



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

CHARAKTERIZACE MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ SEMI-IPN HYDROGELŮ NA BÁZI POLY(VINYLALKOHOLU)

CHARACTERIZATION OF MECHANICAL PROPERTIES OF SEMI-IPN HYDROGELS BASED ON POLY(VINYLALCOHOL)

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jiří Příbyl

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1851/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Bc. Jiří Příbyl**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Procesy a materiály medicínských aplikací
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Charakterizace mechanických vlastností semi-IPN hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu)

Zadání diplomové práce:

- 1) Vypracovat literární rešerši na problematiku přípravy hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu) a definování způsobů cílené modifikace mechanických vlastností těchto materiálů přidáváním vhodných biokompatibilních biopolymerů metodou semi-IPN.
- 2) Na základě literární rešerše zvolit vhodné zástupce biopolymerů pro následné experimentální posouzení vlivu jednotlivých aditiv na mechanické vlastnosti poly(vinylalkoholových) hydrogelů.
- 3) Pro uvedenou sadu vzorků hydrogelů definovat a optimalizovat způsoby charakterizace vlivu přídatku zvolených aditiv na mechanické vlastnosti hydrogelů. Prostudovat mechanické vlastnosti těchto materiálů s ohledem na kompozice a základní změny ve struktuře studovaných hydrogelů. Porovnat tyto výstupy s daty pro nemodifikované PVA hydrogely.
- 4) Vlastní laboratorní experimenty a diskuze jednotlivých naměřených dat s ohledem na vzájemný vztah kompozice – struktura – mechanické vlastnosti hydrogelu.

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Jiří Příbyl
student

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá problematikou mechanických vlastností semi-IPN hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu). Připravené poly(vinylalkohol) hydrogely byly modifikovány přidavkem alginátu sodného, dextranu, DEAE-dextranu, chitosanu a poly(ethylenglykol). Následně byly mechanické vlastnosti připravených hydrogelů studovány za využití oscilačních amplitudových reologických test, dynamické mechanické analýzy, bobtnacích experimentů a sušících charakteristik. Mikrokolorimetrie byla využita pro posouzení interakcí mezi poly(vinylalkoholem) a biopolymery a v neposlední řadě byla morfologie připravených hydrogelů vizualizována za pomoci kryo-SEM. Hlavní předpoklad pro semi-IPN hydrogely je fakt, že dochází k minimálnímu ovlivnění mechanických vlastností, ale vede k modifikaci vazebných míst obsažených ve struktuře hydrogelu, což má velký potenciál při transportních vlastnostech. Z experimentálních výsledků byly stanoveny vlivy jednotlivých biopolymerů na mechanické vlastnosti. Ze získaných výsledků bylo patrné, že přísady biopolymerů nemají významný vliv na mechanické vlastnosti poly(vinylalkoholových) hydrogelů, avšak v případě bobtnacích experimentů dochází k významnému vlivu počtu cyklů mražení/tání, iontové síly prostředí a použitého biopolymeru.

ABSTRACT

This diploma thesis deals with the issue of mechanical properties of semi-IPN hydrogels based on poly(vinylalcohol). The prepared poly(vinylalcohol) hydrogels were modified by the addition of sodium alginate, dextran, DEAE-dextran, chitosan, and poly(ethyleneglycol). The mechanical properties were studied by various methods, such as the oscillatory amplitude rheological test, dynamic mechanical analysis, swelling experiments and drying characteristics. Microcalorimetry was used to study the interactions between poly(vinylalcohol) and biopolymers in solution using the ITC method and the morphology of prepared hydrogels was visualized using cryo-SEM. The main concept for semi-IPN hydrogels is that there is minimal influence on the mechanical properties but leads to the modification of the binding sites present in the hydrogel structure, which has a high potential in transport properties. From the experimental results, the effects of each biopolymer on the mechanical properties were determined. The obtained results showed that the additions of biopolymers do not have a significant impact on the mechanical properties of PVAI hydrogels, but in the case of swelling experiments, there is a significant influence of the number of freezing/thawing cycles, ionic strength of the environment, and the used biopolymer.

KLÍČOVÁ SLOVA

PVAI hydrogely, mechanické vlastnosti, reologie, bobtnání, mikrokolorimetrie, kryo-SEM

KEYWORDS

PVAI hydrogels, mechanical properties, rheology, swelling, microcalorimetry, cryo-SEM

PŘIBYL, Jiří. Charakterizace mechanických vlastností semi-IPN hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu). Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148074>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

Bc. Jiří Příbyl

Poděkování:

Na tomto místě bych velmi rád poděkoval vedoucímu mé diplomové práce, Ing. Michalu Kalinovi, Ph.D. za jeho čas, který mi věnoval při konzultacích, odborné vedení, cenné rady, a především za jeho trpělivost. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D. a Ing. Jitce Krouské, Ph.D. za pomoc při řešení experimentální části diplomové práce. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům za podporu během studia.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teorie	9
2.1	Hydrogely	9
2.1.1	Klasifikace hydrogelů	9
2.1.2	Gelace.....	11
2.1.3	Vlastnosti hydrogelů	14
2.1.4	Aplikace hydrogelů	17
2.2	Reologie.....	18
2.2.1	Co to je reologie?	18
2.2.2	Model paralelních desek.....	19
2.2.3	Tokové chování	20
2.2.4	Tixotropie a reopexie	22
2.2.5	Viskoelastické látky	23
2.2.6	Měření reologických vlastností	25
2.3	Poly(vinylalkohol).....	28
2.3.1	Vlastnosti PVAI.....	28
2.3.2	Syntéza PVAI	29
2.3.3	Příprava PVAI hydrogelů	30
2.4	Biopolymery využívané v diplomové práci	32
2.4.1	Alginát sodný	32
2.4.2	Poly(ethylenglykol).....	32
2.4.3	Dextran	32
2.4.4	Diethylaminoethyl dextran.....	33
2.4.5	Chitosan.....	33
3	Současný stav řešené problematiky.....	34
4	Cíle experimentální části	37
5	Experimentální část	38
5.1	Použité chemikálie	38
5.2	Použité laboratorní zařízení a přístroje.....	38
5.3	Příprava hydrogelů	38

5.4	Mechanické charakteristiky hydrogelů	39
5.4.1	Reologie	39
5.4.2	Dynamická mechanická analýza	41
5.5	Bobtnání hydrogelů	43
5.6	Sušení	43
5.7	Mikrokalorimetrická charakterizace interakcí mezi PVA a biopolymery.....	43
5.8	Kryo-SEM vizualizace morfologie hydrogelů	45
6	Výsledky a diskuze.....	46
6.1	Mechanické charakteristiky hydrogelů	46
6.1.1	Vliv počtu cyklů.....	47
6.1.2	Vliv teploty při procesu mražení.....	48
6.1.3	Vliv přídavku biopolymeru – reologie	48
6.1.4	Vliv přídavku biopolymeru – DMA.....	52
6.2	Botnání hydrogelů	54
6.2.1	Vliv počtu cyklů.....	54
6.2.2	Vliv iontové síly prostředí.....	56
6.2.3	Vliv přídavku biopolymeru	58
6.3	Sušící charakteristiky hydrogelů	59
6.4	Mikrokalorimetrická charakterizace interakcí mezi PVA1 a biopolymery.....	62
6.5	Kryo-SEM vizualizace morfologie hydrogelů	64
7	Závěr.....	66
8	Zdroje	68
9	Seznam použitých zkratk.....	77
9.1	Použité zkratky	77
9.2	Použité symboly	77
10	Přílohy	5

1 ÚVOD

Hydrogely v průběhu posledních let přitahují stále více pozornosti kvůli svým rozmanitým aplikacím v různých oblastech od tkáňového inženýrství přes podávání léků až po obvazové materiály.

Samotné hydrogely jsou trojrozměrné zesíťované struktury polymerních řetězců, které jsou schopné absorbovat velké množství vody nebo biologických tekutin. Hydrogely patří mezi první biomateriály, které byly navrženy pro použití v lidském těle, a to především z důvodů jejich vysoké biokompatibility. Během posledních let se oblast hydrogelových biomateriálů rychle rozvíjí, zejména díky pokroku v technologickém vývoji a významnému využití v různých odvětvích a aplikacích, avšak mnoho hydrogelových materiálů postrádá požadované vlastnosti. U syntetických polymerních hydrogelů lze vlivem řízení procesu gelace a volbou vhodných polymerů dosáhnout významného ovlivnění mechanických vlastností, což umožní jejich vhodnější aplikaci. Poté máme skupinu přírodních polymerů, které vykazují celou řadu specifických vlastností. Příkladem je kolagen a kyselina hyaluronová, což jsou látky podporující vrůstání a obnovu tkání. Také některé přírodní polysacharidy jako chitosan vykazují antibakteriální aktivitu, která je žádoucí pro obvazové materiály. Z těchto důvodů je příprava směsných hydrogelů na bázi syntetických polymerů jako je poly(vinylalkohol) (PVAI) a přírodních polymerů například chitosanu, dextranu nebo kyseliny hyaluronové velmi zajímavá z hlediska vývoje nových hydrogelových materiálů, které mohou vést k přesnějším a výhodnějším aplikacím v biomedicinském odvětví.

PVAI hydrogely a jejich modifikace mají celou škálu využití. V oblasti biomedicinských aplikací můžeme modifikované PVAI hydrogely použít na řešení velkého množství praktických problémů. Jednou z aplikací je využití PVAI hydrogelů modifikovaných přísadkou želatiny jako náhradu kloubních chrupavek kvůli vhodným elastickým vlastnostem PVAI/želatina hydrogelu. Další aplikací je využití PVAI hydrogelů jako obvazových materiálů, kdy se k modifikaci využívá polysacharid chitosan. Existují další aplikace, ale všechny PVAI hydrogely modifikované pomocí různých biopolymerů spojuje několik problémů, které souvisejí s tím, že přísadky biopolymerů k PVAI hydrogelu nejsou aditivní a ať už různé množství, koncentrace nebo druhy biopolymeru (dokonce i různé molekulové hmotnosti či stupeň deacetylace stejného druhu biopolymeru) nám dokážou výrazně změnit mechanické vlastnosti modifikovaného hydrogelu. Proto je velmi důležité prostudovat a pochopit vliv přísadky různých biopolymerů na mechanické vlastnosti hydrogelu. Následné porozumění a pochopení jakým způsobem dochází k ovlivnění mechanických vlastností nám umožní širší aplikaci daných hydrogelů.

2 TEORIE

2.1 Hydrogely

Hydrogely jsou přírodní nebo syntetické materiály, které vykazují všestranné chemické, fyzikální nebo biologické vlastnosti. Jedná se o trojrozměrné sítě, které vznikají fyzikálním nebo chemickým zesílením polymeru se schopností pojmout velké množství vody. Tyto materiály bobtnají nebo se smršťují v reakci na absorpci nebo desorpci vody, kdy mohou pojmout vysoké množství vody, aniž by ztratily svůj původní tvar [1,2].

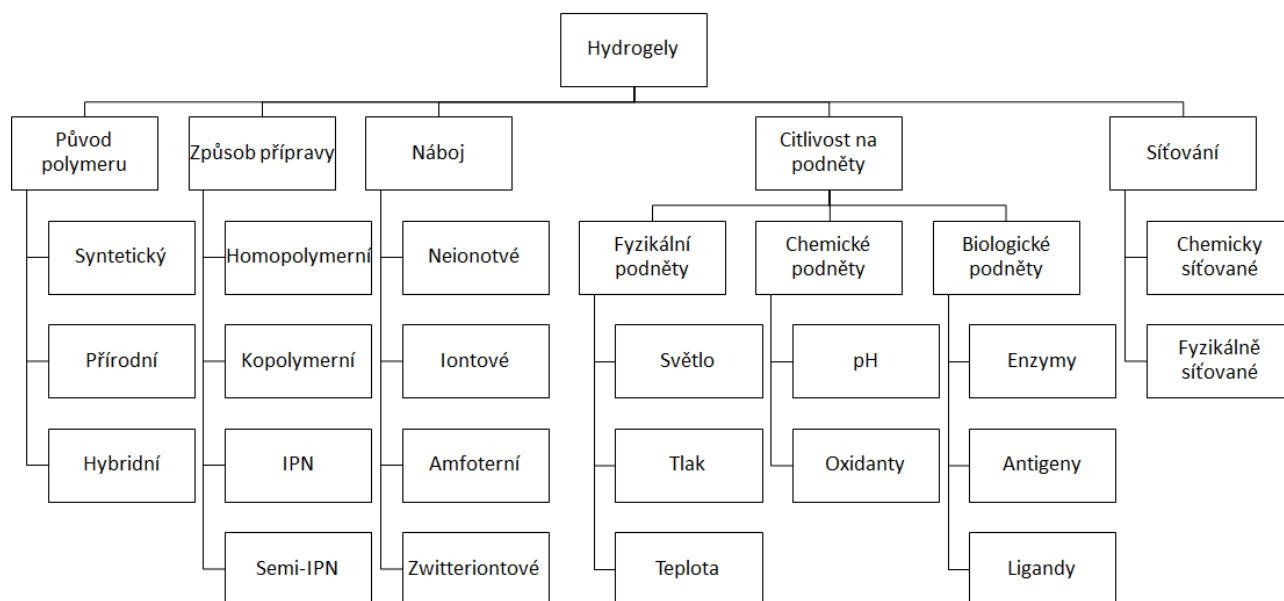
Schopnost hydrogelů zadržovat vodu ve své struktuře je dána především přítomností hydrofilních skupin (amidové, aminové, karboxylové, hydroxylové a další.) na polymerních řetězcích. Schopnost zadržovat vodu, tedy bobtnat, můžeme ovlivňovat složením polymeru, hustotou a povahou vazeb v gelové struktuře. Samotný obsah vody v hydrogelu určuje jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, které se mohou podobat vlastnostem živých tkání více než jakékoliv jiné biokompatibilní materiály. I přes vysoké množství vody ve struktuře hydrogelu nedochází k rozpouštění polymeru. To je způsobeno přítomností vazeb mezi jednotlivými řetězci polymeru, který stabilizují strukturu vzniklého hydrogelu [1,3].

