vody i povrch), že se jedná o mikroporézní, nebo dokonce až neporézní druh HEMA hydrogelu.



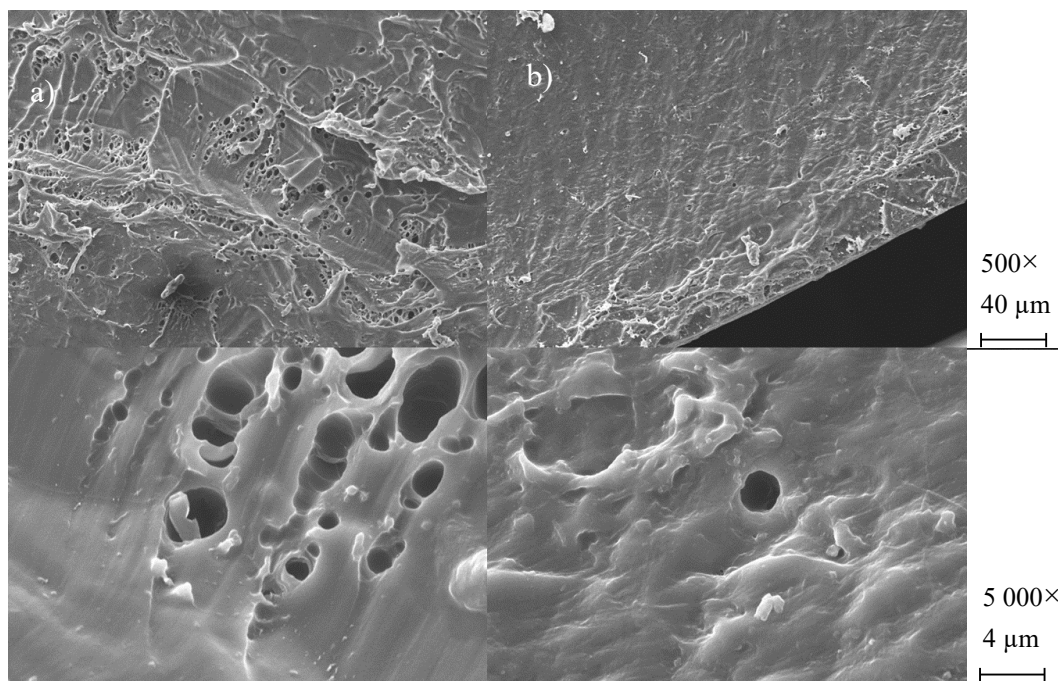
Obr. 13: poly-HEMA gely zmrazeny hned po syntéze a) čistý, b) s přidavkem PSS

Další dvojice vzorků byla před zmrazením umístěna na 24 hodin do ethanolu. Během této doby, jak již bylo zmíněno, dochází k botnání vzorku především v horizontálním směru. Pod mikroskopem se tato skutečnost projevila zvrásněním povrchu jak u čistého gelu, tak i u gelu s přidavkem polyelektrolytu. Zvrásnění u čistého gelu by se dalo označit za více členité, u PSS jsou vrásky preferenčně orientovány v jednom směru. Při přiblížení 5 000× by se dalo říci, že mezi jednotlivými částmi jsou až malé prasklinky. Více viditelné jsou u vzorku s PSS (obr. 14). Při oddáleném pohledu jsou zde ke spatření i již zmíněné shluky, které se nacházely u první dvojice.



Obr. 14: Poly-HEMA gely zmrazeny po 24 hodinách v ethanolu a) čistý, b) s přidavkem PSS

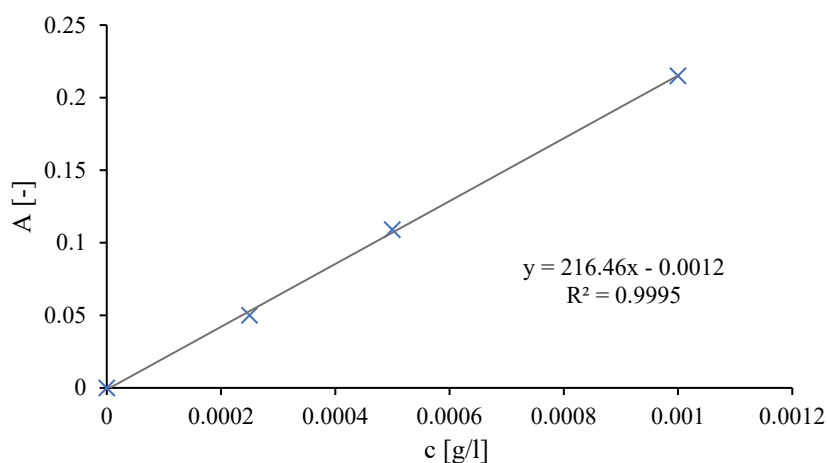
Třetí a zároveň poslední dvojicí pro analýzu byly vzorky, které byly před zmrazením 24 hodin v ethanolu, následně 24 hodin ve vodě. U těchto vzorků jsou patrné občasné póry až díry. U čistého gelu byl tento úkaz k vidění po celém povrchu gelu, u přídavku PSS se to týkalo spíše jen okrajových částí vzorku. Jako jedna z možných příčin se nabízí smršťování objemu gelu, kde z předchozích prasklin vznikly tyto póry. Další možností může být to, že během vymývání ethanol s sebou vytrhl ze struktury některé části sítě. Při vyšším zaostření je zjevné, že pór proniká až hluboko do struktury gelu. Povrch mimo tyto póry již také není úplně hladký, což naznačuje, že se zvrásnění úplně nevyhladilo.



Obr. 15: Poly-HEMA gely zmrazeny po 24 hod v ethanolu a následných 24 hod ve vodě
a) čistý, b) přídavek PSS

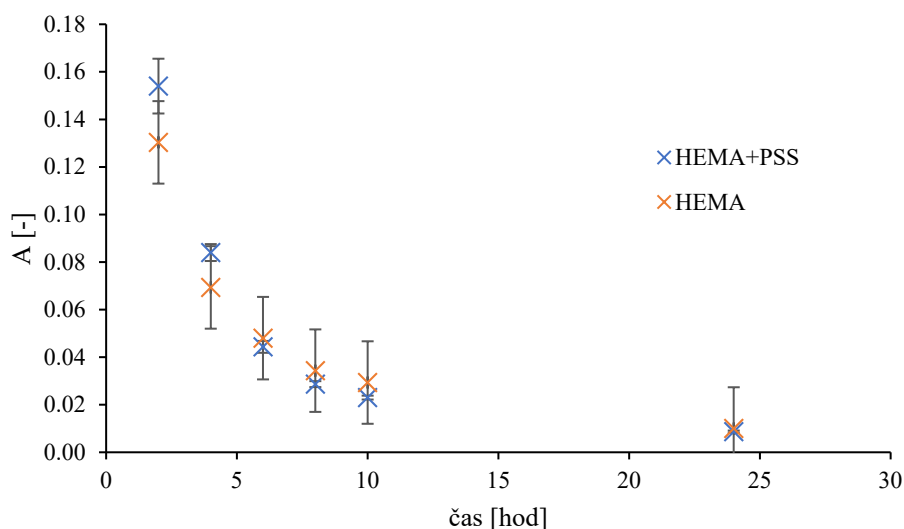
5.2 Transportní vlastnosti hydrogelu

Transportní vlastnosti hydrogelu byly zkoumány pomocí difúzních experimentů, které byly prováděny postupem popsáním v kapitole 4.6. Snahou bylo zjistit, jaký vliv bude mít přidavek PSS na tyto vlastnosti neboli jaký bude rozdíl mezi interpenetrovanou a semi-interpenetrovanou polymerní sítí. Na začátku byly připraveny roztoky rhodaminu o třech různých koncentracích, 0,00025 g/l, 0,0005 g/l a 0,001 g/l, které sloužily k sestrojení kalibrační přímky pro výpočet koncentrace difundovaného barviva. Byla u nich změřena absorbance při 526 nm, ze které byla křivka sestrojena (obr. 16).



Obr. 16: Kalibrační přímka absorbance roztoku rhodaminu při 526 nm

Během prvního experimentu byla sledována absorpce barviva do vnitřní struktury gelu. Po ponoření gelu do roztoku rhodaminu byla každému vzorku pomocí spektrofotometru změřena absorbance v jednotlivých časech. Z naměřených spekter byla odečtena hodnota absorbance pro jednotlivé vzorky při vlnové délce 526 nm. Z přiloženého grafu (obr. 17), na kterém jsou zobrazeny průměrné hodnoty absorbance v čase pro vzorky s nejvyšší koncentrací rhodaminu, je patrné, že polyelektrolyt PSS díky svému náboji má větší schopnost absorbovat do struktury

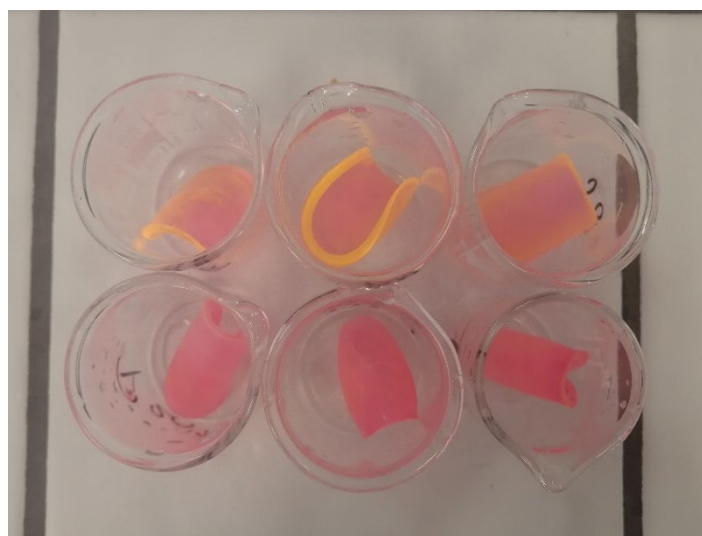


Obr. 17: Graf závislosti absorbance na čase experimentu

gelu roztok barviva. Mezi ním a barvivem probíhají na základě jejich opačného náboje elektrostatické interakce. Z počátku je tendence difúze opačná, to může být způsobeno tím, že přídavek polyelektrolytu snížil počet dostupných difúzních trajektorií pro barvivo, a je tedy pro něj obtížnější si toto místo najít. Došlo k vytvoření hustší sítě vnitřní struktury. Konečná hodnota absorbance je velmi podobná u obou případů. Čistý gel měl výslednou koncentraci roztoku barviva $5,17 \cdot 10^{-5}$ g/l a roztok u gelu s přídavkem PSS měl koncentraci $4,56 \cdot 10^{-5}$ g/l. Výsledek je způsoben celkovou koncentrací rhodaminu, jež byla na začátku zvolena. Po 24 hodinách, kdy experiment probíhal, difundovalo téměř veškeré množství barviva do gelu. Dalo by se tedy říci, že došlo k ustavení rovnováhy v systému. Hodnoty koncentrací pro všech 18 vzorků jsou zaznamenány v tabulce 5. Je zde vidět, že výše zmíněná tendence panuje u všech zvolených roztoků rhodaminu. Na obr. 18 je sada vzorků s nejvyšší počáteční koncentrací po 24 hodinách ve vodě, kde je možné se vizuálně přesvědčit, že do gelů difundovalo barvivo.

Tabulka 5: Koncentrace roztoku barviva rhodamin v jednotlivých časech (X – čistý, PSS – přídavek)

t [hod]	Rhodamin 0,00025 g/l		Rhodamin 0,0005 g/l		Rhodamin 0,001 g/l	
	X	PSS	X	PSS	X	PSS
	c [µg/l]	c [µg/l]	c [µg/l]	c [µg/l]	c [µg/l]	c [µg/l]
2	1,688	1,796	3,335	4,167	6,076	7,171
4	1,072	1,133	1,749	2,319	3,258	3,936
6	0,656	0,671	1,117	1,179	2,272	2,104
8	0,394	0,394	0,779	0,733	1,641	1,379
10	0,394	0,394	0,687	0,609	1,411	1,118
24	0,194	0,209	0,240	0,179	0,517	0,456



Obr. 18: Sada vzorků s nejvyšší koncentrací rhodaminu

V pořadí druhém experimentu byl naopak kladen důraz na zpětnou difúzi z gelu do okolního prostředí. Po 24 hodinách, kdy byly gely ponořeny do roztoku barviva, z něj byly vyjmuty, opláchnuty a uloženy do deionizované vody. Zde je více zjevné, že hydrogel s PSS dokáže navázat více barviva. Tentokrát totiž byla použita 100× větší koncentrace rhodaminu než u experimentu předchozího. Hodnoty koncentrace roztoku rhodaminu po 24 hodinách absorpce barviva gelem jsou zaznamenány v tabulce 6.

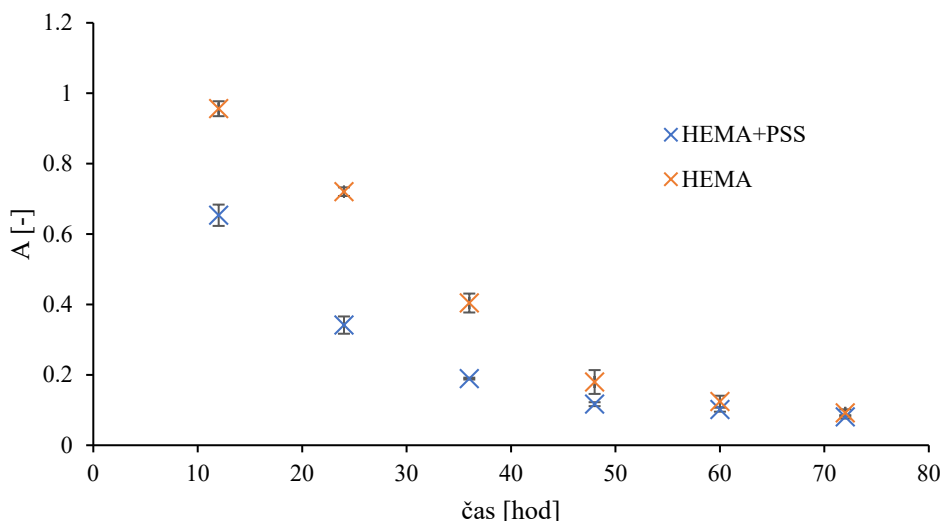
Tabulka 6: Koncentrace roztoků rhodaminu po 24 hodinách (X-čistá HEMA; PSS-přídavek PSS)

	Rhodamin 0,025 g/l		Rhodamin 0,05 g/l		Rhodamin 0,1 g/l	
	X	PSS	X	PSS	X	PSS
t [hod]	c [mg/l]	c [mg/l]	c [mg/l]	c [mg/l]	c [mg/l]	c [mg/l]
24	2,809	1,847	7,235	5,908	13,743	12,716

Naměřená spektra absorpční během následného umístění gelu do vody naznačují, že dochází k resorpci barviva. Nejprve nastane uvolnění rhodaminu do vnějšího prostředí gelu, ale v určitý okamžik začíná gel resorbovat barvivo zpět do své struktury. Měření probíhalo po 12 hodinách a nejvyšší koncentraci barviva dosahovalo vnější prostředí právě při prvním měření, což je viditelné na obr. 19, který znázorňuje závislost absorbance na čase pro nejvyšší vstupní koncentraci rhodaminu a poté také v tabulce 7, kde jsou uvedeny průměrné koncentrace barviva pro vzorky. Resorpci mohlo způsobit to, že rhodamin uvolněný v prvních 12 hodinách nebyl absorbován ve vnitřní struktuře gelu, ale spíše adsorbován na jeho povrchu. Proto došlo k tak náhlému uvolnění do vody. Následně mohl gel začít bobtnat, zvětšovat svůj objem a přijímat vodu s již vyplaveným rhodaminem. Tuto skutečnost ovšem vyvrátilo vážení vzorků během celého experimentu. Jejich hmotnost se nezvyšovala, naopak trochu klesala, ale jen v rádech promile, což je zanedbatelná hodnota a dá se to spíše přičíst špatně osušenému vzorku nebo chybě v měření. Všechny záznamy hmotností jsou uvedeny v přílohách. Další důležitý ukazatel, který nám toto měření dalo je fakt, že PSS do sebe nejenom nabere více barviva, ale také díky svému náboji s ním patřičně interaguje a ve struktuře gelu ho více udrží. Koncentrace rhodaminu je tedy po celou dobu této části experimentu nižší u vzorků hydrogelů s PSS. Tato skutečnost je opět zřetelná na obr. 19.