Tato třída materiálu kombinuje mnoho výhod jako je biokompatibilita, biologická degradace, nízká cytotoxicita, snadná aplikace, nastavitelné mechanické vlastnosti, vysoký obsah vody a chemické a biologická odezva na podněty.

V posledních letech se zájem o hydrogelové systémy značně zvýšil, což dokládá exponenciální nárůst publikací na toto téma. Na portálu *web of science* došlo za posledních pět let k publikování více článků než ve všech předchozích letech. Zájem o tuto oblast stále narůstá, a to i přes fakt, že s termínem „hydrogel“ se setkáváme již na konci 19. století, avšak v tomto období měl pojem hydrogel rozdílný význam než dnes a popisoval nám koloidní gel, který byl připraven z anorganických solí. Na první hydrogelový systém s typickými vlastnostmi jsme si museli počkat až do roku 1960, kdy publikoval svou práci O. Wichterle a D. Lím. V jejich práci byl použit polymer poly(2-hydroxymethylmethakrylát) (polyHEMA), který byl síťován pomocí chemických činidel za vzniku měkkého, vodou nabobtnalého, elastického a čirého gelu, který našel uplatnění v biomedicínských aplikacích jako oční čočky. Po publikaci jejich práce došlo ke zvýšení zájmu o hydrogely a jejich využití v biomedicínských aplikacích [4,5].

2.1.1 Klasifikace hydrogelů

Hydrogely lze rozdělit na základě různých parametrů. Klasifikujeme je dle původu použitého polymeru, způsobu přípravy hydrogelu, náboje polymerní sítě, citlivosti na podněty a na základě způsobu vzniku polymerní sítě. Podrobnější klasifikace je schematicky zobrazena na obrázku 1 [6].



Obrázek 1: Schematická klasifikace hydrogelů [6]

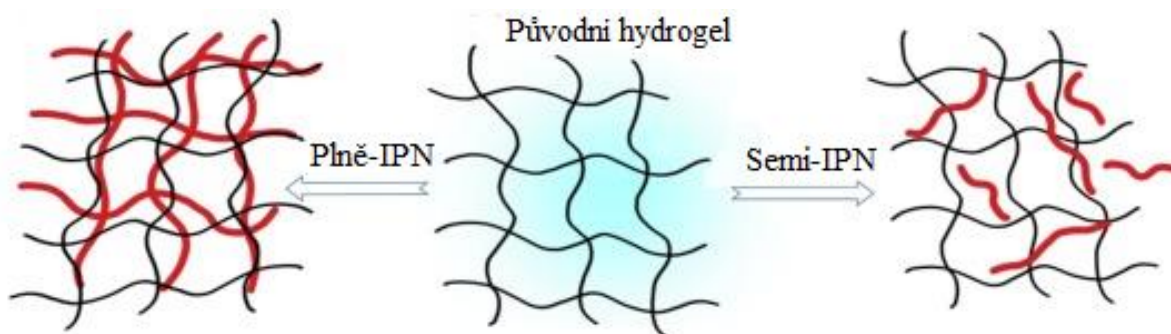
Podle původu polymeru, ze kterého je daný hydrogel připraven můžeme hydrogely rozdělit na tři hlavní skupiny, a to na polymery syntetického nebo přírodního původu a na hydrogely, které ve své síti kombinují jak přírodní, tak syntetický polymer. Přírodní polymery lze rozdělit na polysacharidy (např. alginát a chitosan) a proteiny (např. kolagen a želatina). Hydrogely připravené z těchto polymerů mají biokompatibilní, biodegradabilní a netoxické vlastnosti, které je předurčují k využití v biomedicínských aplikacích. Avšak mezi jejich hlavní nevýhody, které významně snižují aplikační využití těchto materiálů patří nízká mechanická odolnost vůči namáhání a velmi nízká opakovatelnost přípravy těchto hydrogelů se stejnými vlastnostmi [7,8].

Syntetické polymery jsou připraveny chemickou reakcí monomerů. Hydrogely na bázi syntetických polymerů vykazují silnou absorpci vody a vynikající mechanické vlastnosti, které lze navíc velmi snadno cíleně modifikovat. Syntetické polymery mají v porovnání s přírodními polymery o poznání horší biodegradabilní, biokompatibilní vlastnosti a často jsou toxické, což snižuje jejich využití v biomedicínských aplikacích. Příkladem syntetických polymerů, ze kterých lze připravit hydrogelové systémy je poly(ethylenglykol), poly(akrylamid) nebo také poly(vinylalkohol) [8].

Poslední skupinu označujeme jako hybridní hydrogely. Tato skupina materiálů je tvořena kombinací různých typů síťování, kdy se často využívá jak fyzikálního, tak chemického síťování pro tvorbu trojrozměrné sítě. Pro tuto třídu materiálů je běžné kombinovat syntetické a přírodní polymery. Hybridizace syntetických a přírodních polymerů v jedné hydrogelové síti vede ke vzniku nové třídy hydrogelů, které kombinují výhodné vlastnosti předchozích skupin. Hybridní hydrogely vykazují oproti jednosložkovým hydrogelům zlepšené mechanické vlastnosti a biokompatibilitu, které blíže splňují vlastnosti pro požadované biomedicínské vlastnosti. To je způsobeno rozdílným způsobem síťování a kombinací syntetických a přírodních polymerů [9,10].

Na základě způsobu interakce jednotlivých základních strukturních (monomerních) jednotek lze hydrogely rozdělit na homopolymerní, kopolymerní a multipolymerní hydrogely. Jako homopolymerní hydrogely označujeme hydrogely, u kterých trojrozměrnou síť tvoří pouze jeden druh monomeru a nezávisí na druhu zesítnění. Struktura těchto hydrogelů je závislá pouze na povaze monomeru, polymerační technice a způsobu zesítnění. Do této skupiny můžeme zařadit hydrogely na bázi PVAI. Kopolymerní hydrogely se na druhou stranu skládají ze dvou typů monomeru z nichž aspoň jeden musí být hydrofilní povahy, aby byla zachována schopnost hydrogelu bobtnat ve vodném prostředí. Monomery následně mohou být uspořádány do několika možných konfigurací jako je blokové, statické nebo střídavé [10,11].

Interpenetrující polymerní sítě (IPN) jsou třídou materiálů složených alespoň ze dvou chemicky odlišných, ale kompatibilních polymerů, které jsou smíchány bez jakékoliv separace fází. IPN hydrogely můžeme rozdělit na plně-IPN a semi-IPN. U plně-IPN hydrogelů jsou oba polymery plně zesíťovány a ve struktuře hydrogelu vytváří dvě plnohodnotné trojrozměrné sítě, které nejdou od sebe separovat, protože dochází ke vzniku slabých nekovalentních vazeb mezi jednotlivými sítěmi. Zatímco u semi-IPN hydrogelů vytváří trojrozměrnou síť pouze jeden z polymerů a druhý je ve struktuře hydrogelu jenom zachycen [12,13].



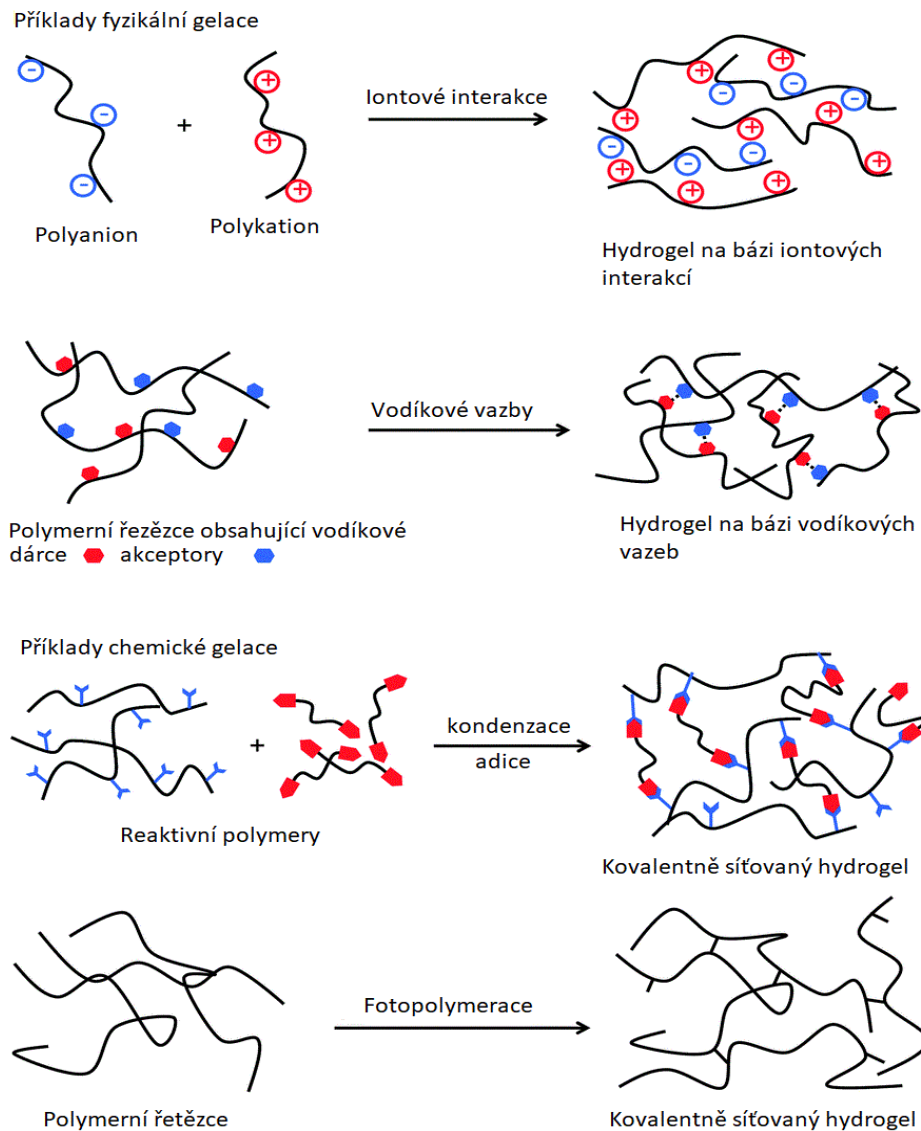
Obrázek 2: Schématické znázornění semi-IPN a IPN hydrogelů [12]

Hydrogely lze rozdělit na základě elektrického náboje přítomného na zesíťovaných řetězcích polymeru do čtyř základních skupin neiontové, iontové, amfoterní a zwitteriontové. Neiontové hydrogely neobsahují náboj na hlavním řetězci ani na postranních skupinách. Iontové hydrogely ve své struktuře obsahují nabitě skupiny například aminové nebo karboxylové. Další skupinou jsou hydrogely amfoterní, které ve své struktuře obsahují jak kyselé, tak bazické skupiny. Zwitteriontové hydrogely obsahují ve struktuře aniontové i kationtové skupiny [14].

2.1.2 Gelace

Proces, při kterém dochází ke vzniku trojrozměrné sítě hydrogelu se nazývá gelace. Tento proces vede ke vzniku uzlů mezi jednotlivými stavebními komponentami, čímž vzniká gelová struktura. Gelace může probíhat jedním z těchto tří mechanismů: změnou fyzikálního stavu, chemickou reakcí nebo bobtnáním xerogelu za přítomnosti vhodného rozpouštědla. Na základě sil, které jsou zodpovědné za vznik uzlů v trojrozměrné síti rozlišujeme dva základní druhy hydrogelů (chemicky a fyzikálně síťované). U chemicky síťovaných hydrogelů dochází ke vzniku kovalentní vazby mezi jednotlivými polymerními řetězci, a to vede ke vzniku hydrogelů s kontrolovaným a řízeným postupem zesíťování a lepším mechanickým vlastnostem než

u fyzikálně síťovaných hydrogelů. O druhou skupinu hydrogelů je zvýšený zájem především kvůli schopnosti vytvořit hydrogel bez přítomnosti síťovacího činidla. U této skupiny dochází ke vzniku slabých vazebných interakcí jako jsou van der Waalsovy síly, vodíkové můstky, iontové interakce a další. Na obrázku 3 můžeme vidět příklady ilustrující vybrané postupy gelace hydrogelu [15,16].



Obrázek 3: příklady fyzikálně a chemicky síťovaných hydrogelů [22]

Fyzikálně síťované hydrogely

Fyzikálně síťované hydrogely jsou založeny na vzniku slabých vazebných interakcí jako jsou vodíkové vazby, hydrofobní interakce, iontové asociace, vznik komplexu *host-guest*, koordinace kovů a zapletení polymerů. Tyto interakce tvoří spoje v trojrozměrné síti hydrogelu. Z důvodu reverzibility a nízké pevnosti spojů v síti jsou fyzikální hydrogely obecně slabé a málo stábe a pod vlivem určitých vnějších fyzikálních podnětů nebo při působení mechanické síly dochází k rozpadu hydrogelu. Jejich nižší mechanické vlastnosti vyvažuje vysoká biokompatibilita a biodegradabilita. Většina postupů přípravy fyzikálně síťovaných hydrogelů

vychází z vodných roztoků hydrofilních polymerů, které jsou buď zahřívány, ochlazovány nebo ponechány při pokojové teplotě, aby došlo k samovolnému uspořádání polymerních řetězců do trojrozměrné sítě. Jiné přístupy využívají k tvorbě hydrogelů změnu pH nebo polyelektrolyty s opačnými náboji [17,18].