Tabulka 7: Koncentrace rhodaminu ve vodě během 72 hodin (X-čistá HEMA; PSS-přídavek PSS)

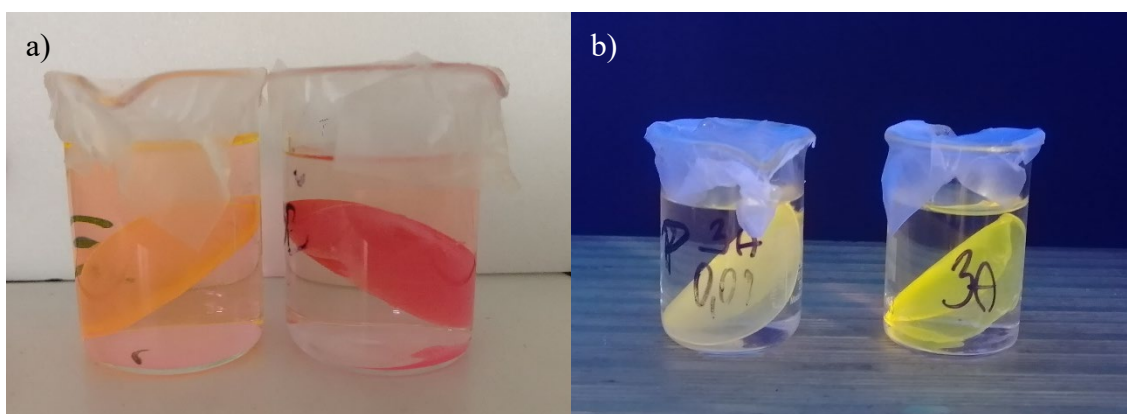
	Rhodamin 0,025 g/l		Rhodamin 0,05 g/l		Rhodamin 0,1 g/l	
	X	PSS	X	PSS	X	PSS
t [hod]	c [µg/l]		c [µg/l]		c [µg/l]	
12	9,434	6,261	19,258	12,559	44,221	30,238
24	4,937	3,705	11,620	6,970	33,333	15,824
36	2,566	2,904	5,430	4,213	18,719	8,802
48	1,811	2,088	3,459	3,305	8,356	5,445
60	1,826	1,996	2,612	2,859	5,784	4,737
72	1,765	1,749	2,134	2,412	4,306	3,782



Obr. 19: Graf závislosti průměrné absorpance na který ilustruje uvolnění a zpětnou resorpci barviva gelem poly-HEMA a poly-HEMA s přídatkem PSS pro počáteční nevyšší koncentraci barviva

V rámci snahy více porozumět, co se odehrává ve struktuře gelu během resorpce, byly gely podrobeny také měření na spektrofotometru s integrační koulí. Výsledná spektra ovšem neměla očekávaný tvar. Z počátku píky směřovaly směrem dolů, ale tvar spektra vypadal v pořádku. To bylo nejspíše způsobeno nedostatečným odrazem procházejících paprsků od gelu. Tato chyba byla odstraněna malým zrcátkem, na které se gel umístil. Směr píky byl již v pořádku, ovšem tvar spektra neodpovídal předpokladům. Je možné, že po průchodu paprsku gelem, byla jeho trajektorie odrazem natolik změněna, že nedopadl správně na detektor.

Proto byly vzorky nakonec měřeny na spektrofotometru od firmy Datacolor, který se používá pro kolorimetrické analýzy pevných vzorků. Již pouhým okem je patrný rozdíl mezi čistým gelem a gelem s přídatkem PSS. Díky polyelektrolytu PSS dochází ke zhášení fluorescence a vzorky jsou zřetelně tmavší barvy (obr. 20). Ve fluorescenční komoře (expozice UVA záření) to bylo patrnější.

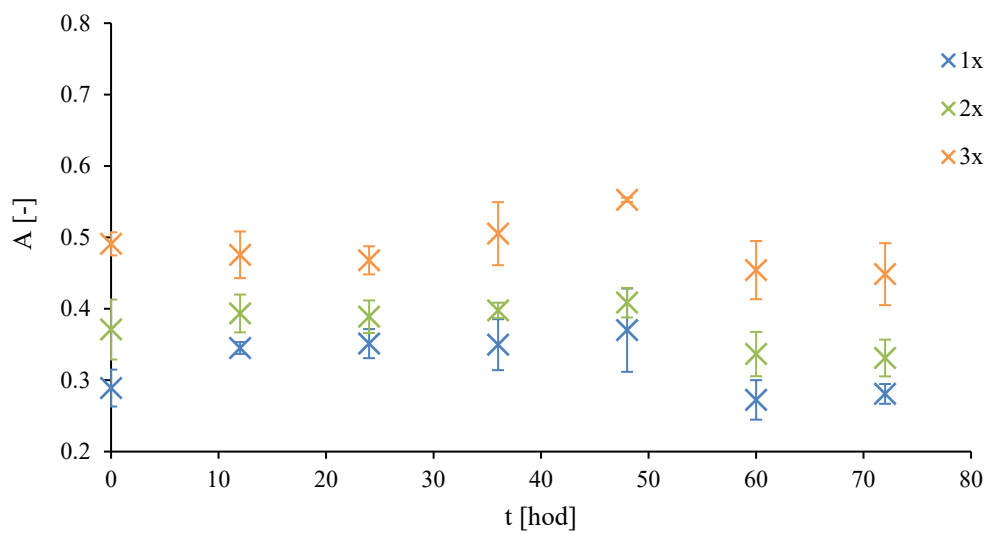


Obr. 20: Vzorky bez a s přídatkem PSS, a) denní světlo (1. X;2. PSS), b) fluorescenční komora (1. PSS, 2. X)

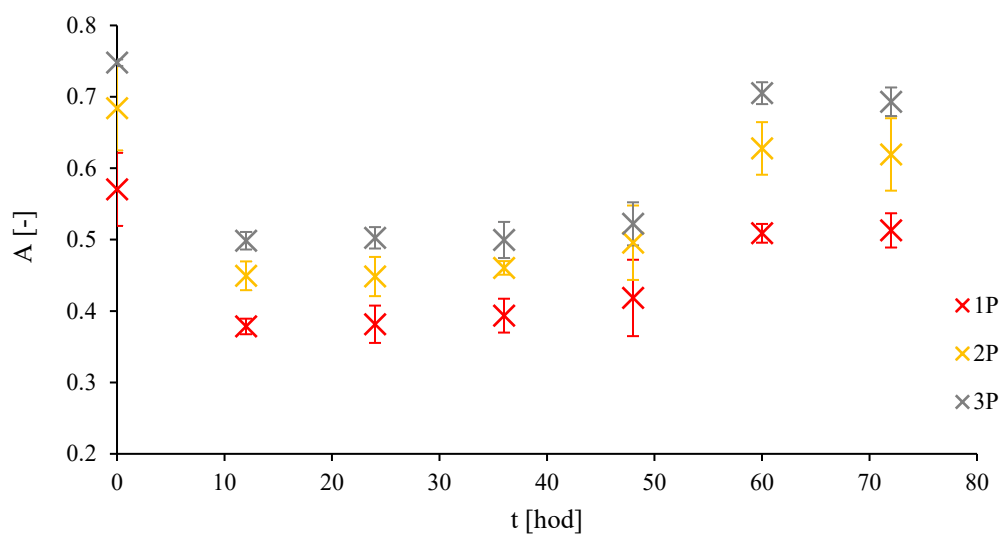
Vzorky měřené na spektrometru datacolor byly podrobeny analýze ve fázi ponoření do vody, každých 12 hodin, tak jako byla měřena absorbance samotných roztoků. Vzorky byly umístěny na bílou kachličku (obr. 21) a byla jim změřena reflektance. Při úvaze, že veškeré paprsky byly odraženy zpět, mohlo dojít k jednoduchému přepočtu reflektance na absorbanci dle následujícího vztahu $A = -\log(R/100)$. Při vykreslení spektra bylo zřetelné, že maximální hodnoty absorbance v píku přesahovaly limitní hodnoty, které je přístroj schopný naměřit. Barvivo rhodamin má ve svém spektru přítomny dva charakteristické píky. Jeden hlavní, se kterým bylo pracováno během všech spektrofotometrických experimentů, a to při vlnové délce 526 nm. Druhý se vyskytuje při vlnové délce 350 nm. S tímto píkem se během ostatních experimentů nepracovalo hlavně i z toho důvodu, že k měření byly použity plastové kyvety, které nejsou schopné propustit UV záření, které začíná od 400 nm. V tomto případě bylo však pracováno s píkem druhým. Konečná hodnota absorbance byla stanovena odečtením nejnižší hodnoty absorbance, která byla naměřena. Porovnáním spekter pro vzorky čisté HEMA a s přídavkem PSS zjistíme, že dochází k nepatrnému rozšíření hlavního absorpčního píku. Tato situace nastala pravděpodobně v důsledku nedostatečné detekce (intenzita absorpce se v hlavním absorpčním píku zvyšuje, což již spektrometr není schopen detekovat, tím roste i šířka pásu). Poté je zřejmé, že výška základní linie spektra i výška druhého píku se liší. To je na základě barevnosti pochopitelné. Vybraná spektra jsou k nahlédnutí v přílohách. K sestavení kalibrační křivky v tomto případě nedošlo. Proto jsou vzorky porovnávány na základě absorbance. Pro vybrané účely této práce však dostačující. Na obr. 22 a obr. 23 jsou zobrazeny závislosti absorbance na čase pro čistý gel a gel s polyelektrolytem. V přílohách je také tabulka, kde jsou zaznamenány hodnoty absorbance všech vzorků po celý čas experimentu. Je patrné, že vzorky s PSS mají větší hodnotu absorbance než gely bez něj, což značí větší zabarvení vzorku. Průběh v čase je v porovnání vzorků odlišný. U čistých gelů absorbance na závěr klesá, kdežto u gelů s přídavkem PSS ke konci experimentu absorbance roste. Klíčový vliv zde měl přítomný polyelektrolyt, který z důvodů elektrostatické vazby rhodaminu způsobuje již zmíněné zhášení fluorescence. Tato skutečnost prokázala, že ve vytvořené semi-IPN síti dochází k interakcím mezi polyelektrolytem a aktivní látkou, která byla do systému difundována. Tato skutečnost byla důležitá pro gelovou matici, která byla v této práci navržena. Byl naplněn hlavní motiv pro uskutečnění těchto experimentů.



Obr. 21 Vzorky pro měření na datacoloru umístěné na měřicí podložní kachličce



Obr. 22: Graf závislosti absorpance na čase pro čisté gely

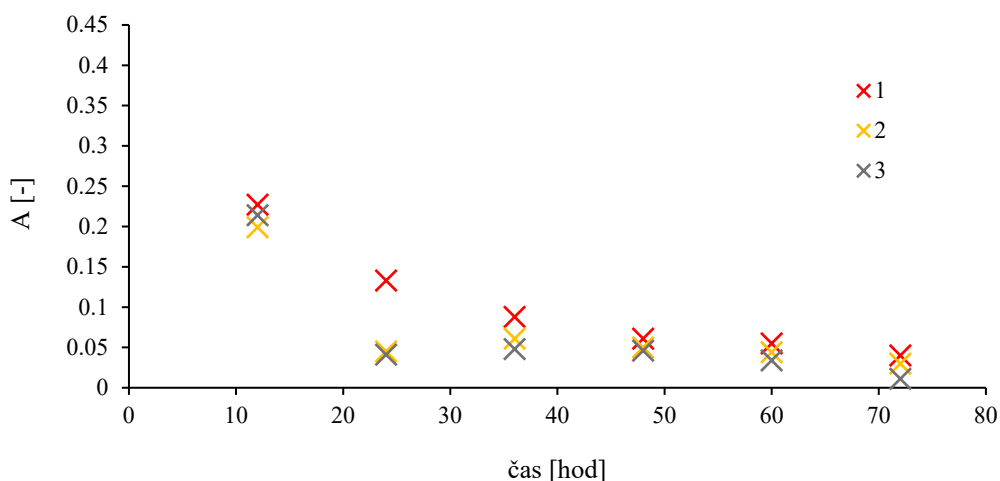


Obr. 23: Graf závislosti absorpance na čase pro gely s přídavkem PSS

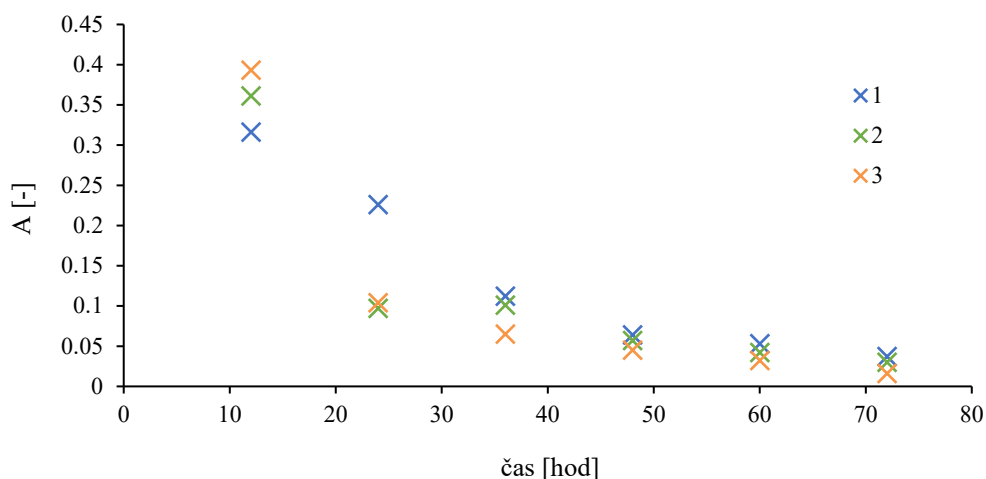
Pro určení přesného času, kdy dochází k resorpci barviva byla použita sonda s optickým vláknem a detektorem, která měřila absorbanci roztoku automaticky po 5 minutách. Z naměřených dat je evidentní, že k bodu zlomu přichází u čistých gelů okolo 6 hodin a 55 minut, u hydrogelů s PSS je to 8 hodin a 15 minut. Díky tomu bylo u dalšího experimentu postupováno dle kapitoly 4.6. Výsledky ukázaly, že po výměně vody po každých 12 hodinách dochází neustále k difúzi rhodaminu z gelu do vnějšího prostředí. U vzorků, kde došlo k výměně vody jen při prvních 12 hodinách, byl předpoklad, že ke zpětné difúzi již nedojde. Ale skutečnost byla opačná. Na začátku po výměně vody byla patrná difúze barviva do vnějšího prostředí po dobu následujících 24 hodin. Poté se však opět projevila resorpce barviva a jeho koncentrace začala klesat. Situace naznačuje, že může docházet ke změnám uskupení a navázání polymerních řetězců v důsledku difúze rhodaminu. Všechny hodnoty koncentrací jsou uvedeny v tabulce 8. Na obr. 24 a obr. 25 jsou vybrány vzorové grafy závislosti absorbance na čase pro střední koncentraci vstupního roztoku rhodaminu jak pro čistý gel, tak gel s přídavkem PSS. V přílohách jsou záznamy hmotností jednotlivých vzorků v časových intervalech.

Tabulka 8: Hodnoty koncentrace vzorků (1 - celou dobu stejná voda; 2 - jednou vyměněná; 3 - každých 12 hodin vyměněná)

Počáteční c [g/l]	t [hod]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [µg/l]			c [µg/l]		
0,025	12	947,9	680,0	772,4	449,0	453,6	430,5
	24	716,9	185,7	199,5	425,9	284,0	107,1
	36	305,8	213,4	204,1	296,5	236,5	204,1
	48	259,6	153,3	125,6	222,6	199,5	107,1
	60	250,3	125,6	116,4	199,5	176,4	88,7
	72	245,7	121,0	47,1	176,4	116,4	33,2
0,05	12	1 465,3	1 673,2	1 821,1	1 054,2	924,8	994,1
	24	1 049,6	453,6	486,0	619,9	213,4	194,9
	36	522,9	472,1	305,8	412,0	287,3	227,2
	48	301,2	268,8	213,4	287,3	236,5	218,5
	60	251,3	199,5	153,3	259,6	208,8	162,6
	72	176,4	144,1	79,4	190,3	144,1	56,3
0,1	12	3 987,8	4 740,8	3 927,7	3 350,2	2 980,6	3 054,6
	24	3 179,3	656,9	740,0	1 834,9	633,8	527,5
	36	1 839,6	606,1	495,2	1 044,9	624,5	416,7
	48	883,3	398,2	282,7	564,5	393,6	213,4
	60	509,1	282,7	227,2	430,5	310,4	236,5
	72	319,6	218,0	121,0	338,1	208,8	102,5



Obr. 25: : Graf závislosti absorbance na čase pro vzorky s přidavkem PSS (1 - celou dobu stejná voda; 2 - jednou vyměněná; 3 - každých 12 hodin vyměněná)



Obr. 24: Graf závislosti absorbance na čase pro vzorky čisté poly-HEMA (1 - celou dobu stejná voda; 2 - jednou vyměněná; 3 - každých 12 hodin vyměněná)

Ve snaze zabránit resorpci transportované látky byly připraveny gely přímo s rhodaminem ve své struktuře. Jejich příprava probíhala jako v podkapitole 4.3, pouze k polymernímu řetězci bylo přidáno takové množství rhodaminu, že jeho výsledná koncentrace činila 0,1 g/l. Čili nejvyšší vstupní koncentrace roztoku barviva, se kterým se při difúzních experimentech pracovalo. Gely musely být ponechány syntetizovat po dobu 45 minut místo 30. Po této době měly totiž gely konzistenci spíše lepkavého slizu. Možné vysvětlení je to, že rhodamin vstupuje do polymerizační reakce, a to tím způsobem, že tvoří vazby s volnými radikály, nebo že pro svou fluorescenci si ubírá UV záření. U gelu muselo dojít až ke zvrášení povrchu (obr. 26), aby udržel svůj tvar. I tak byl více tvárný a tendence stáčet se byla obrovská. Také barevné rozlišení gelů na základě přidavku polyelektrolytu bylo zjevné ihned po syntéze.

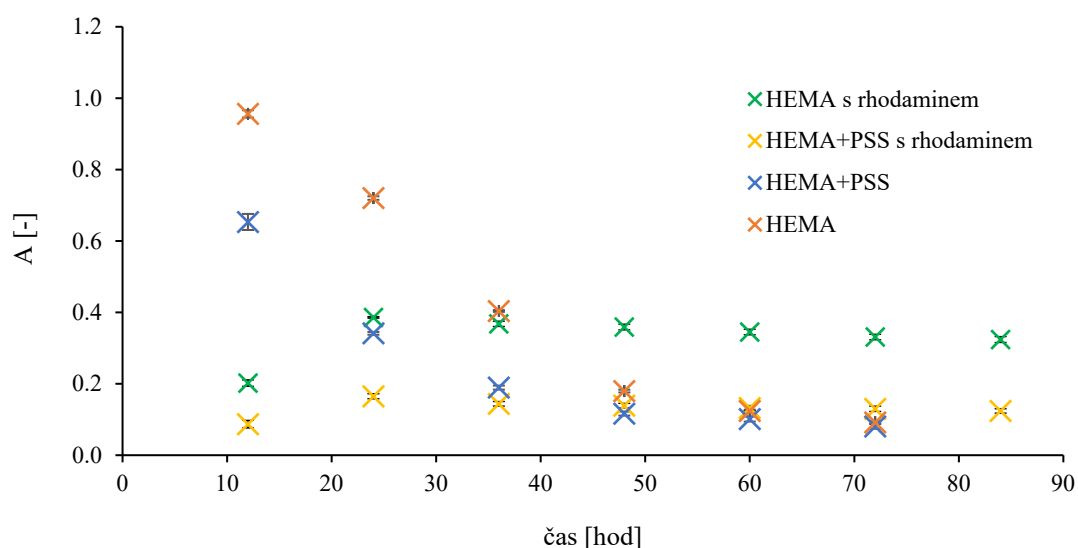
U takto připravených gelů se opět projevil vliv polyelektrolytu, který udržel v hydrogelu více barviva než hydrogel bez něj. Během prvních 24 hodin docházelo k difúzi z gelu do vnějšího prostředí. Po této době však hodnoty absorbance, a tedy i koncentrace barviva, začaly klesat. Ve srovnání nedosáhla koncentrace difundovaného barviva takového maxima

jako u předchozích experimentů se stejnou počáteční koncentrací barviva. Ovšem ve výsledku zůstalo ve vnějším prostředí více barviva u vzorků připravených přímo s rhodaminem. Respektive pokles od maximální koncentrace byl daleko menší. Vliv zde mohlo hrát počáteční vymývání nezreagovaného monomeru. To samozřejmě chybělo v přípravě těchto vzorků, protože už by zde došlo k difúzi barviva. Po 24 hodinách mohl být monomer vymytý a gel mohl začít botnat. To by vysvětlovalo menší pokles koncentrace rhodaminu v roztoku. Vzorky byly po celou dobu i váženy. Jejich hmotnosti tuto domněnku bohužel nepodporují. Hmotnosti byly po celou dobu konstantní s malou odchylkou v řádu promile (viz přílohy). Dále je možnost, že mohlo dojít k vymytí monomeru, který byl částečně již navázán, ale vazba nebyla dostatečně silná. Rhodamin mohl toto prázdné místo zaplnit. Proto jeho pokles koncentrace v roztoku.

Vše je patrné na obr. 27, který znázorňuje graf absorbance jak vzorků připravených s rhodaminem, tak vzorků, do kterých barvivo nejdříve difundovalo. Hodnoty koncentrací pro všechny vzorky s barvivem jsou uvedeny v tabulce 9.



Obr. 27: Vzorky syntetizovány přímo s barvivem rhodamin



Obr. 26: Graf závislosti absorbance na čase pro vzorky připravené s rhodaminem a bez něj

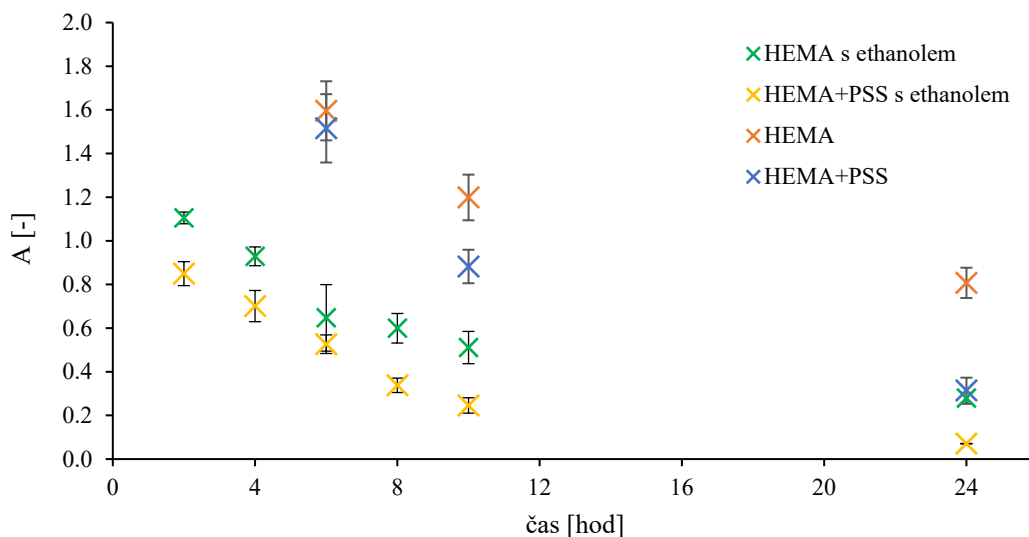
Tabulka 9: Hodnoty koncentrace rhodaminu pro vzorky syntetizované přímo s barvivem

Počáteční c [g/l]	t [hod]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [µg/l]			c [µg/l]		
0,1	12	319,6	264,2	365,8	102,5	107,1	208,8
	24	610,7	587,6	601,4	213,4	282,7	282,7
	36	555,3	541,4	619,9	185,7	250,3	245,7
	48	536,8	527,5	610,7	181,1	227,2	250,3
	60	518,3	504,4	587,6	171,8	204,1	250,3
	72	499,8	481,3	564,5	167,2	199,5	250,3
	84	495,2	462,9	555,2	162,6	194,9	231,9

V pořadí posledním experimentu pro charakterizaci transportních vlastností byl zkoumán vliv ethanolu na difúzní charakteristiky gelů. Vzorky byly tedy nejprve ponořeny na 24 hodin do ethanolu, následně do vody, aby došlo k dokonalému promytí, a až poté do roztoku barviva o koncentracích 0,0025; 0,005 a 0,01 g/l. Koncentrace byly voleny v souladu s experimenty, při nichž byla studována difúze barviva do gelů. Při vyšší koncentraci již byla absorbance neměřitelná. Odebrané množství roztoku barviva by se muselo ředit, nemohlo by se tedy vrátit zpět, a tím by docházelo ke zmenšení objemu roztoku barviva, ve kterém byl gel ponořen. Pro porovnání byl experiment proveden se stejnou koncentrací rhodaminu i u vzorků bez ponoření do ethanolu. Z naměřených spekter, odečtených hodnot absorbancí a vypočtených koncentrací je patrné, že gely nabotnalé ethanolem při difúzi barviva do vnitřní struktury absorbovaly daleko více rhodaminu než vzorky nabotnalé vodou. U vzorků čistých poly-HEMA gelů to byl u nejvyšší koncentrace roztoku barviva až trojnásobek absorbance a u hydrogelu s PSS dokonce až čtyřnásobek. Jedním z možných vysvětlení je, že vyšší absorpční kapacita je způsobena póry, které byly patrné v kapitole 4.4.3, kde se ukázalo, že k jejich tvorbě dochází právě během práce s ethanolem. Díky nim mělo barvivo daleko snazší trajektorii difúze. Hodnoty koncentrací pro všechny vzorky jsou shrnuty v přílohách. V tabulce 10 jsou shrnuty průměrné hodnoty koncentrací po prvních 24 hodinách. Závislost absorbance na čase je znázorněna na obr. 28.

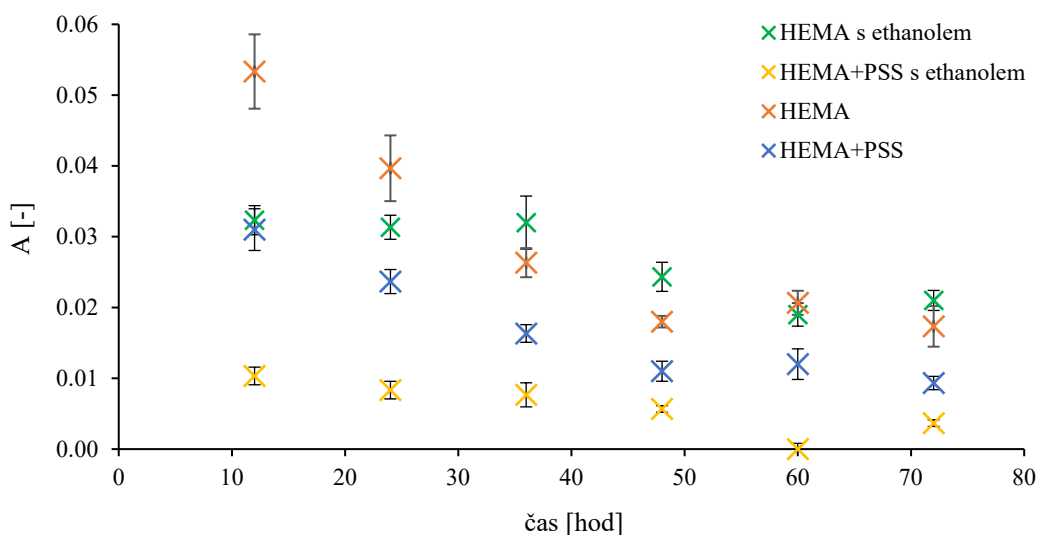
Tabulka 10: Hodnoty koncentrací rhodaminu po prvních 24 hodinách

		Rhodamin 0,0025 g/l		Rhodamin 0,005 g/l		Rhodamin 0,01 g/l	
		X	PSS	X	PSS	X	PSS
	t [hod]	c [mg/l]		c [mg/l]		c [mg/l]	
S ethanolem	2	1,131	0,962	1,802	1,687	5,118	3,937
	4	0,730	0,638	1,242	1,122	4,304	3,249
	6	0,514	0,451	1,008	0,788	2,999	2,441
	8	0,283	0,208	0,658	0,428	2,778	1,569
	10	0,228	0,144	0,502	0,308	2,370	1,142
	24	0,047	0,009	0,161	0,027	1,296	0,333
Bez ethanolu	6	1,727	1,820	3,421	3,272	7,377	7,006
	10	0,888	0,606	1,801	1,214	5,543	4,082
	24	0,423	0,204	0,957	0,387	3,735	1,458



Obr. 28: Graf závislosti průměrné absorpance na čase během 24 hodin

Poté následovalo ponoření vzorků s nasorbovaným barvivem do vody. I v tomto případě se u vzorků, které byly původně botnány v ethanolu, projevila po určité době resorpce. Po dobu 36 hodin se hodnota absorpance držela zhruba na stejné hodnotě. Poté je ale patrné, že barvivo začalo opět difundovat do vnitřní struktury gelu. Po prvních 12 hodinách je zřetelný rapidní rozdíl mezi gely, ty s ethanolem zadržují barvivo daleko více než gely bez kroku přípravy s ethanolem. U výsledné koncentrace barviva již tak patrný rozdíl není. Dokonce se v případě čistého gelu stalo to, že gel s ethanolem vykazuje vyšší finální koncentraci barviva v roztoku. Je tedy pravděpodobné, že výše zmíněný vyšší obsah makropórů v gelech mají opravdu vliv na difúzi do vnitřní struktury gelu. U difúze do vnějšího prostředí mohlo hrát roli právě to, že barvivo se dostalo hlouběji do struktury polymerní sítě, proto se ho tolik nedostalo ven.

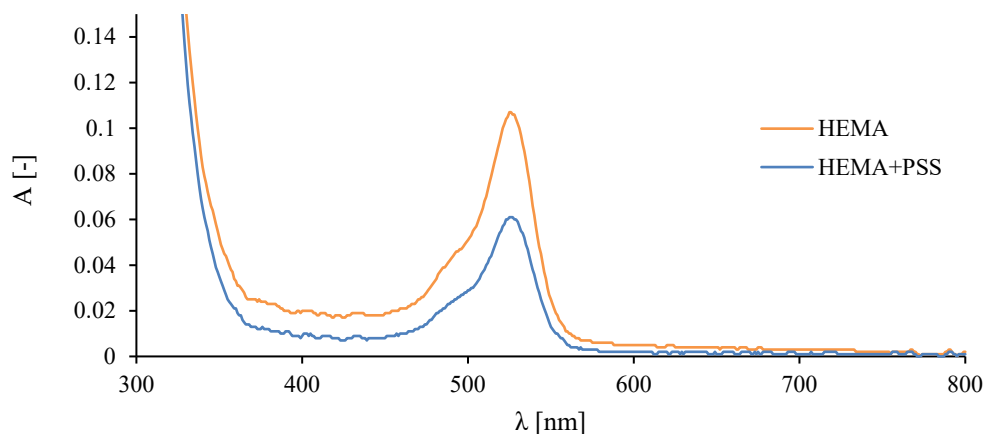


Obr. 29: Graf závislosti absorpance na čase po dobu 72 hodin

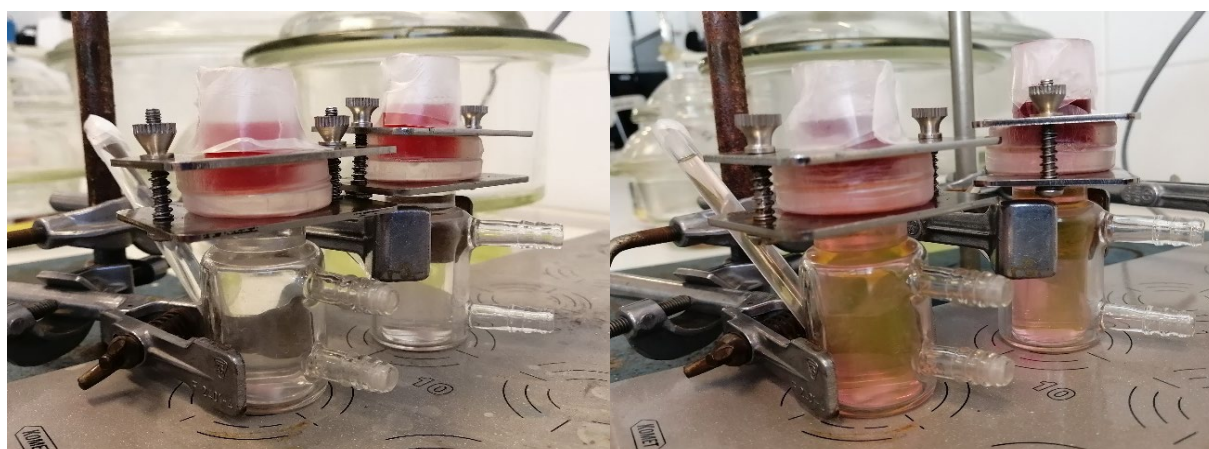
5.3 Bariérové vlastnosti hydrogelu

Bariérové vlastnosti tohoto hydrogelu byly zkoumány pomocí difúzních cel, kdy v donorové komoře byl přítomný roztok barviva rhodaminu a v komoře přijímací byla čistá deionizovaná voda. Přesný popis je uveden v kapitole 4.6.1.

Nejprve byly experimenty prováděny s Franzovými, tj. vertikálními, difúzními celami (obr. 30). Výsledky ukázaly, že průchod gelem trvá daleko déle, než bylo očekáváno. Ovšem z dřívějších experimentů je zjevné, že hydrogel má obsah vody okolo 30 hm% a se snižujícím se obsahem vody v hydrogelu klesá volný objem gelu dostupný pro difúzní transport, roste křivolakost difúzní trajektorie a tím i čas, nezbytný k penetraci barviva membránou do přijímacího roztoku. První nenulová absorbance v charakteristickém spektrálním regionu tak byla zaznamenána až dvanáctý den. K odběru vzorku byly použity injekční stříkačky s dlouhou jehlou tak, aby vzorek byl odebrán z vnitřní, dobře míchané části přijímací komory. Při této činnosti docházelo k vytvoření bublinek a bylo potřeba se jich při naplnění zpět do komory zbavit. To se podařilo opatrným nakláněním cely. Pro ukázkou je zde přiložené spektrum pro odběr po 16 dnech (obr. 31). Je očividné, že i zde se projevuje vliv polyelektrolytu přítomného v gelu. Jeho náboj zřejmě více zadržuje barvivo, které má snahu difundovat do přijímací komory.