Jedním z přístupů, jak připravit fyzikálně síťovaný hydrogel je metoda mražení a tání. U této metody dochází ke vzniku trojrozměrné sítě vlivem opakování cyklů mražení a tání, kdy v roztoku polymeru vznikají mikrokrystalky ledu, které přitlačí jednotlivé polymerní řetězce k sobě, a to vede ke vzniku slabých vazebných interakcí mezi jednotlivými řetězci [11].

Další metoda přípravy fyzikálně síťovaných hydrogelů je založena na vzniku vodíkových vazeb mezi jednotlivými řetězci polymeru. Tyto vazby vznikají nejčastěji mezi vodíkem, kyslíkem a dusíkem. Trojrozměrná síť vzniká z monomerů obsahujících funkční skupiny jako je amidová, karboxylová, pyrrolová, hydroxylová a dalších podobné. Takto lze například připravit hydrogel na bázi poly(akrylové) kyseliny a poly(metakrylové) kyseliny, které tvoří komplex s poly(ethylenglykolem). Tyto komplexy jsou drženy na základě vodíkových vazeb. Bobtnání takto připravených hydrogelů je velmi závislé na pH [19,20].

Velmi často se k vytvoření hydrogelu využívají iontové interakce, kdy vzniká interakce mezi dvěma různě nabitými částicemi. Například alginát je jedním z polymerů, který lze zesítovat na základě iontových interakcí. Samotný proces gelace může probíhat při pokojové teplotě a za fyziologického pH, kdy se k roztoku alginátu přidá dvojmocný kationt jako je vápník, hořčík, popřípadě baryum. Jednotlivé kationty se mohou vázat pouze na guluranové bloky obsažené v alginátu. Tyto guluranové bloky jsou následně spojeny přes kationt s bloky obsažené v dalším polymerním řetězci alginátu, což vede ke vzniku gelové struktury. Je zajímavé, že v případě, kdy odebereme pomocí chelatačního činidla Ca^{2+} ionty dojde k destabilizaci a rozpadu gelové struktury [19,20].

Chemicky síťované hydrogely

Druhým typem hydrogelů jsou chemicky síťované. Pro vznik tohoto druhu hydrogelů se využívá chemické gelace, která je založena na kovalentních vazbách mezi jednotlivými řetězci polymeru. Pro vznik kovalentních vazeb se využívají konvenční polymerační techniky jako je radikálová polymerace monomerů nebo polymerních řetězců, kondenzační nebo adiční reakce reaktivních molekul jako je amidace, esterifikace, thioesterifikace, Michaelova adice, nebo také může docházet k zesílení na základě enzymatických reakcí. Velmi často se k přípravě chemicky síťovaných hydrogelů využívá síťovacích činidel jako jsou aldehydy, boritany a další. Hydrogely připraveny pomocí chemického zesílení jsou mnohem stabilnější vůči teplotním změnám a mechanickému nebo jakémukoliv jinému působení. Pomocí těchto metod lze také připravit hydrogely s lépe definovanou strukturou a vysokou reprodukovatelností [21,22].

Nejčastěji používanou metodou pro přípravu chemicky síťovaných hydrogelů je využití síťovacích činidel, kdy dochází ke vzniku kovalentní vazby mezi polymerem a síťovacím činidlem ve vhodném rozpouštědle. Síťovací činidla bývají zpravidla nízkomolekulární sloučeniny, které obsahují alespoň dvě reaktivní funkční skupiny, které umožňují vznik kovalentní vazby mezi polymerem a síťovacím činidlem. Jednou z forem zesílení je vazba mezi

aldehydovými skupinami a aminoskupinami za vzniku Schiffovy báze (organické sloučeniny, které ve své struktuře obsahují iminovou skupinu ($-C=N-$) a vznikají reakcí aldehydů nebo ketonů s primárními aminy). Jedná se například o reakci glutaraldehydu s aminoskupinami obsažených v chitosanu [23].

Další metodou je radikálová polymerace, která umožňuje generování volných radikálů v důsledku změny teploty, působením záření (viditelné světlo, UV) nebo redoxní reakcí. Pro přípravu hydrogelů se nejčastěji využívá jako spouštěcí podnět světlo, tuto metodu pak označujeme jako fotopolymerizace. Mezi hlavní výhody této metody patří schopnost prostorové a časové kontroly vzniku hydrogelu a možnost provádět tuto metodu ve fyziologických podmínkách. Abychom mohli použít fotopolymeraci musí daný polymer obsahovat fotosenzitivní funkční skupiny. Po připojení fotosenzitivních funkčních skupin k polymeru můžeme vyvolat proces síťování po ozáření světlem. Pomocí této metody můžeme připravit hydrogely na bázi chitosanu, kdy do struktury chitosanu začleníme azidové skupiny, které po vystavení světelným paprskům přechází na nitrilovou skupinu, která následně reaguje s aminoskupinami chitosanu, což vede ke vzniku hydrogelu [23,24].

Relativně novým přístupem pro přípravu chemicky síťovaných hydrogelů je enzymatické zesíťování. Využívá se především jako vhodná alternativa k tradičně používaným chemickým síťovacím činidlům. Jelikož enzymy fungují za fyziologických podmínek, jsou vhodné pro biokompatibilní vznik hydrogelů. Enzymy pro tvorbu hydrogelů lze využít dvěma způsoby. Prvním způsobem jsou enzymy použity jako prostředek pro generování iniciátorů pro radikálovou polymerizaci hydrogelových prekurzorů *in situ*. A druhým způsobem je využití enzymů jako katalyzátorů za účelem vzniku specifické kovalentní vazby mezi dvěma vzájemně reaktivními funkčními skupinami obsažených v polymerech, ze kterých vzniká hydrogel. Pomocí enzymatické reakce můžeme připravit hydrogely na bázi polysacharidů za použití křenové peroxidázy v přítomnosti peroxidu vodíku [22,23,24].

2.1.3 Vlastnosti hydrogelů

Jak už bylo zmiňováno výše, tak hydrogely jsou složeny z disperzního podílu, který představuje vybraný polymer a z disperzního prostředí, který je reprezentován vhodným rozpouštědlem obvykle vodou. I když je hydrogel tvořen hlavně kapalnou fází (disperzní prostředí) jedná se o koloidní systémy s viskoelastickými vlastnostmi. Schopností zachovat a udržet svůj tvar připomínají pevné látky, což je způsobeno jejich strukturou, kterou definují vazby mezi jednotlivými řetězci. Pro určení fyzikálních vlastností hydrogelu je důležité znát povahu interakce, a to, zda se jedná o slabé nekovalentní vazby nebo o silné kovalentní. Pro určení fyzikálních vlastností nestačí pouze znalost povahy interakce, ale také je důležité znát jejich počet a hustotu síťování. Mezi sledované fyzikální vlastnosti patří bobtnání hydrogelu, mechanické vlastnosti nebo difúzní koeficient, jelikož na základě znalosti těchto vlastností jsme schopny zvolit správný hydrogel pro danou aplikaci [25,26].

Jednou ze zajímavých vlastností hydrogelů je synergeze, která má blízký vztah ke stárnutí gelu. Tuto vlastnost můžeme popsat jako schopnost hydrogelové sítě se smršťovat do menšího objemu, přičemž dochází k vytlačení rozpouštědla ze své struktury. Tato vlastnost je typická pro nově připravené hydrogely, které ještě nedosáhly termodynamické rovnováhy. Také to

může být způsobeno tvorbou nových vazeb ve struktuře hydrogelu, kdy dojde k reorganizaci polymerních řetězců tak aby dosáhly, co možná nejnižší energie [27].

Mechanické vlastnosti

Pro využití hydrogelů v různých odvětví jako jsou biomedicínské nebo farmaceutické disciplíny je důležité pochopit vztah mezi strukturou hydrogelu a jeho mechanickými vlastnostmi. Tyto vlastnosti jsou velmi závislé na mnoha faktorech jako je použitý polymer, koncentrace polymeru v rozpouštědle, druh zesíťování, počet a hustota vazeb, které vytváří trojrozměrnou síť hydrogelu. Z toho důvodu je velmi důležité prostudovat a pochopit vztah a vliv jednotlivých faktorů na mechanické vlastnosti. S mechanickými vlastnostmi hydrogelů je běžně spojována viskoelastická, kdy daný hydrogel reaguje na aplikované vnější mechanické namáhání. V případě, že na hydrogel aplikujeme nízké mechanické namáhání, tak hydrogel reaguje elasticky a dokáže si udržet svůj tvar – chová se jako pevná látka. Avšak pokud dojde ke zvýšení mechanického namáhání do takové míry, že dochází k rozpadu vazeb, které tvoří síť hydrogelu začne hydrogel „téct“, tedy vykazuje chování kapaliny [28,29].

U některých hydrogelových systémů můžeme pozorovat tixotropii. Jedná se o mechanickou vlastnost, která popisuje časově závislé chování hydrogelových systému na aplikované mechanické namáhání. Při tixotropii dochází vlivem mechanického namáhání k poklesu viskozity, což je způsobeno zánikem vazeb tvořících trojrozměrnou síť a hydrogel přechází v systém podobný roztok. Po odstranění působící vnější síly však dochází k obnově vazeb, které zanikly vlivem mechanického namáhání, a dochází ke vzniku původní formy hydrogelu. Proces, při kterém dochází k obnově původního stavu také můžeme nazvat jako samoléčení hydrogelu [30].

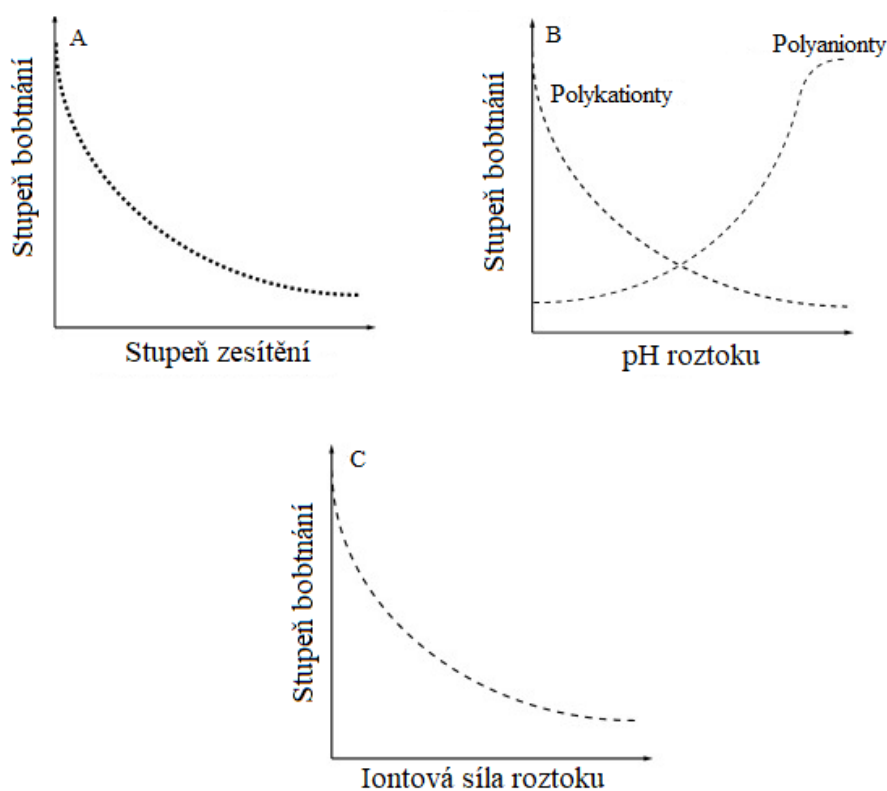
Bobtnání

Hydrogely mohou absorbovat velké množství vody nebo biologických tekutin prostřednictvím hydrofilních skupin obsažených v chemické struktuře polymeru. Tento proces nazýváme jako bobtnání a je klíčový pro celou řadu aplikací. Bobtnání hydrogelů ve vodném prostředí je řízeno několika parametry jako je struktura hydrogelu a parametry prostředí. U struktury hydrogelu velmi záleží na druhu použitého polymeru, počtu hydrofilních skupin vázaných na řetězci polymeru, hustotě a druhu zesíťování a na hustotě náboje v polyelektrolytových hydrogelech. V případě parametrů prostředí je velmi důležitá hodnota pH a iontová síla roztoku, v kterém daný hydrogel bobtná. Na obrázku 4 můžeme vidět závislost stupně bobtnání (SB) na různých parametrech (stupeň zesíťování, pH roztoku a iontová síla roztoku). Faktor, který nejvíce ovlivňuje stupeň bobtnání, je množství vazeb ve struktuře hydrogelu. Obecně platí, že čím více je hydrogel zesíťován tím má menší schopnost vázat vodu, tedy bobtnat. Již byl zmíněn stupeň bobtnání, který nám charakterizuje schopnost bobtnat a je dán rovnicí (1):

$$SB(\%) = \frac{m_s - m_d}{m_d} \cdot 100 \quad (1)$$

kde m_s představuje hmotnost nabobtnalého hydrogelu a m_d je hmotnost suchého hydrogelu. Čím větších hodnot nabývá stupeň bobtnání, tím hydrogel lépe absorbuje vodu do své struktury [31,32].