Obr. 30: Absorbční spektrum 16. den od začátku experimentu Franzových cel



Obr. 31: Franzovy difúzní cely první den (nalevo) a 20. den (napravo) experimentu

Z důvodu optimalizace (lepší dávkování, odběr vzorku, smáčená plocha, více dostupných aparatur, a tedy možnost paralelního měření více vzorků) byly následně pro tento experiment využity horizontální difúzní cely (obr. 32). Vždy bylo pracováno s triplikáty, tři vzorky čistého gelu a tři s přidavkem PSS. Pracovní postup je popsán v kapitole 4.6.1. Celkem došlo ke třem sadám těchto experimentů. První a druhá sada pracovala s hydrogely připravenými dle kapitoly 4.3. Třetí sada byla připravena s gely, které byly před vymytím monomeru ponořeny na 24 hodin do ethanolu.

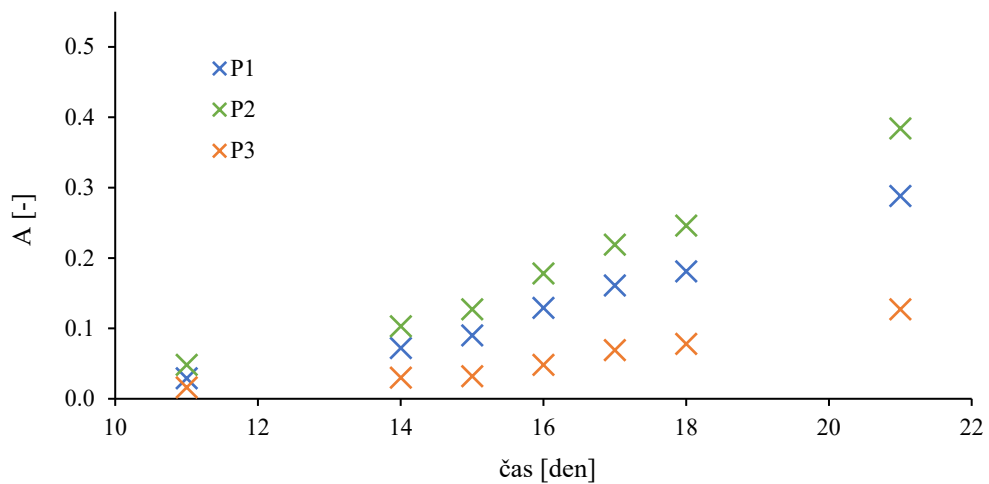


Obr. 32: Horizontální difúzní cely (počátek difúzního experimentu)

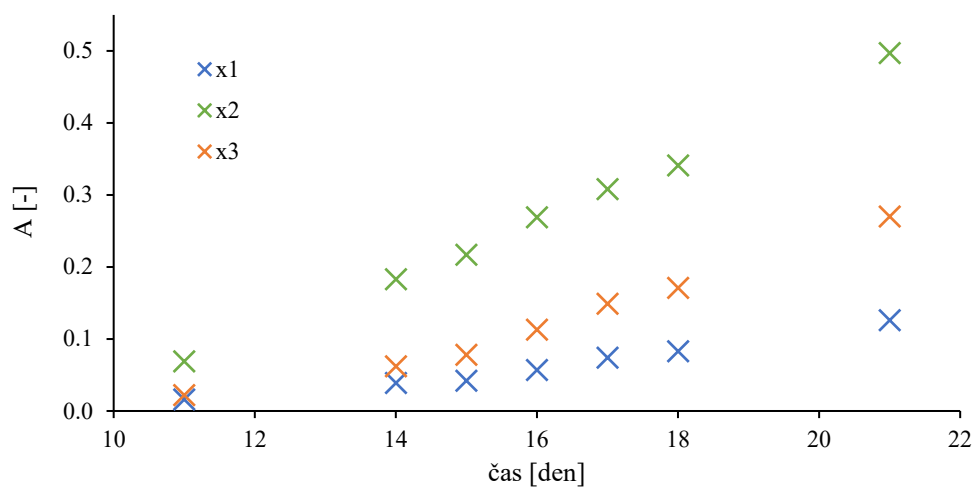
Během prvního experimentu byla první hodnota absorbance zaznamenána jedenáctý den od začátku experimentu. Poté probíhalo měření každý den vyjma víkendů až po jedenadvacátý den od počátku experimentu. Po celou dobu měření byla hodnota průměrné koncentrace barviva v přijímacích komorách u všech vzorků s PSS menší než u vzorků bez něj (patrné na obr. 35), kde je hodnota absorbance závislá na čase. Vliv polyelektrolytu na bariérové vlastnosti se tedy projevil i u horizontálních cel. Rozptyl mezi absorbancemi jednotlivých vzorků byl ale velký. U čisté poly-HEMA více než u gelů s přidavkem PSS (obr. 33 a obr. 34). Hodnoty koncentrací jednotlivých roztoků v časových intervalech jsou shrnuty v tabulce 11. Vliv na dobu trvání difúze by podle matematických vzorců měla mít plocha, kterou difúze probíhá. Otvory u všech cel disponují stejným průměrem 4 cm. Také tloušťka gelu, díky stejné Petriho misce a stejné dávce objemu roztoku polymeru, by měla být ve všech případech stejná.

Tabulka 11: Hodnoty koncentrací barviva v přijímací komoře pro jednotlivé cely

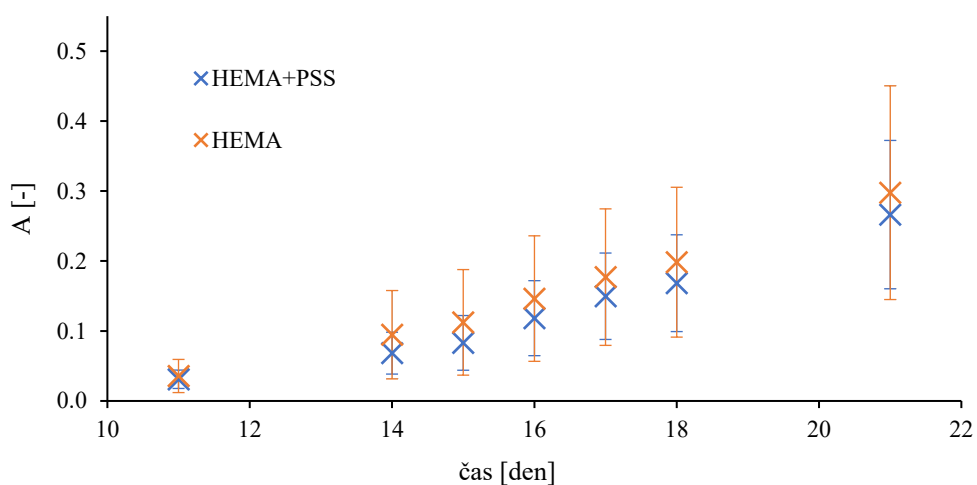
Počáteční c [g/l]	t [den]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [mg/l]			c [mg/l]		
0,1	11	0,079	0,324	0,107	0,140	0,227	0,079
	14	0,186	0,851	0,292	0,338	0,481	0,144
	15	0,200	1,008	0,366	0,421	0,592	0,153
	16	0,269	1,248	0,528	0,601	0,828	0,227
	17	0,347	1,428	0,694	0,749	1,017	0,324
	18	0,389	1,581	0,796	0,842	1,142	0,366
	21	0,588	2,302	1,253	1,336	1,780	0,592



Obr. 33: Graf závislosti absorbance na čase pro vzorky gelu s přidavkem PSS



Obr. 34: Graf závislosti absorbance na čase pro vzorky čistého poly-HEMA gelu



Obr. 35: Graf závislosti průměrné absorbance na čase

Po ukončení experimentu bylo nutné při rozebírání cel zkontrolovat, zdali nedošlo k protržení některého z gelů. Jejich okraje, které nejsou smáčené a dotýkají se pouze styčných ploch cel, totiž vysychají, a mohlo by dojít k oddělení celého tohoto prstence. Tato situace během tohoto experimentu nenastala. U gelů byl dobře znatelný rozdíl mezi čistým poly-HEMA gelem a s přidavkem PSS, kdy každý měl úplně jiné zbarvení opět pravděpodobně v důsledku zhašení fluorescence (obr. 36).



Obr. 36: Vzorok čistého poly-HEMA gelu a gelu s přidavkem PSS po experimentu horizontálních difúzních cel

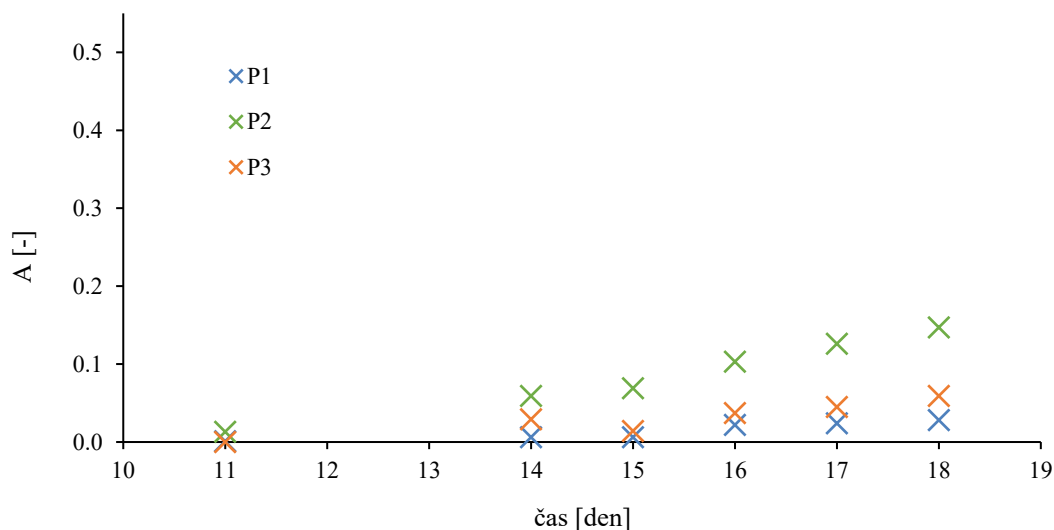
Ovšem při opakování tohoto experimentu k této skutečnosti došlo (obr. 37). Jedna cela tedy byla nasezena později, což se projevilo ve výpadku měření některých dnů z důvodu státního svátku.



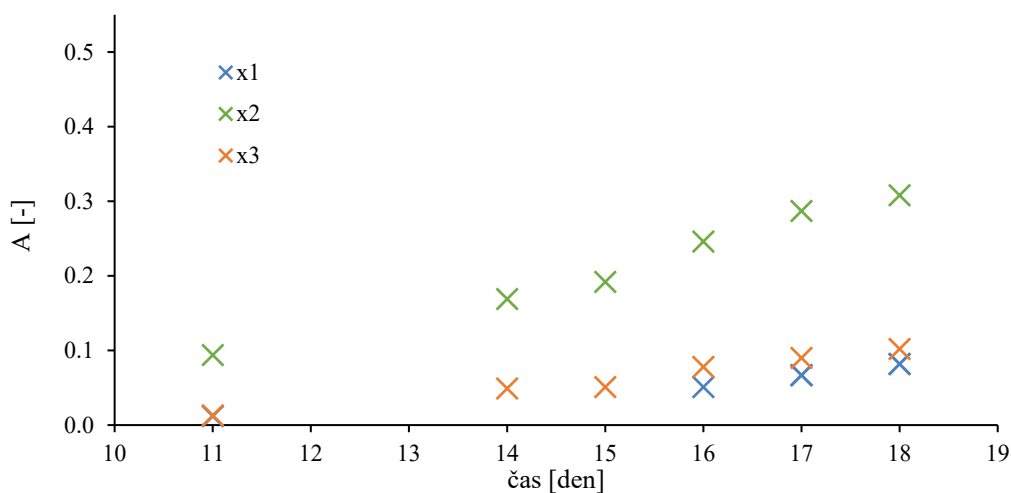
Obr. 37: Vzorek který se protrhl během experimentu horizontálních difúzních cel

Během druhého pokusu opět průměrné hodnoty koncentrací prokázaly vyšší bariérovou schopnost hydrogelů obsahujících polyelektrolyt. Při porovnání tohoto a předchozího experimentu jsou ale nyní hodnoty koncentrací nižší. Počáteční koncentrace roztoku barviva byla přitom stejná. Difúze trvala shodný počet dní, k první detekci absorbance rhodaminu došlo ve stejném dnu. Během syntézy gelů mohlo dojít k většímu sesítnění sítě, trajektorie pro difúze se více zakřivila. Což značí nehomogenitu sítě, která je pro hydrogely typická. Ta se projevuje i v rámci odchylky měření mezi jednotlivými vzorky v celách, která byla patrná i u prvního

experimentu. Je možné, že díky tomu prochází menší koncentrace barviva. Na obr. 38a obr. 39 jsou znázorněny grafy závislosti absorpance na čase pro všech 6 vzorků. Po skončení experimentu a následného rozebrání cel bylo ale patrné, že u čistého gelu poly-HEMA číslo 2 došlo k nepatrnému protržení gelu právě v místech, kde bylo rozhraní smáčení gelu a vysychání. Proto nebyl tento vzorek do výpočtů průměrných hodnot započítáván. Na obr. 40 je znázorněn graf průměrné absorpance roztoků barviva na čase. V tabulce 12 jsou shrnuty všechny hodnoty koncentrace pro jednotlivé gely.



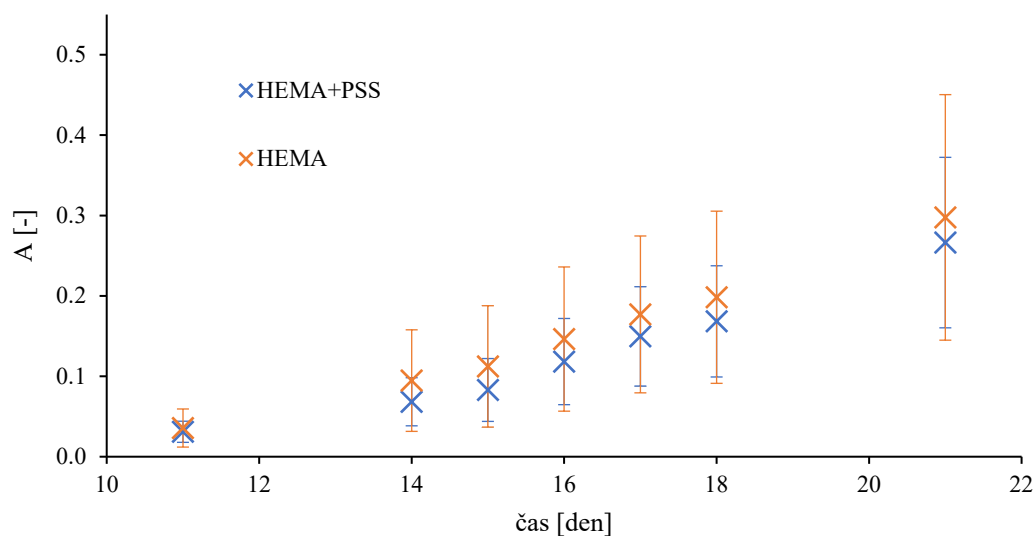
Obr. 38: Graf závislosti absorpance na čase pro vzorky gelů s přídavkem PSS



Obr. 39: Graf závislosti absorpance na čase pro vzorky čistého poly-HEMA gelu

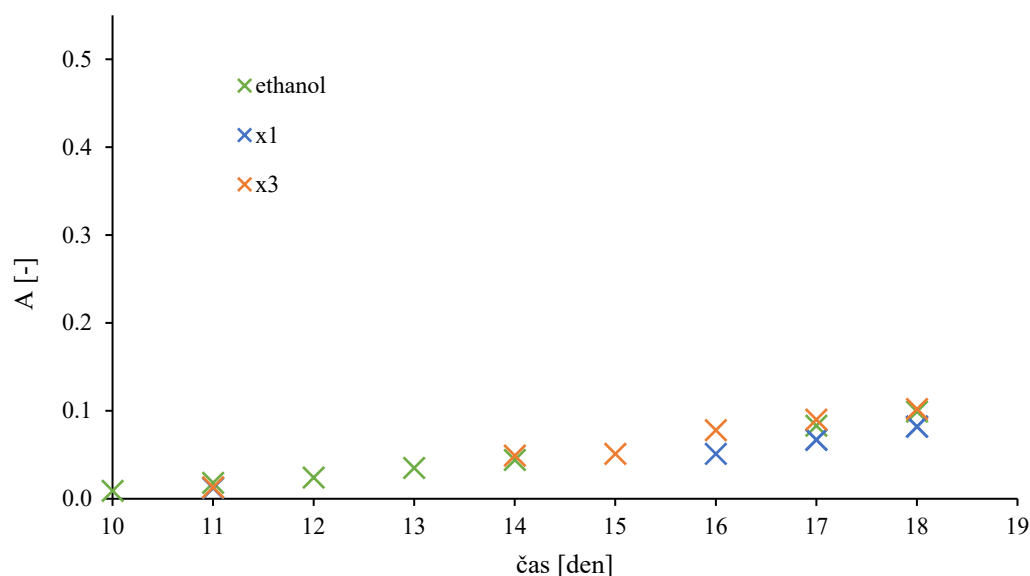
Tabulka 12: Hodnoty koncentrací barviva v přijímací komoře pro jednotlivé cely

Počáteční c [g/l]	t [den]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [mg/l]			c [mg/l]		
0,1	11	0,061	0,440	0,066	0,010	0,066	0,006
	14	0,241	0,786	0,232	0,033	0,278	0,140
	15	0,315	0,893	0,241	0,033	0,324	0,070
	16	0,384	1,142	0,366	0,107	0,481	0,176
	17	0,315	1,331	0,421	0,116	0,588	0,213
	18	0,384	1,428	0,477	0,135	0,685	0,278



Obr. 40: Graf závislosti průměrné absorbance na čase

Bariérní vlastnosti byly také zkoumány u vzorků, které byly předtím smáčeny v ethanolu. Opět bylo nasazeno celkem 6 cel (3 čistá HEMA, 3 s PSS). Bohužel díky větší křehkosti gelů, která je způsobena přítomností ethanolu, došlo k prasknutí gelů u celkem pěti vzorků. Z časových důvodů již další experimenty v difúzních celách nemohly být realizovány. Jediný vzorek, jež byl analyzován, byl gel čistě poly-HEMA. Ten byl porovnán na základě naměřených absorbancí s předchozími vzorky, které nebyly ponořeny do ethanolu (obr. 41). Hodnoty absorbance se ve všech měřených dnech takřka shodují. Z důvodu nasazení cely v jiný den vycházely víkendy v jiné dny měření. Průběh difúze by měl být kontinuální a lineární. Což tak také ve všech experimentech probíhalo dokonce s vysokou hodnotou spolehlivosti ($R^2 > 0,97$). Z naměřených dat můžeme tedy spekulovat, že vliv ethanolu na bariérní vlastnosti čistého hydrogelu není nijak výrazný. Jen pro nadcházející testy je potřeba optimalizovat uchycení gelu mezi komory cely. Ty disponují teflonovým kroužkem, do kterého se gely mohou připravit, díky drážce, kterou má na vnitřní straně. Syntéza poly-HEMA gelu tak, aby držel v tomto teflonovém kroužku ovšem nebyla úspěšná. Gel v drážce dostatečně neulpěl a vypadal z ní. Navíc při tomto experimentu, kdy se průměr gelu vlivem ethanolu několikanásobně zvětšuje, by ani tato varianta nebyla přípustná. Dále je přiložená fotografie zachycená optickým mikroskopem, kde je patrné kroucení vzorku neostrostí fotografie v určité části snímku.

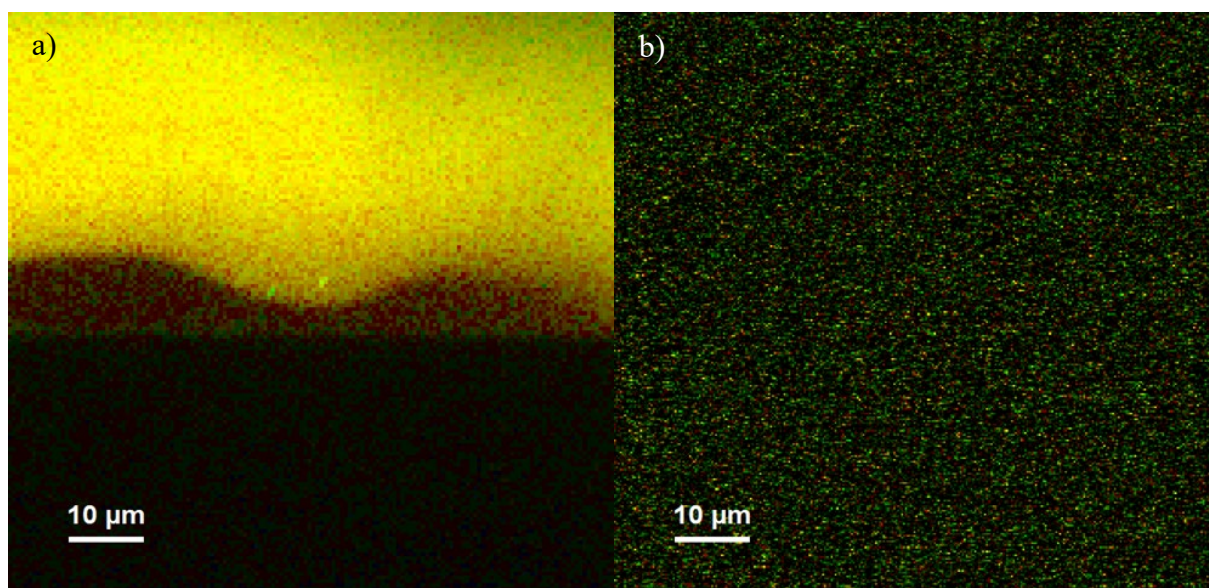


Obr. 41: Graf závislosti absorpance na čase pro čisté poly-HEMA gely bez a s promytím v ethanolu

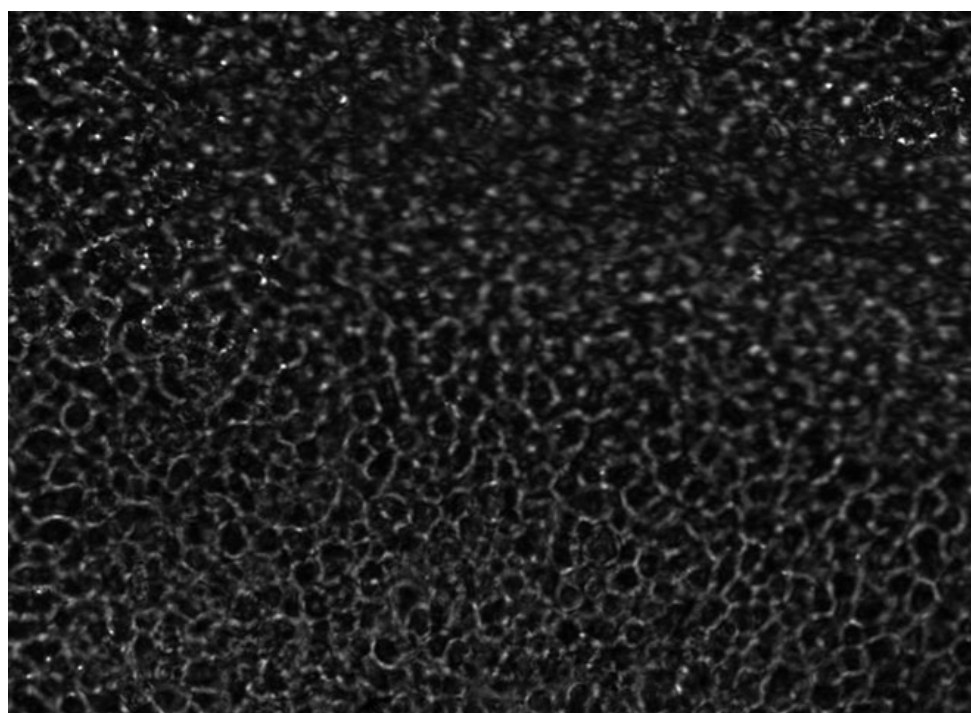
5.4 Studium transportních vlastností gelů na molekulární úrovni

V poslední sérii difúzních experimentů byl navržen postup pro studium difúze rhodaminu v gelu na molekulární úrovni. Jedním z cílů tohoto experimentu bylo zaměřit se na to, co se děje s vnitřní strukturou gelu v době, kdy byla u makroskopicky realizovaných difúzních experimentů pozorována resorpce barviva. Jedním z možných vysvětlení tohoto jevu je i agregace molekul barviva, která by s sebou nesla i změnu fluorescenčního signálu rhodaminu. Proto byly vzorky podrobeny analýze fluorescenční korelační spektroskopii (FCS). Samotné měření probíhalo celkem komplikovaně. Gely nechtěly přilnout ke sklíčku, pokud na něm nebyla voda. Na obr. 42 je vidět nerovnost povrchu v blízkosti fázového rozhraní vzorek/sklíčko. Pro porovnání byly podrobeny měření i vzorky, které nepřišly do styku s barvivem rhodaminu. Toto měření ukázalo, že samotná HEMA vykazuje překvapivě silnou autofluorescenci. Ta byla nejspíše způsobena přidanými stabilizátory do roztoku monomeru, kterými mohly být sloučeniny s benzenovým jádrem, které se často využívají jako lapače volných radikálů zabraňující spontánní radikálové polymeraci labilních akrylátových sloučenin. Tyto sloučeniny jsou, jak je známo, díky své rigidní struktuře, přirozenými chromofory. Stabilizátory zůstaly ve struktuře přítomny, neboť před syntézou nedošlo k přečistění monomeru. Během vyhodnocování všech naměřených výsledků byla snaha vyfiltrovat korelační křivku pouze pro barvivo rhodamin, ale to se ani s využitím pokročilých nástrojů vyhodnocení korelační křivky nepodařilo. Naměřená autofluorescence má dobu života cca 3,5-3,6 ns, rhodamin má okolo 3,9 ns. FCS mikrospektrometr není schopný toto rozlišit přesně s malou chybou, tyto časy mu splývají. Při porovnání čerstvých a dříve připravených gelů je zřetelné, že ty čerstvé mají rychlejší difúzní koeficient, a hlavně krásně vyhlazenou korelační křivku. Starší gely mají přítomny na začátku krátký balast. Není tedy možné přesně určit difúzní koeficient, ani co se odehrává s vnitřní strukturou při ponoření vzorku do vody a difúzi do vnějšího prostředí. Tuto metodu by bylo nutné optimalizovat, na což bohužel z časových důvodů nebyl prostor. Všechny naměřené hodnoty difúzních koeficientů jsou shrnuty v tabulce v přílohách. Také jsou tam vloženy dva příklady korelačních křivek pro čerstvé gely a gely, které prošly vymýváním. Na obr. 42 je mimo jiné i fotografie gelu, který

nebyl ponořený do roztoku barviva a je zde zřetelná autofluorescence. Na obr. 43 je snímek povrchu gelu pod mikroskopem.



Obr. 42: a) rozhraní gel/skličko, b) autofluorescence gelů bez přítomnosti barviva



Obr. 43: Snímek povrchu gelu pořízený optickým mikroskopem

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo na základě získaných informací navrhnout metodu charakterizace semi-interpenetrovaných polymerních sítí gelů na bázi poly-HEMA v kontextu potenciálních aplikací těchto materiálů v nosičových systémech. Poté na řadě vzorků právě těchto hydrogelů ověřit možnost cílené manipulace transportních a mechanických vlastností. Jako lineární řetězec, který zabezpečí semi-IPN síť byl v této studii použit polyelektrolyt polystyrensulfonát sodný, kdy jeho koncentrace v systému činila 0,01g/l. Techniky strukturní analýzy byly zvoleny SEM, kde byly vzorky podrobovány analýze ve vysušené formě, tzv. xerogelu. Dále byl sledován vliv botnání gelu v ethanolu pomocí vážení a měření průměru gelů. Transportní vlastnosti byly zkoumány pomocí difúzních testů, pro analýzu bariérových vlastností posloužily difúzní cely. Jako transportovaná látka byl při testech využíván roztok barviva rhodaminu 6G o různých koncentracích. Na závěr byly gely podrobeny fluorescenční korelační spektroskopii pro určení difúzního koeficientu.

Syntéza vybraného hydrogelu byla předmětem zkoumání předcházející bakalářské práce. Pracovní postup z ní tedy vycházel. Základní charakteristické znaky hydrogelu, jako například obsah vody, již byly také známé. Strukturní vlastnosti byly ale zkoumány z toho pohledu, že gely začaly být před dalšími experimenty podrobovány vymývání nezreagovaného monomeru, který zůstal v jeho struktuře. Potřebný čas byl stanoven na minimálně dva dny bez potřeby vyměnit vodu, ve které k procesu docházelo. Vliv tohoto vymývání byl studován z pohledu sušení a botnání. Do procesu byl také zahrnut krok s ethanolem, kdy byl vzorek do něj ponořen. Během této události docházelo k horizontálnímu roztažení vzorků až o 1 cm. Ke zvětšení tloušťky gelu docházelo v maximu o 1 mm. S tím samozřejmě souvisí i nárůst hmotnosti gelu. Dále gely s obsahem polyelektrolytu PSS, i ty bez něj, byly v obou případech po nabotnění ethanolem naprosto čiré, což v případě semi-IPN v surovém stavu neplatilo. Na druhou stranu se v prostředí ethanolu výrazně zvýšila křehkost gelu. V důsledku botnání se póry v trojrozměrné síti gelu zvětšily natolik, že sebemenší neopatrná manipulace zapříčinila roztrhnutí gelu. Při zpětném ponoření do vody gely začaly na své váze opět ubývat a smršťovaly se. Reverzibilita tohoto děje byla prokázána. Procentuální zastoupení vody činilo po celou dobu všech částí experimentu zhruba 30 hm%.

Vysušené vzorky gelů byly podrobeny morfologické analýze pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Ke zmrazení vzorku bylo přistupováno dvěma procedurami. Tou jednou bylo šokové zchlazení ponořením do tekutého dusíku a tou druhou pomalé mrazení v laboratorním mrazáku. Následně byly vzorky umístěny do lyofylizátoru a sublimací z nich byla odstraněna voda. Výsledky ukázaly, že postup mrazení nemá na tyto gely vliv. Analýze byly podrobovány jak vzorky s přídatkem PSS, tak i bez něj. Dále se analýza týkala čerstvě připravených gelů, gelů ponořených na 24 hodin do ethanolu a vzorků, které byly po ethanolu ponořeny ještě do vody. Výsledky ukazují, že během mrazení dojde k redukci pórů a povrch gelů je hladký. Je možné, že tato skutečnost byla způsobena nízkým obsahem vody, a tedy i malou velikostí pórů, kterou HEMA disponuje. U vzorků, které byly 24 hodin v ethanolu došlo ke zvrásnění povrchu a u následujících gelů došlo k vytvoření děr.

Experimenty pro určení transportních vlastností jednoznačně prokázaly ovlivnění difuzivity nízkomolekulárních látek v gelech inkorporací semi-interpenetrované polyelektrolytové komponenty (PSS). Díky ní byl gel schopný do své struktury absorbovat větší množství difundující látky (rhodaminu). Určitě v tom hrála roli elektrostatická interakce polyelektrolytu

a barviva, které jsou opačně nabité, a díky tomu se navzájem přitahují. Při zpětné difúzi z gelu do vnějšího prostředí, v tomto případě deionizované vody, bylo dokázáno, že semi-IPN hydrogely dokáží ve vnitřní struktuře udržet větší koncentraci barviva než gely bez PSS. Došlo též k přípravě gelu s inkorporovaným barvivem hned při jeho syntéze. Takto připravené gely vykazovaly větší pružnost a větší tendenci k tvarové deformaci. Ve všech případech však docházelo k resorpci barviva zpět do gelu. Během prvních šesti až osmi hodin difundovalo barvivo ven do vnějšího prostředí. Po uplynutí této doby ale koncentrace barviva začala klesat. Hydrogely začaly rhodamin znovu absorbovat do své struktury. Příčina mohla být v tom, že rhodamin vyplavený na začátku byl pouze na povrchu gelu a nebyl dostatečně absorbovaný. Bylo provedeno několik experimentů se snahou této resorpci zabránit. Žádný ovšem nebyl úspěšný. Vzorky, které byly podrobeny vymývání v ethanolu, prokázaly vyšší schopnost gelů absorbovat barvivo rhodamin, než vzorky, které byly vymývány jen ve vodě.

Bariérové vlastnosti hydrogelů byly zkoumány pomocí difúzních cel. I zde došlo k potvrzení vlivu polyelektrolytů na difúzi gelovým prostředím. Hydrogely obsahující semi-IPN síť disponovali vyšším účinkem bránění prostupu difundující látky než gely bez ní. Díky křehkosti gelu po styku s ethanolom nemohlo dojít k většímu porovnání takhle upravených gelů.

Mimo jiné i pro lepší porozumění resorpce barviva byla zvolena analýza pomocí fluorescenční korelační spektroskopie jako nástroj pro studium difúze rhodaminu v gelu na molekulární úrovni. Výsledky bohužel ukázaly, že tato metoda není bez budoucí optimalizace přímo použitelná, neboť samotný hydrogel poly-HEMA vykazoval překvapivě intenzivní autofluorescenci, nejspíše díky stabilizátorům, obsažených v surovém monomeru. Fluorescenci rhodaminu tak nebylo možné v měřeném signálu identifikovat.