Pro některé aplikace je důležité, jaký charakter má disperzní prostředí, které je zastoupené v hydrogelech (zde se jedná o vodu), ať už se jedná například o enkapsulaci léčiv do struktury hydrogelu nebo naopak o uvolnění látek z hydrogelu. Vodu v těchto systémech můžeme rozdělit do tří skupin, a to na vodu primárně vázanou, sekundárně vázanou a na takzvanou volnou nebo objemovou vodu. Primárně vázaná voda je ta, která přichází do kontaktu se suchým gelem (xerogelem) a hydratuje první hydrofilní skupiny. To vede k bobtnání hydrogelu, což odhaluje další skupiny, které mohou interagovat s molekulami vody. Tyto molekuly vody jsou již sekundárně vázané. Primárně a sekundárně vázaná voda se často souhrnně nazývá celkově vázaná voda. Poté co všechny skupiny interagují s molekulami vody dojde k nasátí vody do trojrozměrné sítě hydrogelu vlivem osmotické hnací síly řetězců směrem k nekonečnému zředění. Tomuto dodatečnému bobtnání se na odpor staví vazby mezi jednotlivými řetězci polymeru, což vede k zastavení bobtnání a dosažení rovnovážného stavu, kdy hydrogel už dále do své struktury neabsorbuje další vodu. Voda, která je navázána do struktury hydrogelu poté co byly obsazeny všechny možné funkční skupiny se nazývá jako voda volná neboli objemová. Předpokládá se, že tento druh vody vyplňuje prostor mezi řetězci polymeru [33].



Obrázek 4: Faktory ovlivňující bobtnání. A) Stupeň zesítnění B) pH roztoku C) Iontová síla roztoku [32]

2.1.4 Aplikace hydrogelů

Hydrogelové materiály mají uplatnění v celé řadě technologických odvětví jako je medicína, zemědělství, nebo potravinářský průmysl. To je způsobeno jejich specifickými strukturami a kompatibilitou s různými prostředími, ve kterých lze hydrogely použít. Podobnost hydrogelových systému k živým tkáním předurčuje aplikaci hydrogelů především ve farmaceutickém nebo biomedicínském průmyslu jako například nosiče léčiv, biosenzory, materiály pro výrobu čoček, popřípadě jako materiály pro tkáňové inženýrství [34,35].

Hydrogely mají několik zajímavých vlastností, díky kterým je lze využít jako nosiče léčiv. Jednou z nich je vysoká vnitřní pórovitost hydrogelového systému, což umožňuje snadnou enkapsulaci léčiva do struktury hydrogelu. Další významnou charakteristikou kombinující velikost a propojenost pórů je tzv. tortuozita. Tato vlastnost má velký vliv především na uvolnění léčiva z hydrogelu, kdy uvolňování léčiva je řízeno především difúzí. Tyto vlastnosti lze velmi snadno modifikovat pomocí změny různých parametrů při přípravě hydrogelu [34,36].

V posledních letech se zdatelně zvýšil zájem o hydrogelové systémy v rámci tkáňového inženýrství, kde jsou použity jako *scaffoldy*. Jedná se především o systémy, které vyplňují prostor v místě defektu a slouží jako nosiče různých bioaktivních látek, nebo se využívají jako struktury, které organizují buňky a zajišťují vývoj požadované tkáně [35].

Stále rostoucí spektrum funkčních monomerů a makromolekul, možností polymery chemicky modifikovat, celou škálou možných přístupů pro tvorbu hydrogelů dochází k výraznému rozšíření možností aplikace a využití hydrogelů.

2.2 Reologie

2.2.1 Co to je reologie?

Reologie je poměrně mladý vědní obor, jehož vznik se datuje k roku 1929, kdy na sympoziu o plasticitě v Columbusu vzniká Společnost pro reologii. Se založením této společnosti jsou spojení dva pánové, jedním z nich je americký chemik Eugen C. Bingham a druhý je izraelský stavební inženýr Markus Reiner. Samotný pojem reologie pochází ze dvou starořeckých slov, *rhein* a *logos*. První slovo znamená téct a druhé věda nebo nauka. Zjednodušeně můžeme o reologii říct, že je to vědní obor, který se zabývá naukou o toku. Pod tím si můžeme představit vzájemné vztahy mezi definovaným mechanickým podnětem jako je stres nebo deformace, aplikovaných na daný materiál a jeho odpověď na daný podnět. Tok, který je základním předmětem studia tohoto oboru, můžeme považovat za určitý druh deformace. Tato deformace se nejlépe pozoruje u kapalin, ale za daných podmínek se vyskytuje u všech materiálů, a proto se mottem všech reologů stal starořecký výrok *Phanta rhei* neboli vše plyne. Z tohoto výroku můžeme usuzovat, že všechny materiály podléhají deformaci a v menší nebo větší míře tečou, a to i materiály, u kterých bychom předpokládali vlastnosti pevných těles. U těchto materiálů hraje zásadní roli čas, respektive doba, po kterou je mechanické zatížení aplikováno. To nás dostává k Debořinno číslu, které je popsáno v rovnici (2):

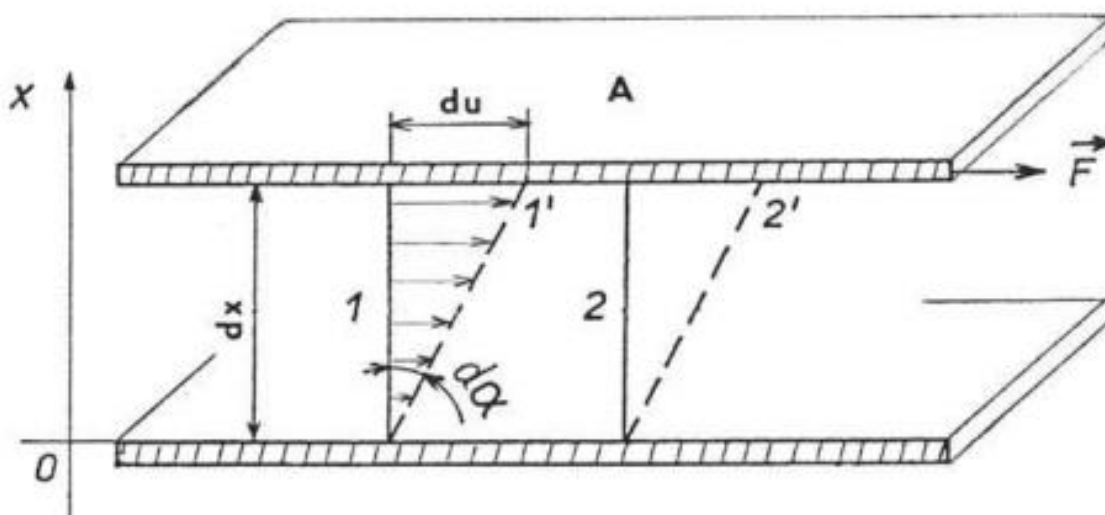
$$De = \frac{\lambda}{\tau_{\text{poz}}} \quad (2)$$

Jedná se o poměr dvou časů, kde λ je tzv. materiálový (relaxační) čas a τ_{poz} je čas po který probíhá pozorování daného experimentu. Debořinno číslo nabývá vysokých hodnot pro pevné látky a nízkých pro kapaliny, ale jak je vidět z daného vztahu, tak záleží na samotném poměru daných časů. Čím déle daný experiment pozorujeme tím se nám Debořinno číslo snižuje, a tudíž i zdánlivě pevné látky můžou téct. Příkladem toho, že i pevné látky můžou téct se uvádí skleněné vitráže v katedrálách, kde působením gravitace dochází k mechanickému zatížení skleněných vitráží po velmi dlouho dobu, což nakonec vede k toku. Dané vitráže jsou tlustší v dolní části více než v horní. Dalším ukázkovým příkladem je nejdéle probíhající experiment na světě, a to *Pitch drop* experiment. Tento experiment je starší než samotná reologie a započal již v roce 1927, kdy profesor Thomas Parnell použil pryskyřici, která se za běžných podmínek chová jako pevná látka. Tuto látku zahřál, tak aby s ní mohl naplnit nálevku, která měla zatavený stonek. Následně se nechala pryskyřice vychladnout a po třech letech se odřízl stonek nálevky, aby pryskyřice mohla “vytéct”. Za dobu experimentu došlo k vytvoření devíti kapek, kdy první kapka ukápla až v prosinci 1938, aneb *phanta rhei* [37,38,39].

2.2.2 Model paralelních desek

Pro definování základních reologických pojmů a veličin můžeme předpokládat model dvou paralelních desek, kdy horní deska je pohyblivá a spodní je stacionární. Prostor mezi deskami je vyplněn zkoumaným materiálem. Toto uspořádání je schematicky zobrazeno na obrázku 5. Vrchní deska s plochou (A) se pohybuje konstantní rychlostí (v) vlivem působící síly (F). Tečné napětí je pak dáno poměrem působící síly (F) na plochu horní desky (A), to je definováno rovnicí číslo (3):

$$\tau = \frac{F}{A} \quad (3)$$



Obrázek 5: Schéma modelu dvou paralelních desek [41].

Při působení síly dochází k posunu horní desky, které značíme du , vzdálenost mezi jednotlivými deskami je značena dx . Následně poměr těchto dvou veličin se nazývá relativní deformace, která se značí řeckým písmenkem γ . Rychlost změny této deformace, též smyková rychlost, je pak časová změna deformace a značí se $\dot{\gamma}$. Mezi tečným napětím a smykovou rychlostí existuje vzájemný vztah, který se nazývá podle svého objevitele Newtonův zákon, který je popsán v rovnici (4):

$$\tau = \frac{F}{A} = \eta \cdot \frac{d\gamma}{dt} = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (4)$$

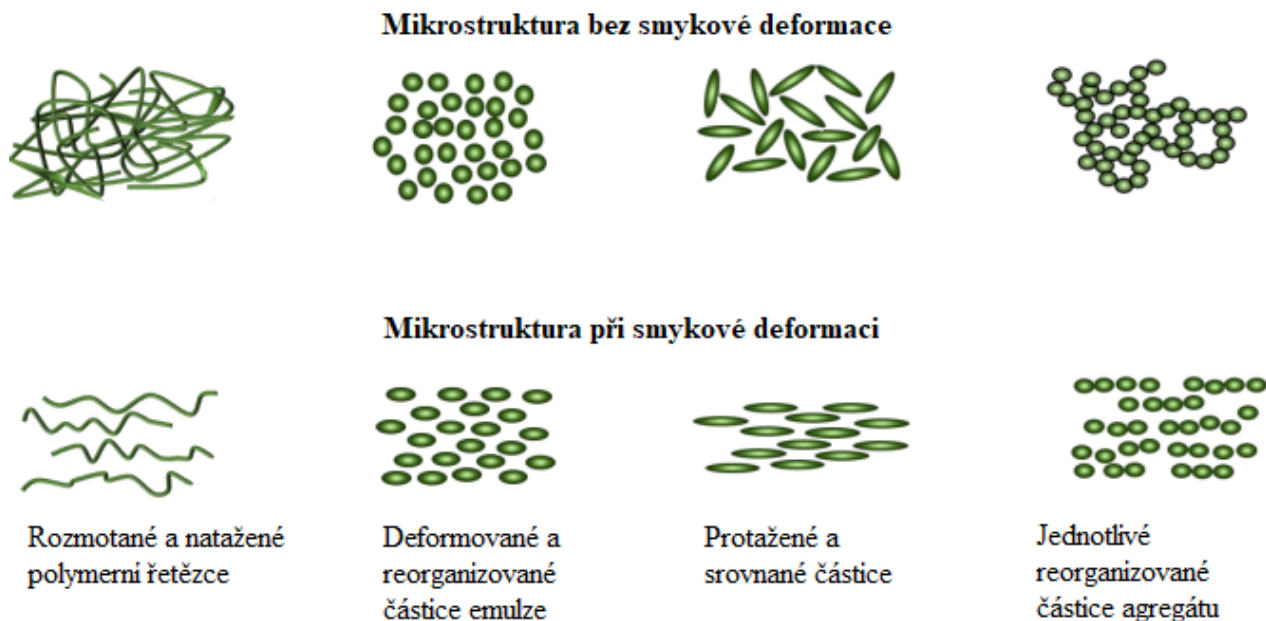
kde η je dynamická viskozita, která charakterizuje vnitřní tření sledované kapaliny. Existuje skupina látek, především kapalin, které se řídí tímto zákonem a nazývají se newtonské kapaliny. Pro tyto kapaliny platí, že viskozita není závislá na okolním prostředí a je konstantní. Avšak existuje celá řada kapalin a tekutin, které se tímto zákonem neřídí a ty nazýváme nenewtonské [40,41,42].

2.2.3 Tokové chování

Jak bylo naznačeno v předchozí kapitole můžeme rozdělit kapaliny na dvě hlavní skupiny. Kapaliny, které se chovají podle newtonova zákona, tyto látky nazýváme newtonské kapaliny. Do této skupiny můžeme zařadit roztoky nízkomolekulárních látek a čisté kapaliny. U těchto látek nedochází k vzájemnému ovlivnění jednotlivých částic a interakce jednotlivých částic mezi sebou jsou zanedbatelné. Pro tyto látky platí, že vztah mezi tečným napětím a smykovou rychlostí je lineární a směrnice této přímkové závislosti udává dynamickou viskozitu, která je pro tyto látky konstantní. Jedná se tedy o materiálovou konstantu. Grafická závislost tečného napětí na smykové rychlosti se v reologii označuje jako toková křivka [43,44].