Ze získaných výsledků lze tedy konstatovat, že díky semi-IPN síti jsme schopni modifikovat transportní a bariérové vlastnosti vzorového poly-HEMA hydrogelu, což je klíčovou vlastností pro využití těchto materiálů v systémech s řízeným uvolňováním léčiv. V dalších experimentech by bylo zajímavé zaměřit se právě na zmíněnou resorpci, která v gelech nastává. Co přesně ji způsobuje a jestli se tomu dá předejít. Také pro možné využití FCS by bylo vhodné pracovat s přečištěným monomerem, což bude mít jistě vliv na syntézu gelu, která se bude muset pozměnit.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001. ISBN 80-708-0436-X.
- [2] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001. ISBN 80-708-0422-X.
- [3] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠÍŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 4. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. ISBN 80-708-0475-0.
- [4] NOVÁK, Josef a Marie ŠÍŠKOVÁ. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 3., přeprac. a rozš. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-675-3.
- [5] POUCHLÝ, Julius a Marie ŠÍŠKOVÁ. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav: bakalářský a magisterský kurz*. Vyd. 3., přeprac. a rozš. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [6] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠÍŠKOVÁ. Co je co v koloidní chemii?: Výkladový slovník. [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2005, 28. července 2005 [cit. 2020-11-23]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/.
- [7] PEPPAS, N.A., B.V. SLAUGHTER a M.A. KANZELBERGER. Hydrogels. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. Elsevier, 2012, 2012, , 385-395. ISBN 9780080878621. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-53349-4.00226-0
- [8] COLOMBO, Paolo, B.V. SLAUGHTER a M.A. KANZELBERGER. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier, 1993, 2012, **11**(1-2), 37-57. ISBN 9780080878621. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/0169-409X(93)90026-Z
- [9] HAMIDI, Mehrdad, Amir AZADI a Pedram RAFIEI. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier, 2008, 2012, **60**(15), 1638-1649. ISBN 9780080878621. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2008.08.002
- [10] ŠUSTEK, Stanislav; SVOBODA, Ladislav; MATOUŠKOVÁ, Miroslava. Studium vlastností biodegradabilního hydrogelu. *Chemické listy* [online]. 2010, 104, 7, [cit. 2021-03-30].
- [11] PERTICI, Vincent, Caroline PIN-BARRE, Claudio RIVERA, Christophe PELLEGRINO, Jérôme LAURIN, Didier GIGMES a Thomas TRIMAILLE. Degradable and Injectable Hydrogel for Drug Delivery in Soft Tissues. *Biomacromolecules* [online]. 2018, **20**(1), 149-163 [cit. 2021-03-30]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.8b01242
- [12] MA, S., YU, B., PEI, X., ZHOU, F.: Structural hydrogels. *Polymer*, 2016, vol. 98, p. 516–535.
- [13] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*. 2015, **6**(2), 105-121. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2013.07.006
- [14] MAOLIN, Zhai, Li JUN, Yi MIN a Ha HONGFEI. The swelling behavior of radiation prepared semi-interpenetrating polymer networks composed of polyNIPAAm and hydrophilic polymers. *Radiation Physics and Chemistry* [online]. 2000, **58**(4), 397-400 [cit. 2021-01-15]. DOI: 10.1016/S0969-806X(99)00491-0.

- [15] MILLAR, J. R. 263. Interpenetrating polymer networks. Styrene–divinylbenzene copolymers with two and three interpenetrating networks, and their sulphonates. *J. Chem. Soc.* 1960, , 1311-1317. ISSN 0368-1769. Dostupné z: doi:10.1039/JR9600001311
- [16] JENKINS, A. D., P. KRATOCHVÍL, R. F. T. STEPTO a U. W. SUTER. Glossary of basic terms in polymer science (IUPAC Recommendations 1996). *Pure and Applied Chemistry*. 1996, 68(12), 2287-2311. DOI: 10.1351/pac199668122287. ISSN 1365-3075.
- [17] KAUSAR, Ayesha. Polyurethane/Epoxy Interpenetrating Polymer Network. *Aspects of Polyurethanes*. InTech, 2017, 2017-09-27. ISBN 978-953-51-3545-6. Dostupné z: doi:10.5772/67678
- [18] CHIKH, Linda, Virginie DELHORBE, Odile FICHET, Christophe PELLEGRINO, Jérôme LAURIN, Didier GIGMES a Thomas TRIMAILLE. (Semi-)Interpenetrating polymer networks as fuel cell membranes. *Journal of Membrane Science* [online]. 2011, **368**(1-2), 1-17 [cit. 2021-03-30]. ISSN 03767388. Dostupné z: doi:10.1016/j.memsci.2010.11.020
- [19] BAKER, Murray V., David H. BROWN, Ylenia S. CASADIO a Traian V. CHIRILA. The preparation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) and poly{(2-hydroxyethyl methacrylate)-co-[poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate]} by photoinitiated polymerisation-induced phase separation in water. *Polymer*. 2009, **50**(25), 5918-5927. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2009.10.047.
- [20] Chemické listy: Výročí prof. O. wichterleho. 112. 2018. ISSN 1213-7103.
- [21] ROBERTS, J.J. a P.J. MARTENS. Engineering biosynthetic cell encapsulation systems. *Biosynthetic Polymers for Medical Applications*. Elsevier, 2016, 2016, 205-239. DOI: 10.1016/B978-1-78242-105-4.00009-2. ISBN 9781782421054
- [22] DOJČANSKÝ, J. a J. LONGAUER. Chemické inžinierstvo II: difúzne procesy, prestup látky, absorpcia, adsorpcia, destilácia a rektifikácia... Bratislava: Malé centrum, 1999. ISBN 80-967-0648-9.
- [23] ATKINS, P. W. a Julio DE PAULA. *Atkins' physical chemistry: difúzne procesy, prestup látky, absorpcia, adsorpcia, destilácia a rektifikácia...* 7th ed. Oxford: Oxford University Press, 2002. ISBN 01-987-9285-9.
- [24] CUSSLER, E.: *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. 3rd ed. New York: Cambridge University Press, 2009. ISBN 978-0-521-87121-2.
- [25] OVČAČÍKOVÁ, Magdaléna, Miroslav LÍSA, Eva CÍFKOVÁ a Michal HOLČAPEK. Retention behavior of lipids in reversed-phase ultrahigh-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2016, **1450**(25), 76-85. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2016.04.082
- [26] KONG, H. Designing alginate hydrogels to maintain viability of immobilized cells. *Biomaterials*. 2003, **24**(22), 4023-4029. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(03)00295-3
- [27] ANDRADE, J. Hydrogels in medicine and pharmacy. *Journal of Controlled Release*. 1989, **10**(2). ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/0168-3659(89)90067-9
- [28] PARK, Jung-Hwan, Mark G. ALLEN a Mark R. PRAUSNITZ. Polymer Microneedles for Controlled-Release Drug Delivery. *Pharmaceutical Research*. 2006, **23**(5), 1008-1019. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-006-0028-9

- [29] AMSDEN, Brian. Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models. *Macromolecules* [online]. 1998, **31**(23), 8382-8395 [cit. 2021-03-30]. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/ma980765f
- [30] AXPE, Eneko, Doreen CHAN, Giovanni S. OFFEDDU, Yin CHANG, David MERIDA, Hector Lopez HERNANDEZ a Eric A. APPEL. A Multiscale Model for Solute Diffusion in Hydrogels. *Macromolecules* [online]. 2019, **52**(18), 6889-6897 [cit. 2021-03-30]. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/acs.macromol.9b00753
- [31] PASSOS, Marcele F., Nayara M. S. CARVALHO, Ana Amélia RODRIGUES, Vanessa P. BAVARESCO, André L. JARDINI, Maria Regina W. MACIEL a Rubens MACIEL FILHO. PHEMA Hydrogels Obtained by Infrared Radiation for Cartilage Tissue Engineering. *International Journal of Chemical Engineering* [online]. 2019, 2019, 1-9 [cit. 2021-02-04]. DOI: 10.1155/2019/4249581. ISSN 1687-806X. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/ijce/2019/4249581/>
- [32] HU, Ziqiao a Guangming CHEN. Novel Nanocomposite Hydrogels Consisting of Layered Double Hydroxide with Ultrahigh Tensibility and Hierarchical Porous Structure at Low Inorganic Content. *Advanced Materials* [online]. 2014, **26**(34), 5950-5956 [cit. 2021-01-31]. DOI: 10.1002/adma.201400179. ISSN 09359648. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.201400179>
- [33] KAMATA, H., Y. AKAGI, Y. KAYASUGA-KARIYA, U.-i. CHUNG a T. SAKAI. "Nonswellable" Hydrogel Without Mechanical Hysteresis. *Science* [online]. 2014, **343**(6173), 873-875 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.1126/science.1247811. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1247811>.
- [34] QIN, Zezhao, Xiaofeng YU, Haiyang WU, Jinge LI, Hongying LV a Xiaoniu YANG. Nonswellable and Tough Supramolecular Hydrogel Based on Strong Micelle Cross-Linkings. *Biomacromolecules* [online]. 2019, **20**(9), 3399-3407 [cit. 2021-01-11]. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b00666. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.9b00666>
- [35] LIU, Yu-wei, Ping WANG, Jun WANG, Bo XU, Jin XU, Jiu-gang YUAN, Yuan-yuan YU a Qiang WANG. Transparent and tough poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels prepared in water/IL mixtures. *New Journal of Chemistry* [online]. 2020, **44**(10), 4092-4098 [cit. 2021-02-01]. DOI: 10.1039/D0NJ00214C. ISSN 1144-0546. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0NJ00214C>
- [36] ZHU, Junmin, Roger E MARCHANT, Haiyang WU, Jinge LI, Hongying LV a Xiaoniu YANG. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices* [online]. 2014, **8**(5), 607-626 [cit. 2021-02-06]. DOI: 10.1586/erd.11.27. ISSN 1743-4440. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/erd.11.27>
- [37] GHADI R, JAIN A, KHAN W and DOMB AJ, Wound healing biomaterials volume 2, in *Functional Biomaterials*, ed. by Ågren MS. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 203–225 (2016).
- [38] VANDEVORD, Pamela J., Howard W. T. MATTHEW, Stephen P. DESILVA, Lois MAYTON, Bin WU a Paul H. WOOLEY. Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2002, **59**(3), 585-590 [cit. 2021-02-21]. DOI: 10.1002/jbm.1270. ISSN 0021-9304. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.1270>

- [39] CERDA-SUMBARDA, Yadira D., Ivan ZAPATA-GONZALEZ, Angel LICEA-CLAVERIE, Arturo ZIZUMBO-LOPEZ, Luis F. RAMOS-DE VALLE a Adriana ESPINOZA-MARTÍNEZ. Poly(hexylacrylate) Core -poly(ethyleneglycol methacrylate) Shell nanogels as fillers for poly(2-hydroxyethyl methacrylate) nanocomposite hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2019, 59(1), 170-181 [cit. 2021-01-11]. DOI: 10.1002/pen.24884. ISSN 00323888. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pen.24884>
- [40] RUIZ-GALINDO, Oscar, Arturo ZIZUMBO-LÓPEZ, Angel LICEA-CLAVERÍE, Sergio PÉREZ-SICAIROS, Luis F. RAMOS-DE VALLE a Adriana ESPINOZA-MARTÍNEZ. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel: from a brittle material to a nanofilled semi-interpenetrating polymer network with potential application in wound dressings. *Polymer International* [online]. 2019, 68(6), 1113-1122 [cit. 2021-01-15]. DOI: 10.1002/pi.5801. ISSN 0959-8103. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pi.5801>
- [41] TRUJILLO, Verónica, Jungwook KIM a Ryan C. HAYWARD. Creasing instability of surface-attached hydrogels. *Soft Matter* [online]. 2008, 4(3), 699-706 [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1039/b713263h. ISSN 1744-683X. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b713263h>
- [42] CROSBY, Alfred J., Xiaoyun LI, Hancheng MA, Ying GUAN a Yongjun ZHANG. Why should we care about buckling? *Soft Matter* [online]. 2010, 6(22), 114-123 [cit. 2021-02-16]. DOI: 10.1039/c0sm90040k. ISSN 1744-683X. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0sm90040k>
- [43] WANG, Yu, Qianbing CHEN, Mao CHEN, Ying GUAN a Yongjun ZHANG. PHEMA hydrogel films crosslinked with dynamic disulfide bonds: synthesis, swelling-induced mechanical instability and self-healing. *Polymer Chemistry* [online]. 2019, 10(35), 4844-4851 [cit. 2021-02-06]. DOI: 10.1039/C9PY00670B. ISSN 1759-9954. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C9PY00670B>
- [44] YUN, Yifan, Ying GUAN, Yongjun ZHANG, Ying GUAN a Yongjun ZHANG. Patterned PHEMA Films Synthesized by Redox Polymerization for Multicellular Spheroid Generation: synthesis, swelling-induced mechanical instability and self-healing. *Polymer Chemistry* [online]. 2019, 58(25), 10713-10723 [cit. 2021-02-06]. DOI: 10.1021/acs.iecr.9b01517. ISSN 0888-5885. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.iecr.9b01517>
- [45] SENOL, Sebnem a Emel AKYOL. Synthesis and characterization of hydrogels based on poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for drug delivery under UV irradiation. *Journal of Materials Science*. 2018, 53(21), 14953-14963. DOI: 10.1007/s10853-018-2713-6. ISSN 0022-2461.
- [46] ZIA, Muhammad Adnan, Muhammad SOHAIL, Muhammad Usman MINHAS, et al. HEMA based pH-sensitive semi IPN microgels for oral delivery; a rationale approach for ketoprofen. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2020, 46(2), 272-282. ISSN 0363-9045. Dostupné z: [doi:10.1080/03639045.2020.1716378](https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1716378)

- [47] LI, Ruicong, Xipeng GUAN, Xilin LIN, et al. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/ β -cyclodextrin-hyaluronan contact lens with tear protein adsorption resistance and sustained drug delivery for ophthalmic diseases. *Acta Biomaterialia* [online]. 2020, **110**, 105-118 [cit. 2021-04-02]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2020.04.002
- [48] GARCÍA, J., E. RUIZ-DURÁNTEZ a N.E. VALDERRUTEN. Interpenetrating polymer networks hydrogels of chitosan and poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for controlled release of quetiapine. *Reactive and Functional Polymers*. 2017, **117**, 52-59. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2017.06.002. ISSN 13815148.
- [49] BAKAN, Buket, Süleyman GÜLCEMAL, Sinan AKGÖL, Peter H.M. HOET a N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU. Synthesis, characterization and toxicity assessment of a new polymeric nanoparticle, l-glutamic acid-g-p(HEMA). *Chemico-Biological Interactions*. 2020, **315**. ISSN 00092797. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2019.108870
- [50] SINGH, Baljit a Ajay KUMAR. Exploration of arabinogalactan of gum polysaccharide potential in hydrogel formation and controlled drug delivery applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **147**, 482-492. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.087
- [51] TOMIĆ, Simonida Ljubisa, Suzana I. DIMITRIJEVIĆ, Aleksandar D. MARINKOVIĆ, Stevo NAJMAN a Jovanka M. FILIPOVIĆ. Synthesis and characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) copolymeric hydrogels. *Polymer Bulletin*. 2009, **63**(6), 837-851. DOI: 10.1007/s00289-009-0123-2. ISSN 0170-0839.
- [52] CARVALHO, Cristiana R., Joaquim M. OLIVEIRA, Rui L. REIS, Ying GUAN a Yongjun ZHANG. Modern Trends for Peripheral Nerve Repair and Regeneration: Beyond the Hollow Nerve Guidance Conduit. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. New York, NY: Springer US, 2019, 2020-03-10, **7**(24), 6143-6156 [cit. 2021-02-06]. *Methods in Molecular Biology*. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00337. ISBN 978-1-0716-0318-5. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2019.00337/full>
- [53] NECTOW, Alexander R., Kacey G. MARRA, David L. KAPLAN, Ying GUAN a Yongjun ZHANG. Biomaterials for the Development of Peripheral Nerve Guidance Conduits: Beyond the Hollow Nerve Guidance Conduit. *Tissue Engineering Part B: Reviews* [online]. New York, NY: Springer US, 2012, 2020-03-10, **18**(1), 40-50 [cit. 2021-02-06]. *Methods in Molecular Biology*. DOI: 10.3390/polym3010413. ISBN 978-1-0716-0318-5. ISSN 1937-3368. Dostupné z: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.teb.2011.0240>
- [54] DURSUN USAL, Tugba, Deniz YUCEL a Vasif HASIRCI. A novel GelMA-pHEMA hydrogel nerve guide for the treatment of peripheral nerve damages. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **121**, 699-706 [cit. 2021-02-02]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.060. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813018345689>

8 Seznam použitých zkratek

IPN	interpenetrovaná polymerní síť
semi-IPN	semi-interpenetrovaná polymerní síť
HEMA	2-hydroxyethylmetakrylát
poly-HEMA	polyhydroxyethylmethakrylát
EGDMA	ethylenglykol-di-methakrylát
PSS	polystyrensulfonyl sodný
FCS	fluorescenční korelační spektroskopie
SEM	skenovací elektronová mikroskopie

9 Seznam příloh

Příloha 1: Spektrum absorpance po 24 hodinách během vymývání nezreagovaného monomeru

Příloha 2: Tabulka hmotností vzorků gelů podrobených botnání v ethanolu a následně ve vodě

Příloha 3: Fotky gelů poly-HEMA s PSS a) po syntéze, b) 6hod v ethanolu, c) 12 hod v ethanolu, d) 6 hod ve vodě, e) 12 hod ve vodě, f) 24 hod v ethanolu

Příloha 4: Fotky gelů čisté poly-HEMA a) po syntéze, b) 6hod v ethanolu, c) 12 hod v ethanolu, d) 6 hod ve vodě, e) 12 hod ve vodě, f) 24 hod v ethanolu