Druhá skupina jsou látky, které daný zákon nerespektují a nazýváme je neneutonské kapaliny. Ještě, než začneme s popisem této skupiny je dobré zmínit, že viskozita tekutin je obecně závislá na mnoha faktorech jako je smyková rychlost (deformace), hustota, koncentrace, teplota a další. O neneutonských kapalinách můžeme říct, že jsou reologicky daleko složitější než newtonské kapaliny. Do této skupiny látek můžeme zařadit disperzní systémy, a to jak heterogenní, tak homogenní, proto v této skupině látek můžeme najít soly, suspenze, emulze, pasty, masti a celou řadu dalších systémů. Když uvažujeme, kolik systémů a kapalin sem můžeme zařadit, nabízí se otázka, co mají tyto látky společného? Za předpokladu, že ponecháme všechny parametry kromě smykové deformace konstantní pak společnou charakteristikou těchto látek je, že viskozita je závislá právě na smykové deformaci. Na základě toho, jaká je závislost viskozity na smykové deformaci pak můžeme tuto skupinu látek dělit na pseudoplastické, plastické a dilatantní. [43,44].

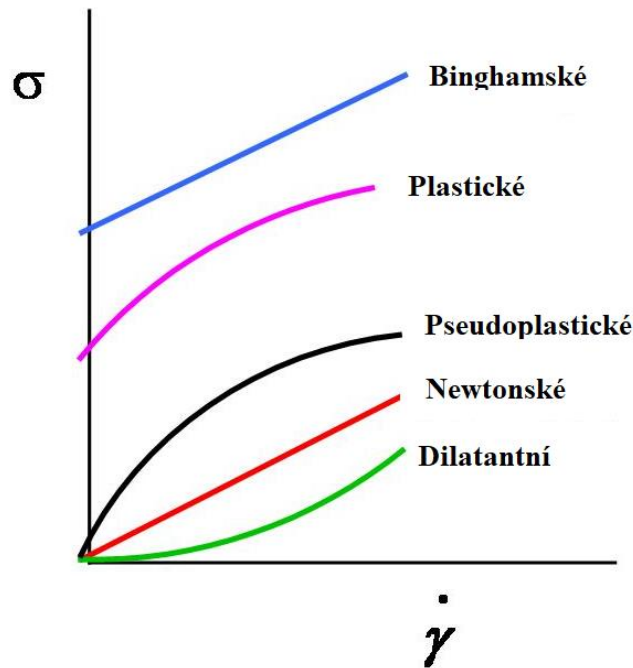
Nejběžnější skupinou neneutonských kapalin jsou pseudoplastické, kam řadíme například taveniny polymerů, roztoky mýdel, roztoky látek s vysokou molekulovou hmotností a podobně. Pro tyto kapaliny je charakteristické, že se zvyšující smykovou deformací dochází k poklesu viskozity. Ke snížení viskozity dochází vlivem uspořádání molekul v systému kapaliny, čímž dojde ke snížení odporu toku. Na obrázku 6 můžeme vidět schématické znázornění uspořádání různých systému, kdy v horní části obrázku je systém na, který není aplikovaná smyková deformace. Ve spodní části můžeme vidět odezvu na již aplikovanou smykovou deformaci. Tento efekt je však reverzibilní a když odezní mechanické namáhání dochází k opětovnému zvýšení viskozity na hodnotu před působením mechanického namáhání [43].



Obrázek 6: Schématické zobrazení jednotlivých mikrostruktur reagující na smykovou deformaci [45].

Další skupinou neneutonských kapalin jsou dilatantní kapaliny. Pro tyto látky je charakteristické, že na rozdíl od pseudoplastických kapalin reagují na zvyšování smykové deformace zvýšením viskozity. Do této skupiny kapalin řadíme vysoce koncentrované suspenze jako je třeba koncentrovaný roztok škrobu nebo mokřý písek. Stejně jako u pseudoplastických látek se jedná o reverzibilní proces [44].

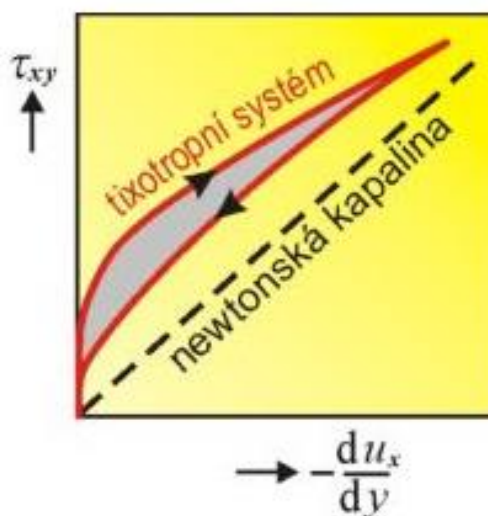
Poslední skupina bývá označována jako plastické kapaliny. Tyto kapaliny však vykazují známky toku až po překročení určité smykové deformace, které označujeme jako mez toku. Pokud není dosaženo dostatečné smykové deformace tak se látky chovají jako pevný systém. Tyto látky odpovídají na nízkou smykovou deformaci (jejíž hodnota je nižší než mez toku) elasticky, vykazují malou míru deformace, která zmizí po odstranění mechanického namáhání. To je způsobeno vytvářením interakcí mezi jednotlivými částicemi obsažených v kapalině, čímž se navenek tváří jako pevný systém. Avšak když vyvineme dostatečnou mechanickou sílu na rozbití těchto vazeb a překročíme tak mez toku, tak daný systém začne téct. Ukázkovou plastickou kapalinou je kečup. Do této skupiny látek můžeme zařadit i takzvané binghamské kapaliny, které po překročení meze toku vykazují chování jako newtonské kapaliny. Jednotlivé tokové křivky pro různé druhy kapalin jsou zobrazeny na obrázku 7 [44,46].



Obrázek 7: Tokové křivky jednotlivých látek [47].

2.2.4 Tixotropie a reopexie

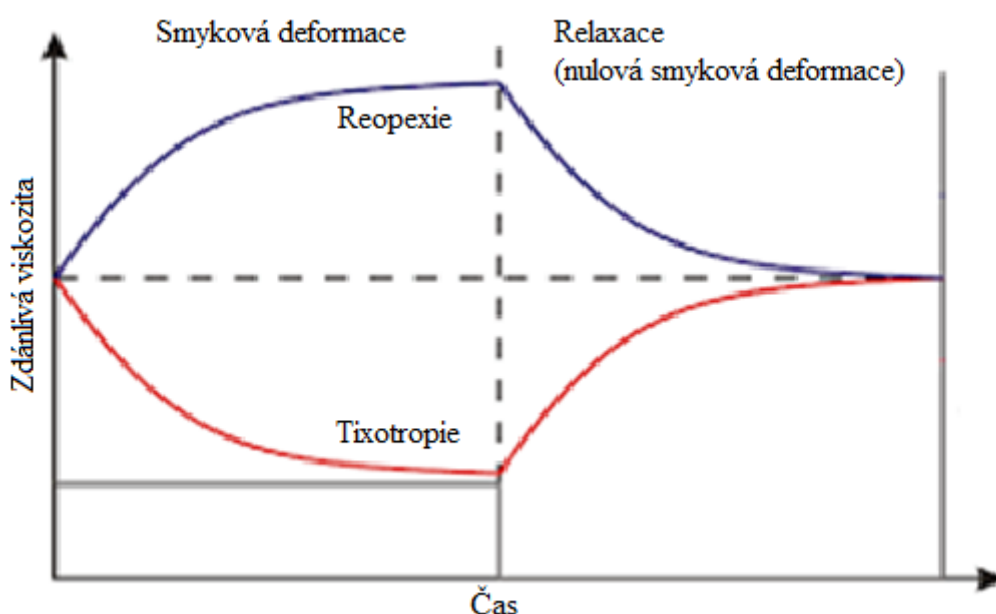
Do této doby jsme řešili závislost viskozity na intenzitě smykové deformace. Mezi další parametry ovlivňující viskozitu patří i čas. U neneutonských kapalin můžeme pozorovat dva druhy chování, a to tixotropii a reopexii. Tixotropie je chování, při kterém dochází ke snižování viskozity vlivem konstantní smykové deformace. Po odstranění působení této smykové deformace dochází časem k opětovnému zvýšení viskozity na hodnoty před aplikováním smykové deformace. Znovuobnovení viskozity poukazuje na regeneraci nebo relaxaci tixotropní kapaliny. Na obrázku 8 můžeme vidět tokové křivky tixotropního systému.



Obrázek 8: Toková křivka tixotropního systému [49].

Z tokových křivek tixotropního systému je patrné, že toková křivka, naměřená při zvyšování smykové deformace se neshoduje s průběhem křivky, který je naměřen při snižování smykové deformace. Tento jev se nazývá hysterezní smyčka. Tixotropie je velmi často se vyskytující chování a můžeme se s ním setkat například u nátěrových barev a gelů.

Druhý typ chování je pro běžné systémy méně častý a nazývá se reopexie. Stejně jako u tixotropie se jedná o časově závislé chování, které se vyznačuje zvyšováním viskozity vlivem konstantní smykové deformace. Jedná se o reverzibilní chování, protože když dojde k přerušení smykové deformace, dochází ke snížení viskozity na původní hodnotu. Toto chování je často způsobeno agregací částic, která vede ke zvýšení odporu toku a tím ke zvýšení viskozity. S tímto chováním se můžeme setkat u některých dilatantních systémů. Na obrázku 9 můžeme vidět porovnání mezi tixotropním a reopexickým chováním [48,49].



Obrázek 9: Časově závislé reologické chování [49].

2.2.5 Viskoelastické látky

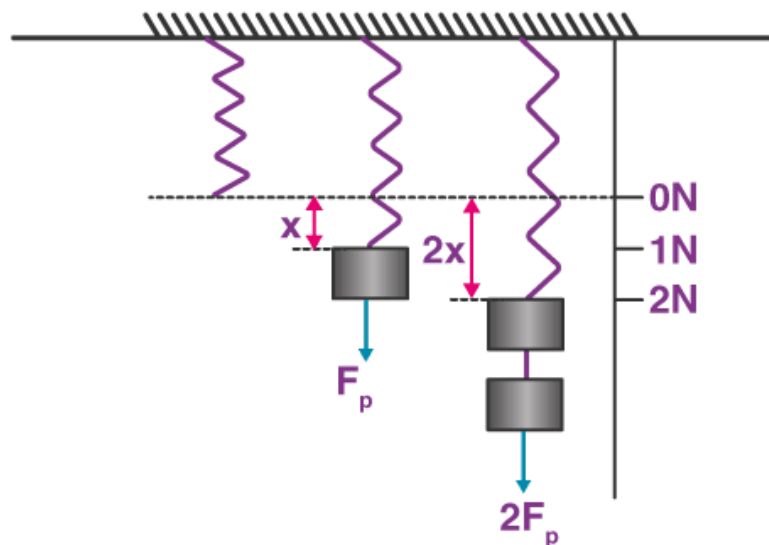
Ideální viskózní kapalina a ideálně elastické těleso jsou dvě látky s kterými se v praxi setkáváme velmi zřídka a pouze za specifických podmínek. Pro představu a aplikaci matematických modelů jsou tyto látky vhodné, ale od reálných systémů se velmi liší. Reálné systémy vykazují chování někde mezi ideálně viskózní kapalinou a ideálně elastickým tělesem, proto je nazýváme jako viskoelastické látky. Ideálně viskózní kapalinu nám popisuje Newtonův zákon, který se řešil v kapitole 2.2.2, ale pro vysvětlení viskoelastických látek si musíme definovat i druhou stranu mince, a to ideálně elastické těleso. Ideálně elastické těleso definuje Hookův zákon, který nám popisuje pružnou deformaci materiálu vlivem působení síly, kdy velikost deformace je přímo úměrná síle deformace. Matematické vyjádření Hookova zákona je pak definován podle vztahu (5):

$$F_s = k \cdot x \quad (5)$$

kde F_s je působící síla, k je konstanta pro dané těleso, která je závislá nejen na materiálu, z kterého je dané těleso vyrobeno ale, i na jeho geometrii a x je vzdálenost, do které se působením dané síly těleso natáhne. Často se můžeme setkat s Hookovým zákonem ve formě:

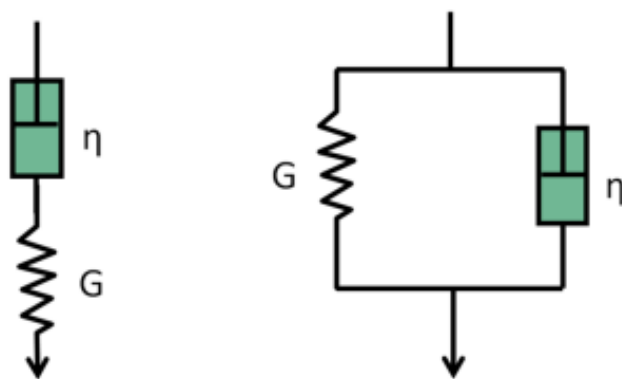
$$\tau = G_E \cdot \frac{\Delta l}{l} = G_E \cdot \varepsilon \quad (6)$$

v této formě nám vystupuje ε , což je relativní prodloužení a druhým členem je G_E , což je Youngův elastický model pružnosti. Tento model je materiálovou konstantou a udává, jak moc je dané těleso houževnaté (rigidní), neboli jak moc je dané těleso ochotné se deformovat. Schéma tohoto zákona je zobrazeno na obrázku 10 [50,51].



Obrázek 10: Schéma ideálně elastické pružiny [50].

Pro popis viskoelastických látek se využívá dvou modelů, a to Maxwellova a Kelvin-Voigtova. Tyto modely jsou založený na základě spojení dvou základních modelů. Jedním modelem je ideálně elastické těleso, které znázorňujeme jako pružinu a pak nám tento model charakterizuje elastické chování. Druhým modelem je píst ve válci, který je naplněn newtonskou kapalinou a popisuje viskózní chování. Na základě spojení těchto dvou modelů získáváme výše zmíněné modely. V případě, že zapojíme model „pístu“ a „pružiny“ sériově jedná se o Maxwellův model, který lépe odpovídá viskoelastické kapalině. Avšak když model „pístu“ a „pružiny“ zapojíme paralelně získáme Kelvin-Voigtův model, který je aplikovaný spíše na viskoelastické těleso. Ovšem i tyto dva modely jsou poměrně zidealizované oproti běžným viskoelastickým systémům. Pro představu můžeme vidět schématické zapojení jednotlivých modelů na obrázku 11 [45,52,53].



Obrázek 11: Vlevo Maxwellův model a vpravo Kelvin-Voigtův model [45].

Mezi často sledované parametry u viskoelastických látek patří komplexní modul (G^*) a ztrátový úhel (δ). Komplexní modul popisuje reologické chování a zahrnuje v sobě reálnou (vratnou) složku a imaginární (nevratnou) složku, kdy reálnou složku představuje takzvaný paměťový modul (G'), který se týká elastických vlastností vzorku a imaginární složku, kterou představuje ztrátový modul (G''), který definuje viskózní chování. Matematicky lze tedy vyjádřit komplexní modul podle rovnice (6):

$$G^* = G' + iG'' \quad (6)$$

Ztrátový neboli fázový úhel bývá často kritériem pro posouzení charakteru vzorku. Obvykle se vyjadřuje jako $\tan \delta$, který je dán poměrem obou modulů, popsán v rovnici níže (7):

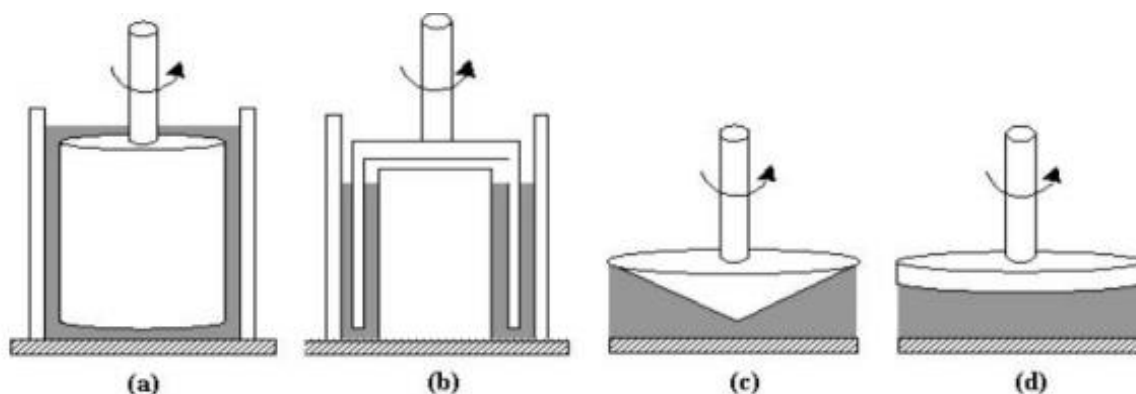
$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (7)$$

Z daného poměru pak vyplývá, že pokud bude vzorek viskóznějšího (tekutějšího) charakteru, bude převažovat ztrátový modul a tím pádem bude ztrátový úhel větší než 1 respektive větší než 45° . Naopak pokud budeme mít vzorek, který se bude deformovat více elasticky, než viskózně pak bude převládat paměťový modul a ztrátový úhel bude nabývat hodnot menších než 1 tedy než 45° [42,54].

2.2.6 Měření reologických vlastností

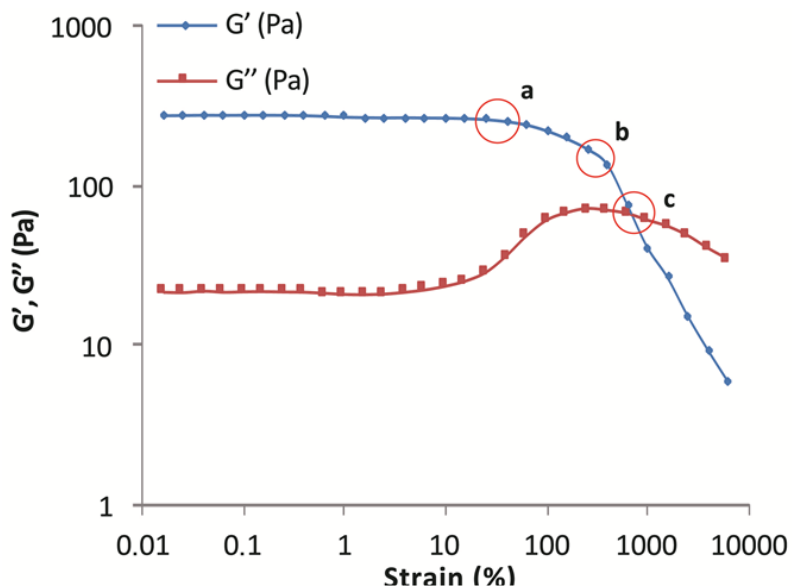
Pro měření reologických vlastností se využívá přístrojů zvaných reometry. V současné době existuje celá řada reometrů, které slučují reologické měření s dalšími metodikami jako jsou optické metody nebo využití elektrického či magnetického pole pro studium reologie magnetických kapalin. Tyto přístroje se skládají ze dvou částí. První částí je stacionární spodní deska a druhá část je pohyblivá rotující hřídel, na kterou je uchyceny měřicí senzory (geometrie). Reometry disponují celou řadou geometrií, které se liší jak tvarem, tak rozměry. Výběr geometrie závisí na typu vzorku (sol, suspenze, gel...) a na jeho vlastnostech (viskozita, konzistence). Mezi běžné geometrie patří uspořádání deska – deska, která se hojně používá pro měření gelů. Podobnou geometrií je systém kužel – deska, kde horní deska je rotující kužel. Tato geometrie se používá při měření středně viskózních materiálů. Další geometrie se

využívají k měření nízkoviskózních látek a newtonských kapalin. Jedná se o geometrii válec – válec a double – gap. Jednotlivé geometrie jsou zobrazeny na obrázku 12 [55,56,57].



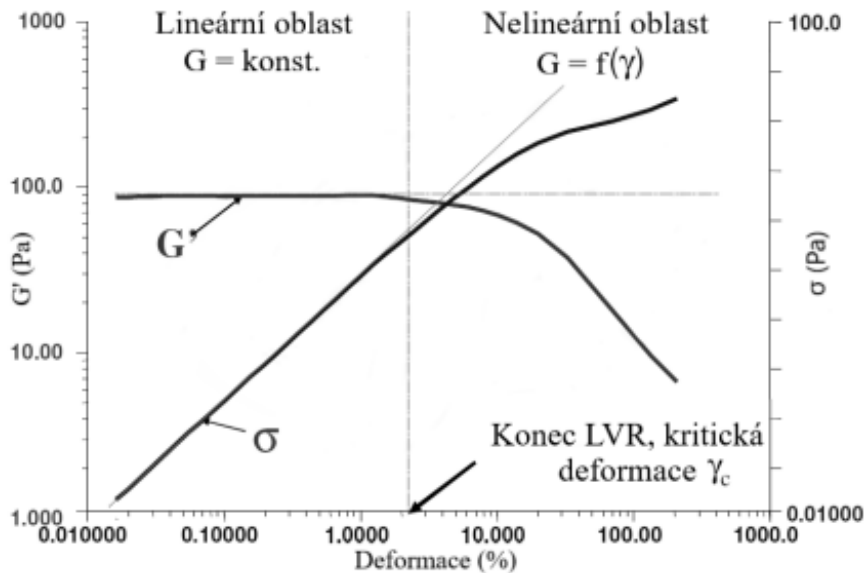
Obrázek 12: a) válec – válec; b) double – gap; c) kužel – deska; d) deska – deska [55].

Na reometrech můžeme provádět celou řadu experimentů od rotačních testů přes oscilační až po takzvaný *pull of test*, který se používá k měření adhezních vlastností vzorku. Rotační testy slouží ke stanovení tokových vlastností tekutin, kdy se horní pohyblivá geometrie otáčí v jednom daném směru určitou úhlovou rychlostí a sledujeme deformaci vzorku v závislosti na čase. Tento typ testů není v praxi tak hojně používán a spíše se využívá oscilačních testů. Oscilační testy neboli dynamické reologické testy v praxi používáme k měření viskoelastických vlastností vzorků jako je lineární viskoelastická oblast, rigidita, strukturní stabilita, mez toku, bod překřížení a další. Princip oscilačních testů je založen na namáhání vzorku oscilačním pohybem geometrie. Nejedná se tedy o pohyb desky v jednom směru, ale o kmitavý pohyb „tam a zpět“ s proměnlivou amplitudou nebo frekvencí. Na základě toho, zda se jedná o proměnlivou amplitudu nebo frekvenci rozdělujeme oscilační testy na dva nejčastější, a to amplitudový a frekvenční test. Hlavním účelem amplitudového testu je zjistit lineární visko-elastickou oblast (LVO), která je podstatná pro následující měření. Pokud se totiž vzorek nachází ve své oblasti LVO nedochází k poškození vzorku vlivem mechanického působení. Oblast LVO se vyznačuje tím, že dynamické veličiny jako ztrátový a paměťový modul nejsou závislé na amplitudě oscilací. Avšak pokud dostatečně zvýšíme amplitudu oscilací začnou se tyto moduly měnit (G' klesá a G'' naopak roste) a materiál se dostává do nelineární viskoelastické oblasti. Následným zvyšováním dojde k překřížení paměťového modulu se ztrátovým a tento bod se nazývá bod překryvu. Kromě zjištění LVO tento test podává informaci i o strukturní stabilitě. Na strukturní stabilitu vzorku poukazuje délka LVO, čím delší je tato oblast tím lépe vzorek odolává deformaci, tedy je strukturně stabilní. Na obrázku 13 můžeme vidět vzorový výstup z amplitudového testu [57,58,59].



Obrázek 13: výstup z amplitudového testu. a) LVO b) konec LVO c) bod překřížení [58]

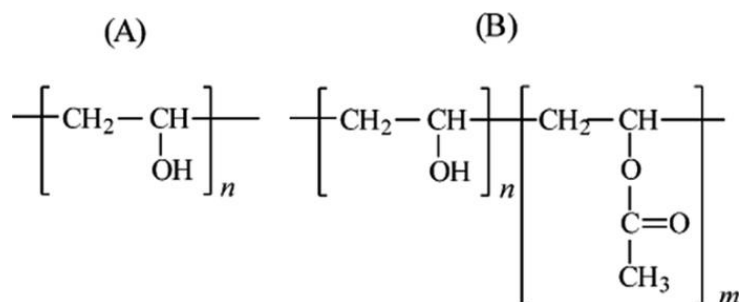
Druhým běžným oscilačním testem je frekvenční test, při kterém se sledují dynamické reologické veličiny jako je ztrátový, paměťový a komplexní modul a dynamická viskozita v závislosti na různých frekvenčních oscilacích s konstantní amplitudou, která byla zjištěna z předchozího amplitudového testu, tak aby odpovídala amplitudě, při které je vzorek v LVO. Výsledkem tohoto testu jsou tzv. mechanická spektra. Vzorové mechanické spektrum je na obrázku 14 [57,59].



Obrázek 14: mechanické spektrum [59].

2.3 Poly(vinylalkohol)

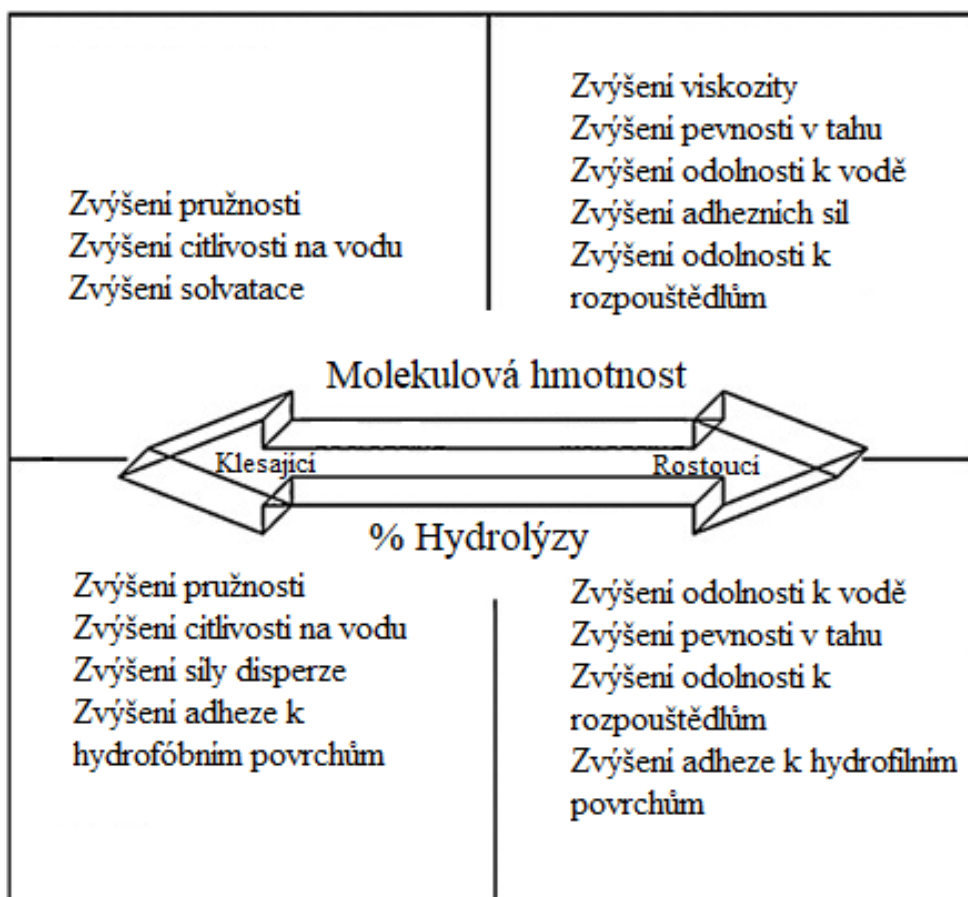
Objev poly(vinylalkoholu) (PVAI) se datuje k roku 1924, kdy se německým organickým chemikům W.O. Hermannu a W. Haehnelu podařilo připravit monomerní strukturu PVAI pomocí zmýdelnění polyvinylesteru roztokem hydroxidu sodného. Jedná se o lineární, biokompatibilní a syntetický polymer, který má krémové nebo bělavé zbarvení, bez chuti a zápachu. Tento syntetický polymer se běžně připravuje úplnou nebo částečnou hydrolyzou poly(vinylacetátu) (PVAc). Fyzikálně-chemické vlastnosti jsou ovlivněny především molekulární hmotností PVAI a jeho stupněm hydrolyzy. Využití PVAI je v celé řadě průmyslových, lékařských a potravinářských aplikací [60,61].