Příloha 5: Spektrum absorpance roztoku rhodaminu (0,025 g/l) po 24 hodinách pro vzorky čisté poly-HEMA

Příloha 6: Spektrum absorpance roztoku rhodaminu (0,025 g/l) po 24 hodinách pro vzorky gelu poly-HEMA s přidavkem PSS

Příloha 7: Tabulka hmotností vzorků gelů z experimentu č. 2

Příloha 8: Fotografie vzorků pro experiment č. 2

Příloha 9: Spektra naměřených absorpací během měření pomocí integrační koule

Příloha 10: Tabulka absorpací gelů pro vzorky měřené na datacoloru

Příloha 11: Spektrum absorpance pro čisté poly-HEMA gely měřené na datacoloru

Příloha 12: Spektrum absorpance pro poly-HEMA gely s PSS měřené na datacoloru

Příloha 13: Tabulka hmotností vzorků gelů pro experiment č. 3 (A-stejná voda, B-vyměněná po 12 hod, C-každých 12 hod vyměněná)

Příloha 14: Tabulka hmotností vzorků gelu experimentu č. 4 (gel syntetizován s rhodaminem)

Příloha 15: Tabulka koncentrací vzorků experimentu č. 5, gely bez botnání v ethanolu

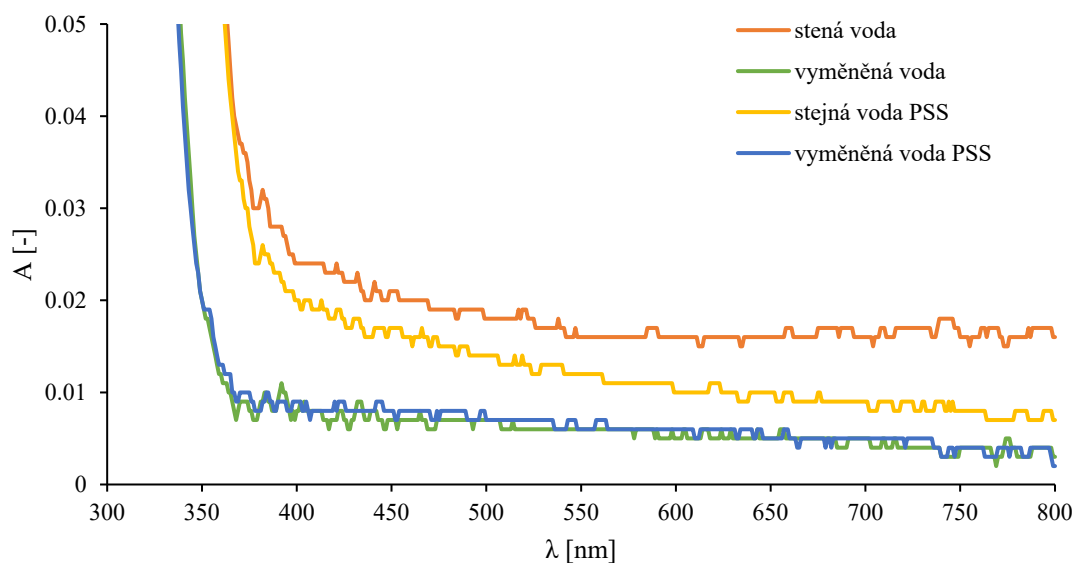
Příloha 16: Tabulka koncentrací vzorků experimentu č. 5, gely s botnáním v ethanolu

Příloha 17: Korelační křivka pro čerstvě připravené vzorky

Příloha 18: Tabulka hodnot difúzních koeficientů při měření FCS

Příloha 19: Korelační křivka pro vzorky, které prošly procesem vymývání

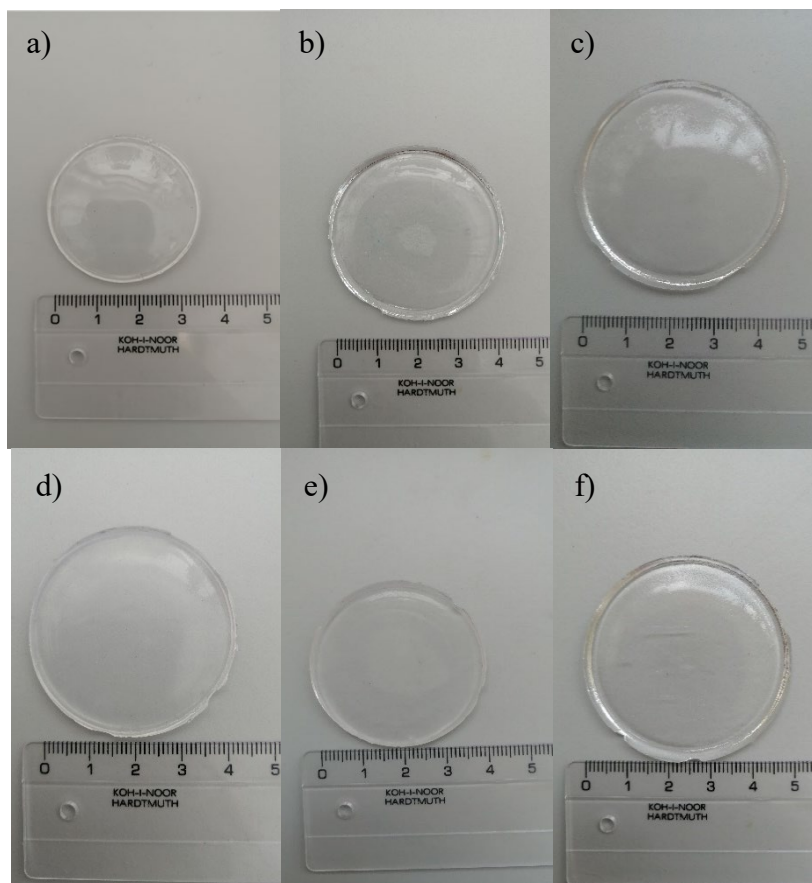
10 Přílohy



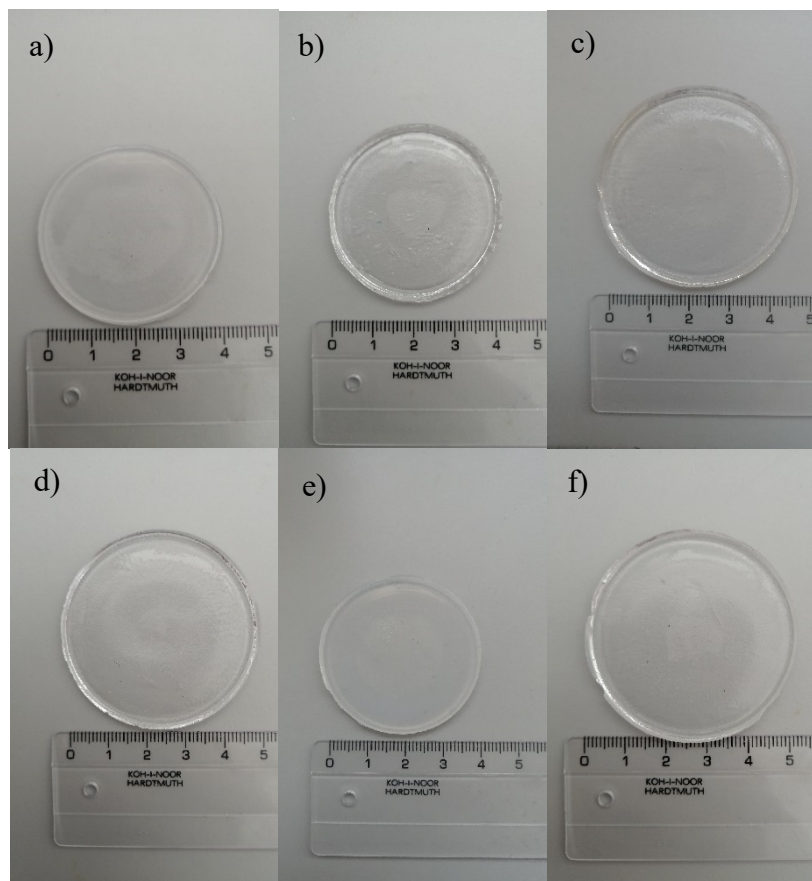
Příloha 1: Spektrum absorbance po 24 hodinách během vymývání nezreagovaného monomeru

Příloha 2: Tabulka hmotností vzorků gelů podrobených botnání v ethanolu a následně ve vodě

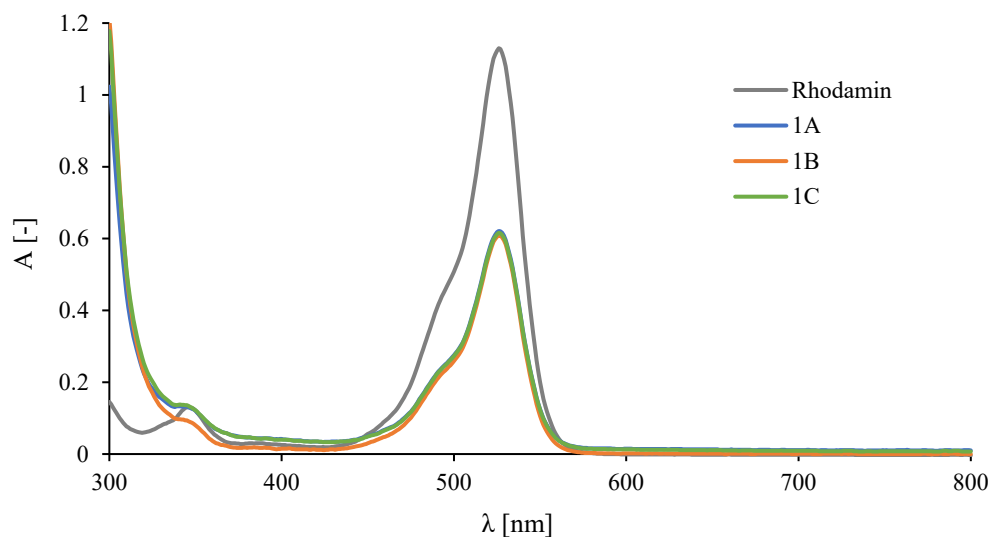
Ethanol	0 hod	2 hod	4 hod	6 hod	8 hod	10 hod	12 hod	24 hod
	m [g]							
X1	2,0872	2,6770	2,8715	3,0765	3,1928	3,5240	3,6352	3,9523
X2	2,0827	2,6470	2,9070	3,1162	3,2485	3,5964	3,6630	3,8789
X3	2,1029	2,7326	3,0159	3,2472	3,3861	3,7001	3,7613	3,9280
P1	2,1141	2,6825	2,9765	3,2315	3,3786	3,7520	3,8604	4,1500
P2	2,1527	2,6410	2,8454	3,0743	3,2039	3,5640	3,6838	3,9949
P3	2,1222	2,5902	2,8532	3,0852	3,2340	3,5734	3,6690	3,9695
Voda								
X1	×	3,5320	3,3388	3,1342	3,0244	2,9054	2,8537	2,4720
X2	×	3,3759	3,1478	2,9093	2,8082	2,6871	2,6406	2,3079
X3	×	3,4283	3,1944	2,9446	2,8320	2,7193	2,6635	2,3472
P1	×	3,5993	3,3465	3,1011	2,9873	2,8602	2,8108	2,4430
P2	×	3,6151	3,4030	3,1849	3,0832	2,9548	2,9000	2,5151
P3	×	3,5001	3,2920	3,0862	2,9835	2,8654	2,8209	2,4652
Ethanol	12 hod	24 hod	48 hod	/				
X1	3,8973	4,3323	4,3512					
X3	3,5238	3,9962	4,0195					
P1	3,9233	4,4095	4,4620					
P3	3,5226	4,0975	4,1395					



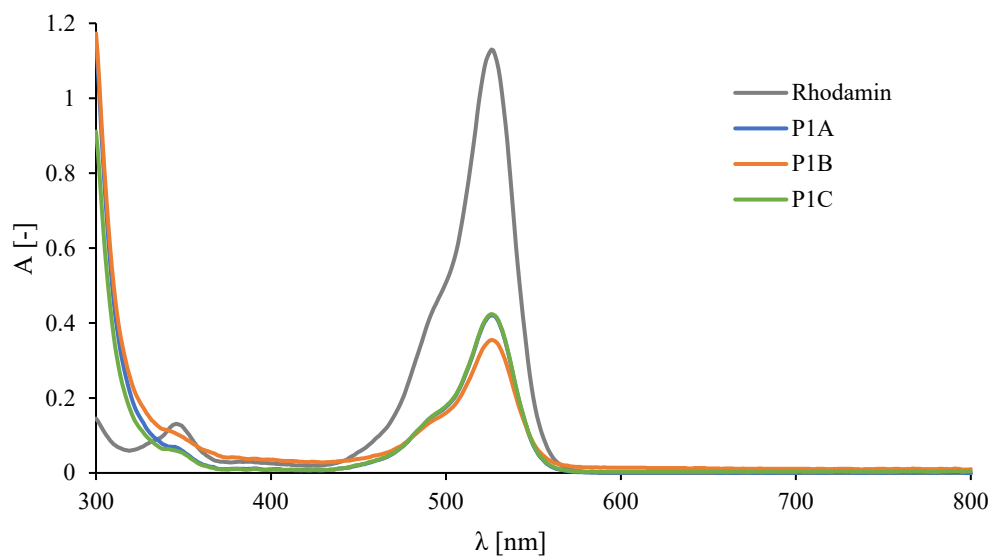
Příloha 4: Fotky gelů čisté poly-HEMA a) po syntéze, b) 6hod v ethanolu, c) 12 hod v ethanolu, d) 6 hod ve vodě, e) 12 hod ve vodě, f) 24 hod v ethanolu



Příloha 3: Fotky gelů poly-HEMA s PSS a) po syntéze, b) 6hod v ethanolu, c) 12 hod v ethanolu, d) 6 hod ve vodě, e) 12 hod ve vodě, f) 24 hod v ethanolu



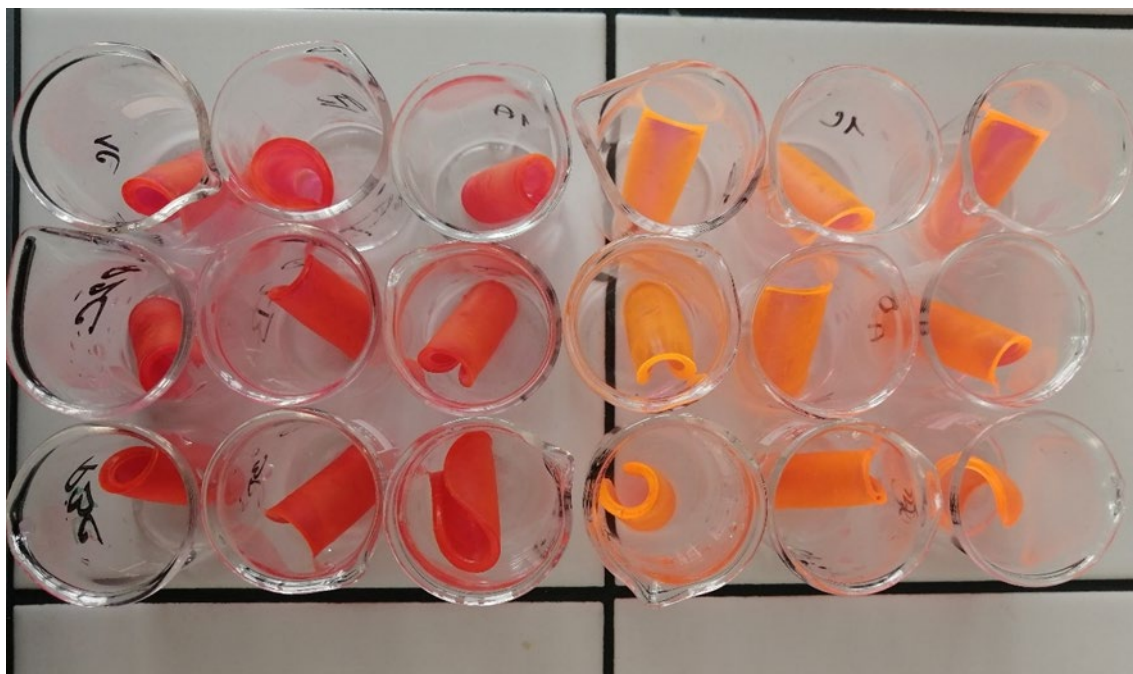
Příloha 5: Spektrum absorbance roztoku rhodaminu (0,025 g/l) po 24 hodinách pro vzorky čisté poly-HEMA