Obrázek 15: A) plně hydrolyzovaný PVAI B) částečně hydrolyzovaný PVAI [62]

2.3.1 Vlastnosti PVAI

Fyzikální a chemické vlastnosti PVAI jsou obecně závislé na jeho molekulové hmotnosti a stupni hydrolyzy, kdy tyto parametry ovlivňují stupeň krystalinity PVAI. Stupeň krystalinity následně vede ke změnám různých fyzikálních vlastností jako je rozpustnost ve vodě, viskozita, emulgace, pevnost v tahu, pružnost, bariérové vlastnosti a další. S rostoucím stupněm hydrolyzy se snižuje rozpustnost PVAI ve vodě, to je způsobeno rostoucím množstvím vodíkových můstků mezi hydroxylovými funkčními skupinami. Stejný efekt se následně projeví i u rozpustnosti v polárních rozpouštědlech. Naopak s klesajícím stupněm hydrolyzy, roste množství acetátových skupin v řetězci polymeru, což vede ke snížení krystalinity a tento pokles způsobí snížení pevnosti. Toto jsou jen dva z mnoha příkladů vlivu stupně hydrolyzy na fyzikální vlastnosti. Přehledné shrnutí vlivu molekulové hmotnosti a stupně hydrolyzy je zobrazeno na obrázku 16 [62,63,64].



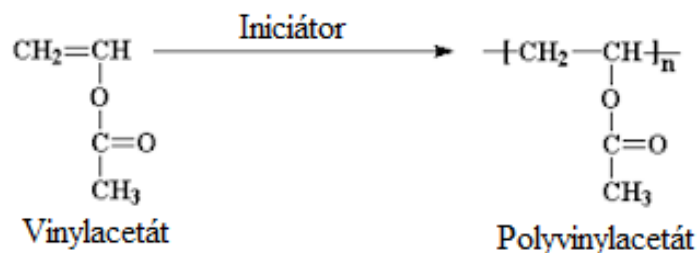
Obrázek 16: Vlastnosti PVAI [63]

2.3.2 Syntéza PVAI

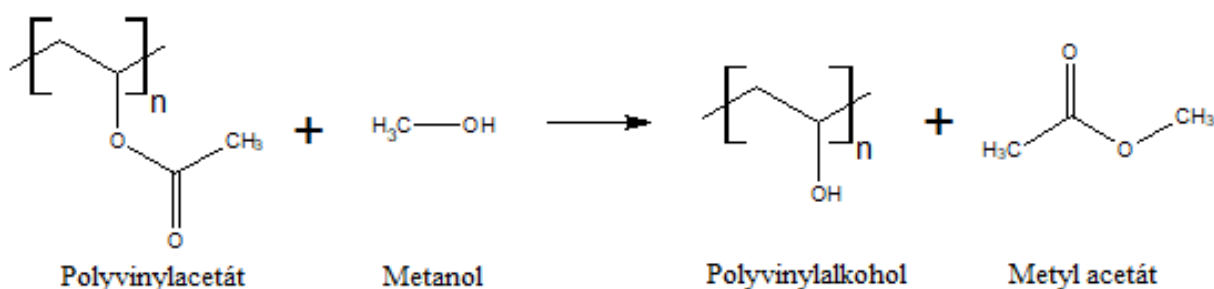
Základní monomerní jednotkou PVAI je vinylalkohol, ale ten je pro syntézu PVAI nevhodný, protože se jedná o velice nestabilní molekulu. Proto lze pro syntézu PVAI využít polymeraci z několika různých monomerů jako vinylpivalátu, vinyltrifluoracetátu, vinyldifenylacetátu nebo také vinylesteru. Ale pro průmyslovou výrobu PVAI se nejčastěji využívá polymerace vinylacetátu. U polymerace PVAI se nejčastěji používá dvoustupňovitý proces složený z radikálové polymerace vinylacetátu a hydrolyzy pro změnu acetátových skupin na hydroxylové [65,66].

V prvním kroku dochází k radikálové polymeraci vinylacetátu, která je iniciována chemickými látkami jako je methanol, popřípadě lze reakci iniciovat ultrafialovým světlem nebo ionizujícím zářením. Potřebné radikály nám může poskytnout také reakce, kde jako iniciátory vystupují peroxidy nebo azosloučeniny. Na obrázku 17 můžeme vidět schématické znázornění prvního kroku. Po radikálové polymeraci následuje druhý krok, při kterém dochází k transesterifikaci nebo k alkalické hydrolyze PVAc. V tomto kroku se do reakční směsi přidá malé množství báze nebo kyseliny, která funguje jako katalyzátor k podpoře přeměny acetátových funkčních skupin na hydroxylové. Na obrázku 18 je vidět druhý krok přípravy PVAI. V průmyslu se nejčastěji využívá hydrolyza PVAc v přítomnosti methanolu, který zde působí jako přenašeč uhlíkatého řetězce a umožňuje úpravu molárních hmotností na různé hodnoty. Methanol také pomáhá odstraňovat teplo, které je generované během polymerace.

Jako alkalické katalyzátory můžeme využít hydroxid vápenatý nebo uhličitan sodný, ale nejčastěji se v průmyslu využívá hydroxid sodný [65].



Obrázek 17: Schematické znázornění přípravy polyvinylacetátu [67].

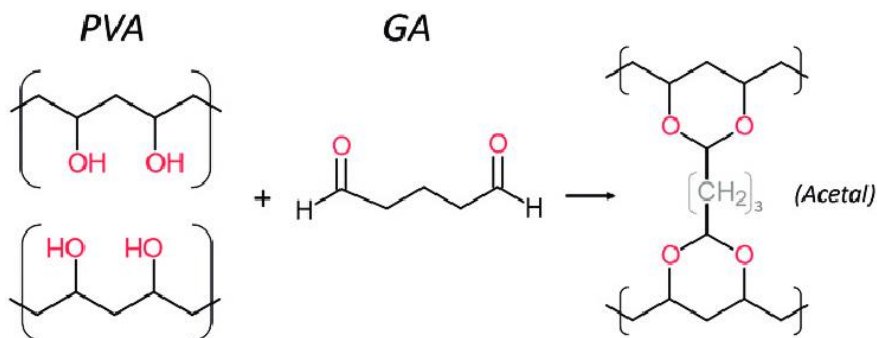


Obrázek 18: Schématické znázornění syntézy PVAI [65]

V závislosti na podmínkách, při kterých dochází k syntéze PVAI může dojít ke vzniku produktů s různou molekulovou hmotností a stupněm hydrolyzy. Stupeň hydrolyzy v připraveném PVAI je určen molárním procentem acetátových funkčních skupin, které jsou převedeny na hydroxylové skupiny. Výsledný obsah acetátových skupin lze upravit změnou koncentrace katalyzátoru, reakční dobou a teplotou, při které dochází k reakci [65].

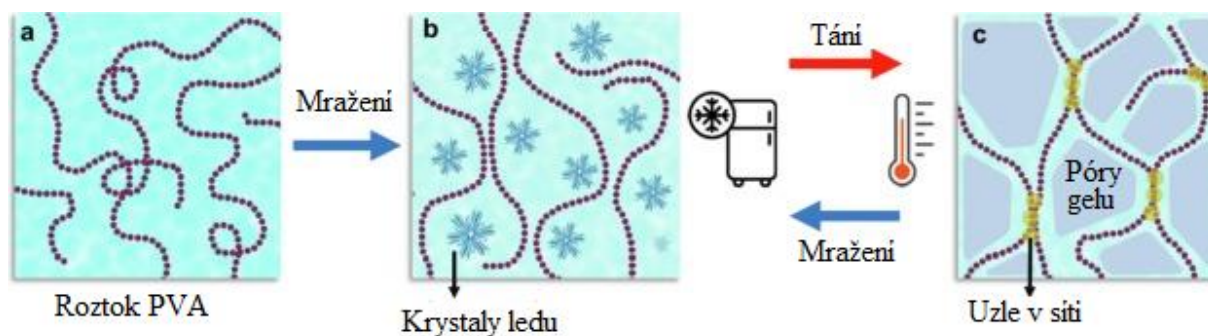
2.3.3 Příprava PVAI hydrogelů

K přípravě hydrogelů na bázi PVAI můžeme využít dva přístupy. První přístup je chemické síťování za využití multifunkčních molekul jako jsou aldehydy nebo molekuly, které obsahují boritany. Schématické znázornění síťování tohoto druhu je zobrazeno na obrázku 19. Avšak přidání síťovacích činidel může vést k různým nežádoucím účinkům, například může docházet k interakcím mezi jednotlivými složkami hydrogelu se síťovacím činidlem. Dalším důležitým faktorem je, že v případě použití aldehydů jako síťovacích činidel např. glutaraldehydu (GA) výrazně omezujeme možnosti aplikace daného hydrogelu. A to především v různých medicínských odvětvích, protože aldehydy vyvolávají nežádoucí odpověď organismu [68].



Obrázek 19: Schéma vzniku chemické vazby mezi PVAI a glutaraldehydem [68].

Dalším přístupem, jak připravit hydrogely na bázi PVAI je fyzikální síťování. Hlavní výhodou tohoto přístupu spočívá v tom, že není ke vzniku gelu nutnost přidání síťovacího činidla, které by mohlo působit toxicky. Avšak je zde i druhá strana mince, kdy takto připravené hydrogely mají nižší mechanickou odolnost vůči namáhání. Pro přípravu fyzikálních PVAI hydrogelů se využívá metoda mražení – tání (MT). Mechanismus této metody je velmi jednoduchý. Při procesu mražení dochází ke vzniku ledových krystalů vody. Tyto krystaly ledu tlačí řetězce PVAI k sobě a umožňuje vznik fyzikálních interakcí, které tvoří trojrozměrnou síť hydrogelu. Následným procesem tání dochází k rozmrazení krystalů ledu a vytvoření pórů ve struktuře hydrogelu. Schéma tohoto procesu je zobrazeno na obrázku 20 [68].



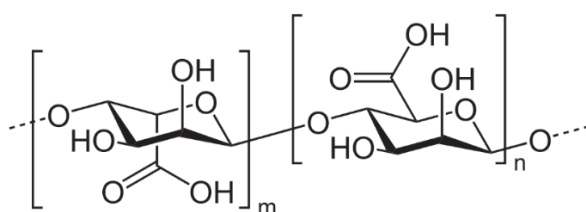
Obrázek 20: Schéma procesu MT [68].

Při této metodě může dojít k významnému ovlivnění vlastností výsledného hydrogelu vlivem doby procesu mražení anebo tání, počtem cyklů MT, teplotami při jednotlivých částech procesu. Samozřejmě zde hraje zásadní vliv i parametry PVAI jako je stupeň hydrolyzy, molekulová hmotnost a koncentrace PVAI v roztoku, ze kterého je daný hydrogel připraven [68,69].

2.4 Biopolymery využívané v diplomové práci

2.4.1 Alginát sodný

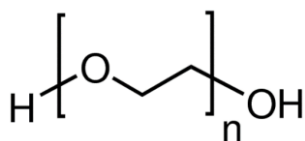
Alginát sodný (SA) je hlavní strukturální polysacharid mořských hnědých řas, který je tvořen různými poměry D – mannuronovým a L – guluronovým zbytkem, které jsou spojeny β 1-4 vazbami. SA je rozpustný ve vodném roztoku a tvoří stabilní hydrogely při pokojové teplotě v přítomnosti dvoumocných kationtů jako je Ba^{2+} a Ca^{2+} . SA zesíťovaný vápenatými ionty má vynikající vlastnosti a je široce používán v biomedicínských aplikacích. SA hydrogely byly studovány jako nosičových materiálů pro tkáňové inženýrství kvůli své strukturální podobnosti s přirozenou extracelulární matricí a může sloužit ke zlepšení buněčné adheze, růstu a tvorbě nové tkáně. Alginát našel biomedicínské a biotechnologické využití především jako materiál, který je schopný zapouzdřit a imobilizovat různé buňky. Hydrogely na bázi SA jsou netoxické a biologicky odbouratelné při orálním užití [70,71].