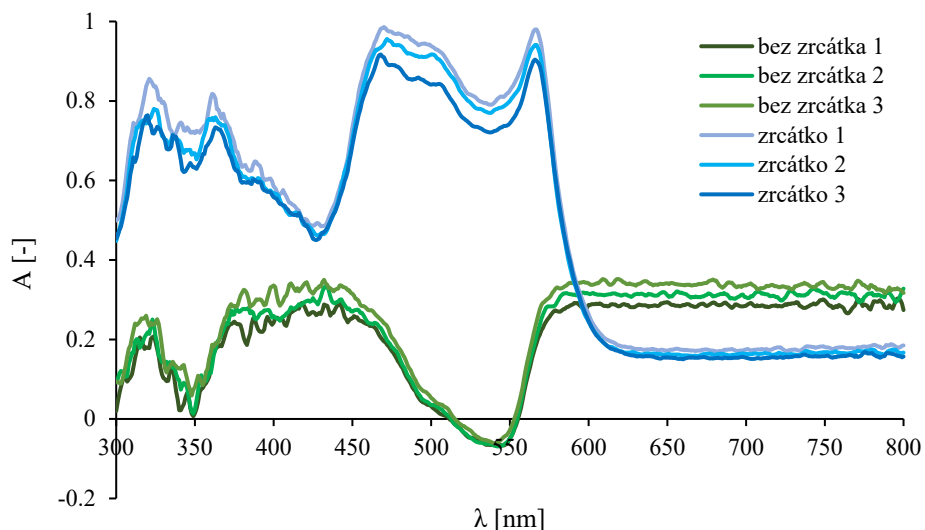
Příloha 6: Spektrum absorbance roztoku rhodaminu (0,025 g/l) po 24 hodinách pro vzorky gelu poly-HEMA s přidavkem PSS

Příloha 7: Tabulka hmotností vzorků gelů z experimentu č. 2

Koncentrace rhodaminu		0 hod	24 hod v rhodaminu	24 hod ve vodě	36 hod ve vodě	48 hod ve vodě
c [g/l]		m [g]				
0,025	1A	2,0490	1,9297	1,9302	1,9270	1,9374
	1B	2,1520	1,9570	1,9455	1,9440	1,9506
	1C	2,1563	1,9904	1,9704	1,9698	1,9812
	P1A	1,9018	1,7073	1,6845	1,6840	1,6951
	P1B	1,9448	1,7738	1,7573	1,7569	1,7575
	P1C	1,6371	1,4875	1,4766	1,4693	1,4765
0,05	2A	1,9486	1,7845	1,7737	1,7650	1,7778
	2B	1,9755	1,8406	1,8288	1,8226	1,8352
	2C	2,1772	2,0622	2,0471	2,0438	2,0553
	P2A	1,8152	1,6158	1,5940	1,5880	1,5940
	P2B	1,8186	1,6404	1,6209	1,6164	1,6242
	P2C	1,9132	1,7344	1,7177	1,7064	1,7133
0,1	3A	2,2164	2,1019	2,0867	2,0837	2,0879
	3B	2,1660	2,0359	2,0240	2,0200	2,0269
	3C	1,9237	1,8097	1,7975	1,7922	1,8625
	P3A	2,0850	1,8629	1,8392	1,8321	1,8403
	P3B	1,9930	1,8058	1,7856	1,7797	1,7871
	P3C	1,9990	1,8122	1,7870	1,7753	1,7852



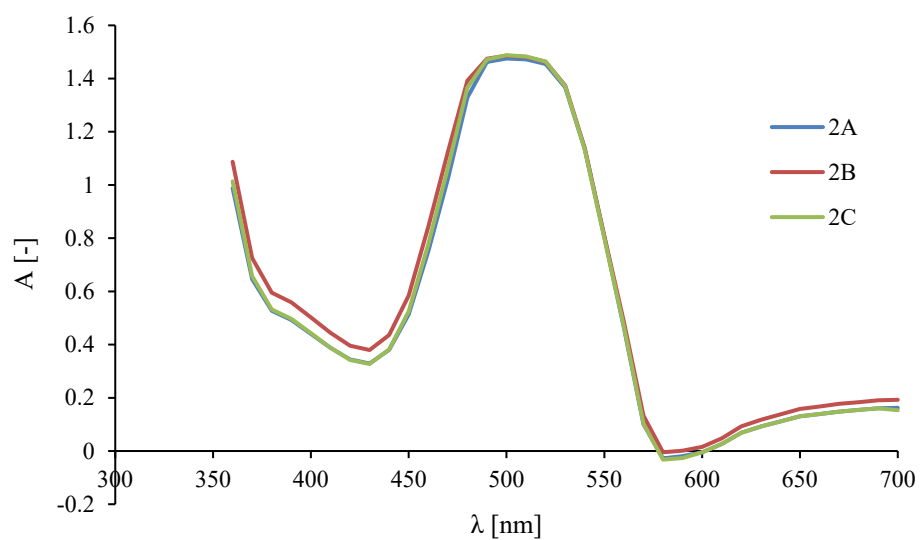
Příloha 8: Fotografie vzorků pro experiment č. 2



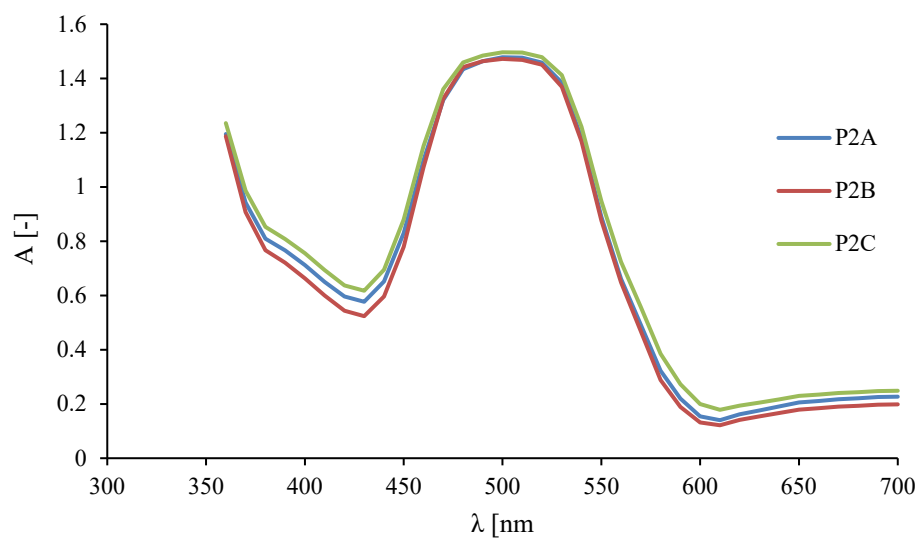
Příloha 9: Spektra naměřených absorbancí během měření pomocí integrační koule

Příloha 10: Tabulka absorbancí gelů pro vzorky měřené na datacoloru

Počáteční c [g/l]		t [hod]						
		0	12	24	36	48	60	72
		A [-]						
0,025	A	0,4079	0,4602	0,4838	0,4407	0,4527	0,3891	0,3719
	B	0,3988	0,4499	0,4815	0,5168	0,5758	0,3756	0,3924
	C	0,3491	0,4702	0,4395	0,4414	0,4515	0,3248	0,3587
	PA	0,8288	0,5199	0,5323	0,5582	0,6313	0,6971	0,7167
	PB	0,7471	0,4974	0,5214	0,5088	0,5364	0,6688	0,6600
	PC	0,7056	0,4963	0,4722	0,5072	0,5056	0,6696	0,6750
0,05	A	0,4650	0,4872	0,4938	0,5328	0,5430	0,4389	0,4427
	B	0,5540	0,5455	0,5488	0,5421	0,5709	0,4908	0,4723
	C	0,4648	0,5409	0,5130	0,5161	0,5203	0,4167	0,4092
	PA	0,9066	0,6020	0,6243	0,6227	0,7136	0,8232	0,8130
	PB	0,8425	0,5732	0,5600	0,6007	0,5900	0,8004	0,7710
	PC	0,9866	0,6223	0,6091	0,6183	0,6791	0,8874	0,8932
0,1	A	0,6744	0,6270	0,6392	0,7081	0,7389	0,6380	0,6513
	B	0,6347	0,5980	0,5960	0,6112	0,7390	0,5480	0,5977
	C	0,6547	0,6772	0,6363	0,7015	0,7325	0,6305	0,5450
	PA	0,9948	0,6481	0,6887	0,7016	0,7360	0,9185	0,8997
	PB	1,0035	0,6681	0,6520	0,6518	0,6896	0,9509	0,9239
	PC	0,9930	0,6776	0,6695	0,6448	0,6630	0,9511	0,9488



Příloha 11: Spektrum absorbance pro čisté poly-HEMA gely měřené na datacoloru



Příloha 12: Spektrum absorbance pro poly-HEMA gely s PSS měřené na datacoloru

Příloha 13: Tabulka hmotností vzorků gelů pro experiment č. 3 (A-stejná voda, B-vyměněná po 12 hod, C-každých 12 hod vyměněná)

Koncentrace rhodaminu		0 hod	8 hod	24 hod	36 hod	60 hod	72 hod
c [g/l]		m [g]					
0,025	1A	2,3028	2,2889	2,2963	2,3144	2,3059	2,3190
	1B	2,2343	2,2268	2,2384	2,2402	2,2438	2,2528
	1C	2,2314	2,2362	2,2400	2,2410	2,2373	2,2489
	P1A	2,2249	2,2334	2,2356	2,2362	2,2350	2,2500
	P1B	2,2598	2,2594	2,2646	2,2706	2,2734	2,2806
	P1C	2,2444	2,2453	2,2553	2,2494	2,2557	2,2729
0,05	2A	2,2792	2,2868	2,2844	2,2905	2,2915	2,3132
	2B	2,3353	2,3270	2,3359	2,3305	2,3405	2,3460
	2C	2,1848	2,1674	2,1900	2,2119	2,1949	2,2002
	P2A	2,1598	2,1698	2,1700	2,1768	2,1732	2,1842
	P2B	2,2476	2,2524	2,2587	2,2541	2,2574	2,2757
	P2C	2,2486	2,2551	2,2605	2,2632	2,2616	2,2699
0,1	3A	2,3474	2,3533	2,3544	2,3595	2,3570	2,3698
	3B	2,2430	2,2430	2,2360	2,2603	2,2517	2,2644
	3C	2,3037	2,3492	2,3099	2,3116	2,3083	2,3212
	P3A	2,2307	2,2292	2,2329	2,2396	2,2431	2,2475
	P3B	2,2644	2,2611	2,2699	2,2635	2,2675	2,2818
	P3C	2,1608	2,1660	2,1672	2,1661	2,1660	2,1716

Příloha 14: Tabulka hmotností vzorků gelu experimentu č. 4 (gel syntetizován s rhodaminem)

	0 hod	12 hod	24 hod	36 hod	48 hod	60 hod	72 hod	84 hod
	m [g]							
1A	2,0183	1,6140	1,5690	1,5497	1,5404	1,5337	1,5200	1,5200
1B	2,0564	1,7317	1,6946	1,6749	1,6691	1,6541	1,6436	1,6437
1C	2,0530	1,6715	1,6363	1,6183	1,6041	1,5995	1,5874	1,5873
P1A	1,9212	1,5581	1,5122	1,4880	1,4729	1,4686	1,4542	1,4555
P1B	2,1026	1,7291	1,6803	1,6564	1,6426	1,6311	1,6180	1,6163
P1C	2,0527	1,6698	1,6352	1,6172	1,5988	1,5865	1,5752	1,5698

Příloha 15: Tabulka koncentrací vzorků experimentu č. 5, gely bez botnění v ethanolu

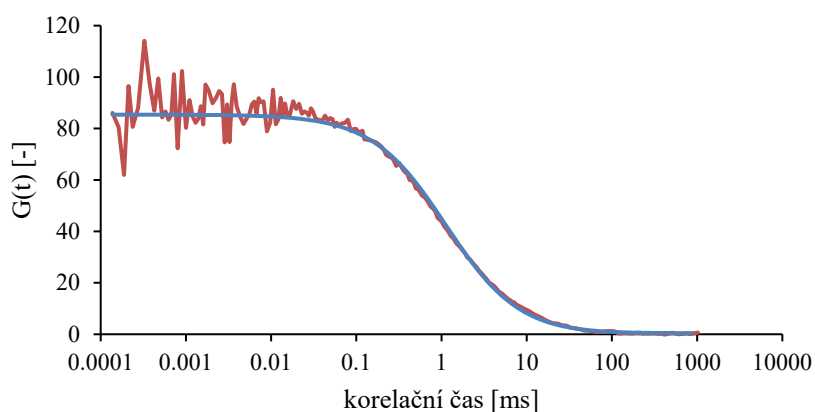
Počáteční c [g/l]	t [hod]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [µg/l]			c [µg/l]		
0,025	12	47,12	56,36	37,88	33,26	14,78	24,02
	24	70,22	51,74	51,74	47,12	42,50	37,88
	36	56,36	47,12	42,50	33,26	37,88	24,02
	48	42,50	47,12	42,50	33,26	19,40	19,40
	60	60,98	33,26	56,36	33,26	42,50	33,26
	72	56,36	37,88	47,12	33,26	28,64	28,64
0,05	12	65,60	84,08	93,32	42,50	60,98	74,84
	24	74,84	74,84	88,70	60,98	65,60	84,08
	36	51,74	51,74	56,36	47,12	47,12	60,98
	48	42,50	47,12	47,12	51,74	28,64	60,98
	60	60,98	47,12	65,60	37,88	47,12	51,74
	72	47,12	51,74	56,36	33,26	10,16	37,88
0,1	12	218,05	264,25	273,49	130,27	162,61	153,37
	24	167,23	218,05	181,09	111,79	125,65	107,17
	36	116,41	139,51	125,65	79,46	88,70	74,84
	48	84,08	88,70	93,32	47,12	60,98	60,98
	60	97,94	93,32	111,79	56,36	74,84	51,74
	72	70,22	84,08	102,55	42,50	51,74	51,74

Příloha 16: Tabulka koncentrací vzorků experimentu č. 5, gely s botněním v ethanolu

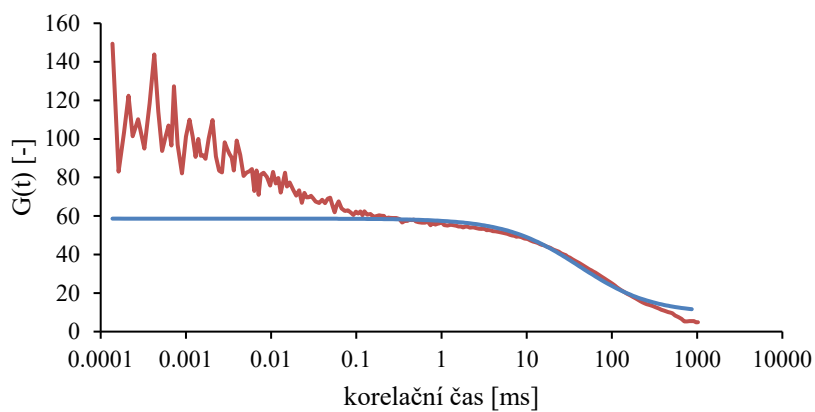
Počáteční c [g/l]	t [hod]	Pole-HEMA			Poly-HEMA+PSS		
		1	2	3	1	2	3
		c [µg/l]			c [µg/l]		
0,025	12	33,26	19,40	24,02	14,78	10,16	19,40
	24	33,26	14,78	24,02	14,78	19,40	5,54
	36	28,64	14,78	19,40	14,78	24,02	5,54
	48	24,02	24,02	24,02	14,78	19,40	10,16
	60	14,78	19,92	19,92	10,69	15,69	6,31
	72	28,64	19,40	19,40	14,78	19,40	10,16
0,05	12	37,88	28,64	47,12	24,02	14,78	33,26
	24	37,88	37,88	42,50	24,02	14,78	14,78
	36	47,12	42,50	47,12	14,78	24,02	14,78
	48	28,64	33,26	37,88	10,16	14,78	10,16
	60	24,78	28,64	24,78	28,64	19,40	24,02
	72	28,64	33,26	28,64	14,78	5,54	10,16
0,1	12	144,14	153,38	167,23	51,74	60,98	47,12
	24	153,38	139,52	157,99	42,50	51,74	37,88
	36	171,86	130,28	157,99	33,26	51,74	37,88
	48	130,28	107,18	116,42	33,26	33,26	28,64
	60	102,56	84,08	93,32	19,92	11,54	14,16
	72	111,80	97,94	97,94	24,02	19,40	24,02

Příloha 18: Tabulka hodnot difúzních koeficientů při měření FCS

		D [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]	$\pm\text{Err}$
vymývání voda	HEMA	0,21	0,01
	HEMA + PSS	0,38	0,03
vymývání EtOH	HEMA	0,36	0,01
	HEMA + PSS	0,28	0,01
po 24 hod ve vodě	HEMA	0,17	0,01
	HEMA + PSS	0,15	0,01
	HEMA + EtOH	0,16	0,01
	HEMA neobarvená	0,33	0,03
čerstvé vzorky	HEMA neobarvená	21,00	0,38
	HEMA + rh 10^{-10}	26,00	0,27
	HEMA + rh 10^{-8} hned	5,90	0,11
	HEMA + rh 10^{-8} 10 s	12,00	0,23
	HEMA + rh 10^{-8} minuta	9,40	0,18
	HEMA + PSS neobarvené	24,00	0,50



Příloha 17: Korelační křivka pro čerstvě připravené vzorky



Příloha 19: Korelační křivka pro vzorky, které prošly procesem vymývání