Obrázek 21: Chemická struktura alginátu [70].

2.4.2 Poly(ethylenglykol)

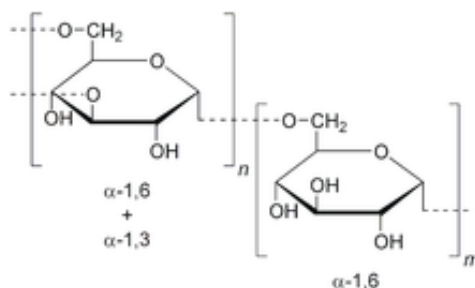
Poly(ethylenglykol) (PEG) je syntetický polymerů, který lze použít v mnoha druzích aplikací jako je hojení ran, scaffolds, podávání léčiv a tvorba hydrogelů. Mezi jeho vlastnosti patří včetně dobré rozpustnosti ve vodě i odolnost vůči adsorpci proteinů, nízká imunogenita a netoxičita, což z něj dělá ideální polymer pro přípravu hydrogelů, využitelných v biomedicínských aplikacích. PEG hydrogely jsou univerzální materiály, které se dají snadno chemicky modifikovat, čímž dojde ke zlepšení jejich mechanických vlastností [72].



Obrázek 22: Chemická struktura PEG [72].

2.4.3 Dextran

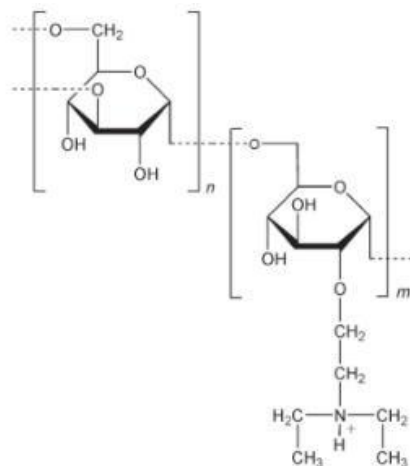
Dextran (DEX) je ve vodě rozpustný polysacharid, který se skládá hlavně z α 1-6 vázaných D – glukopyranózových zbytků s nízkým procentem postranně vázaných řetězců přes vazby α 1-2, α 1-3 nebo α 1-4. Dextran je netoxická látka, a proto se využívá jako náhrada krevní plazmy. Pro vytvoření dextranového hydrogelu je důležité vytvořit vazby mezi jednotlivými řetězci polymeru. Tvorba vazeb neboli síťování může proběhnout fyzikální nebo chemické cestou. Chemicky zesíťovaný hydrogel dextranu jde připravit reakcí polymeru s vhodným síťovacím činidlem jako je diisokyanát nebo epichlorhydrin [73].



Obrázek 23: Chemická struktura dextransu [73].

2.4.4 Diethylaminoethyl dextran

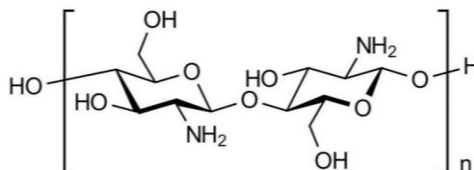
Diethylaminoethyl (DEAE) dextran patří mezi kladně nabitě deriváty polysacharidu dextransu. Na rozdíl od dextransu, tento derivát obsahuje skupiny diethylaminoethylu. Molekula DEAE – dextransu je zobrazena na obrázku 24. DEAE-dextran se často využívá jako stabilizační molekul a transfekční činidlo. DEAE-dextran byl vůbec prvním chemickým vektorem použitým pro transport DNA. To umožnila především jeho kladná struktura, která vytváří elektrostatické interakce se záporně nabitou molekulou DNA [74,75].



Obrázek 24: Chemická struktura DEAE-dextransu [74]

2.4.5 Chitosan

Chitosan (CH) je hlavní derivát chitinu, který se získá jeho deacetylací. Jedná se polymorfní formu antiparalelní α -chitinu, který díky vysokému obsahu primárních aminoskupin ve své molekulární struktuře odlišuje od většiny polymerů a vystupuje jako lineární kationtový polysacharid. Na vlastnosti chitosanu má vliv jeho čistota, molekulová hmotnost, stupeň deacetylace a polymorfní struktura. Chitosan je vhodným materiálem při léčbě hojení ran, a to kvůli svým antimikrobiálním a hemostatickým vlastnostem [76].



Obrázek 25: Chemická struktura chitosanu [76].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V posledních letech získávají hydrogely značnou pozornost kvůli svému potenciálu využití v mnoha odvětvích. Dají se využít v zemědělství, kosmetice, potravinářském průmyslu a v medicíně. Široká škála aplikací hydrogelů souvisí s jejich charakteristickými vlastnostmi jako je biologická kompatibilita nebo schopnost absorbovat vysoké množství vody v těchto systémech. Při využití v medicíně se nejčastěji hydrogely uplatňují jako součásti biosenzorů, matrice pro řízenou distribuci léčiv, k hojení ran a jako materiály pro tvorbu *scaffoldů* [77].

Námi použitý PVAI se široce používá pro praktické aplikace v různých oblastech, jako je textilní průmysl, kosmetický průmysl a papírenský průmysl. Je známo, že PVAI má mnoho výhod díky své nízké toxicitě a vysoké biokompatibilitě. Z těchto důvodů se hydrogely na bázi PVAI používají také v různých farmaceutických a biomedicínských aplikacích jako biomateriály v obvazech na rány, implantátech, zapouzdření buněk, systémech dodání léčiv, měkkých kontaktních čoček a zubních aplikacích [61,78].

Hydrogely na bázi PVAI lze připravit celou škálou metod. Mezi nejvýznamnější postup pro přípravu těchto hydrogelů je proces MT, kdy vzniká fyzikálně síťovaný hydrogel a proces při, kterém je použit aldehyd (nejčastěji glutaraldehyd), kdy dochází ke vzniku chemicky síťovaného hydrogelu. Popřípadě lze PVAI hydrogely připravit kombinací obou z možných cest. Přípravou hydrogelů síťovaných mocí glutaraldehydu a studování následných bobtnacích vlastností se zabývali v článku od autorů **Tithi Mehrotra a kolektiv** [79], kde byl připraven roztok PVAI o koncentraci 5 hm. % a následně bylo k tomuto roztoku přidáváno postupně narůstající množství GA. Hlavním zjištěním článku bylo, že s rostoucím množstvím GA, který zde působí jako síťovací činidlo dochází k poklesu stupně bobtnání. To bylo vysvětleno tím, že GA vytváří ve struktuře hustší zesílení, čímž omezuje pronikání disperzního prostředí do sítě, a to vede ke snížení schopnosti hydrogelu bobtnat. V tomto článku byl též sledován vliv iontové síly na schopnost hydrogelu bobtnat, kdy došlo k zjištění že s rostoucí iontovou silou prostředí, klesá bobtnací kapacita hydrogelu. Fyzikálními hydrogely na bázi PVAI se zabývali v článku od autorů **Shan Jiang a kolektiv** [80], kdy se následně studoval vliv počtu cyklů na mechanické vlastnosti. Mechanické vlastnosti v tomto článku byly testovány pomocí mechanické trhačky, kde byl následně stanoven Youngův modul. Nejdříve byl připraven roztok PVAI o koncentraci 3 hm. %. PVAI bylo rozpuštěno při teplotě 140 °C po dobu 2 hodin. Připravený roztok následně podstoupil 1, 3 a 5 cyklů mražení a tání, kdy mražení probíhalo při teplotě -20 °C po dobu 10 hodin. Následný proces tání trval 5-9 hodin při pokojové teplotě. V tomto článku bylo zjištěno že s rostoucím počtem cyklů dochází k nárůstu Youngova modulu, který se pohyboval v rozmezí 3,6-11,4 kPa.

Jak už bylo psáno výše klasické PVAI hydrogely jsou vhodnými kandidáty pro biomedicínské aplikace, ale mohou mít některé nedostatky jako jsou slabé mechanické vlastnosti, tepelná stabilita nebo citlivost na pH. Tyto nedostatky se dají řešit začleněním dalších biopolymerů do již stávající trojrozměrné sítě hydrogelu. Například v publikaci od autorů **Horia M. Nizam a kolektiv** [81], se problém tepelné stability PVAI hydrogelů řešil přidávkou alginátu sodného. V případě této studie došlo ke zjištění, že zakomponování alginátu sodného do struktury PVAI hydrogelu vede ke zvýšení tepelné stability oproti čistému

PVAI hydrogelu. Také se zjistilo, že přídavek alginátu sodného značně zvyšuje bobtnavost PVAI hydrogelu v teplotním rozmezí 10-25 °C. V další publikaci, která řešila problematiku PVAI/SA hydrogelů od autorů **Liang Xie a kolektiv** [70], se zabývali vlivem procesů mražení/tání a množství přídavku síťovacího činidla v podobě dvoumocných kationtů jako je Ca^{2+} a Ba^{2+} na mechanické vlastnosti a citlivost na změnu pH. Bylo zjištěno, že kontrolou složení, procesu mražení a tání a množství přídavku síťovacího činidla má významný vliv na mechanické vlastnosti a citlivost na pH.

Mezi další kandidáty pro vhodnou modifikaci PVA hydrogelů se jeví PEG. Studium přídavku tohoto materiálu do PVAI hydrogelu se zabýval článek od **Lingling Cui a kolektiv** [82]. V této publikaci sledovali, jaký má přídavek PEG vliv na mechanické vlastnosti, schopnost vstřebání vody a na odolnosti vůči tahu, ve všech těchto parametrech tyto hydrogely vykazují vyšší hodnoty než čistý PVAI hydrogel. Například u pevnosti v tahu jeví takto modifikované hydrogely dvojnásobně vyšší odolnost vůči namáhání.

Další materiál, který je vhodný na modifikaci hydrogelů je dextran. Jedním z článků, který se zabývá využitím dextranu na modifikaci PVAI hydrogelů publikuje skupina autorů **Ce Zheng a kolektiv** [83]. V této publikaci se studoval vliv dextranu na velikost póru, mechanické vlastnosti a rychlost prostupu vodní páry. Při porovnání pevnosti v tahu připraveného hydrogelu PVA/Dex s hydrogelem PVA/PEG z předchozího článku zjišťujeme, že dextranem modifikované hydrogely mají vyšší pevnost v tahu. Díky vysoké odolnosti vůči tahu mají takto modifikované PVAI hydrogely vysoký potenciál pro využití jako obvazové materiál při biomedicínských aplikacích.

Poslední materiál, který bude zmiňován v této diplomové práci jako materiál schopný modifikovat PVAI hydrogely je chitosan, kdy využitím přídavku tohoto biopolymeru můžeme připravit hydrogely citlivé na pH a biodegradabilní hydrogely. Studii hydrogelů s takovými vlastnostmi se zabývají autoři **A. M. Abdel-Mohsen, a kolektiv** [84], kdy nebyly pozorovány pouze základní parametry jako je mechanické vlastnosti a bobtnavost, ale také schopnost hydrogelů uvolňovat léčivo, konkrétně sparfloxacin. Získané výsledky ve studii poukazují že PVAI hydrogely modifikované chitosanem jsou citlivé na pH a tato citlivost je závislá na koncentraci chitosanu. Ve studii bylo prokázáno, že uvolňování bioaktivní látky je závislé jak na pH, tak na teplotě.

Pro studium mechanických vlastností hydrogelů se používá celá řada metod, ale mezi nejčastěji používané patří dynamická mechanická analýza (DMA) a reologie. Tyto analýzy poskytují informaci o pevnosti hydrogelu, které bývají vyjádřeny různými parametry jako je ztrátový úhel, viskoelastické moduly materiálu nebo Youngův elastický modul pružnosti. Hlavním rozdílem mezi těmito metodami je způsob, kterým dochází k deformaci vzorku. V případě DMA jsou vzorky stlačovány, zatímco v případě reologie působí na vzorek smykové namáhání. I přes tento rozdíl existuje vztah, který tyto metody spojuje a je definován rovnicí (8).

$$E' = 2G'(1 + \mu) \quad (8)$$

kde E' je elastický modul získaný z DMA, G' je elastický modul získaný z klasické reologie a μ je Poissonovo číslo. Tato problematika byla řešena v článku od autorů **Tom K.L. Meyvis a kolektiv** [85], ale pro usnadnění řešení problematiky nabývalo Poissonovo číslo hodnoty 0,5, což je pro ideální kaučuk, které vykazují vysokou podobnost s hydrogely, které byly použity v daném článku. Avšak v případě, že měřené materiály se více odchylují od kaučukových materiálů musí dojít k přepočítání Poissonova čísla. Pro PVAI hydrogely se touto problematikou zabývali autoři **Jae-Hoon Lee a kolektiv** [86], kdy bylo Poissonovo číslo stanoveno na hodnotu kolem 0,49. Autoři pro určení této hodnoty využívaly hydrogely s koncentrací PVAI 20 hm. % a samotný proces MT probíhal při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 10 hodin a byly provedeny 4 cykly. Je patrné, že s rostoucími odlišnostmi od ideálně kaučukového materiálu se Poissonovo číslo zmenšuje.

4 CÍLE EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

Cílem této diplomové práce bylo sledovat problematiku mechanických vlastností hydrogelů na bázi PVAI, které byly modifikovány pomocí biopolymerů. Při sledování této problematiky byly stanoveny následující cíle, které byly postupně naplněny řešením v experimentální části této práce:

- 1) Vypracovat literární rešerši na problematiku přípravy hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu) a definování způsobů cílené modifikace mechanických vlastností těchto materiálů přidavkem vhodných biokompatibilních biopolymerů metodou semi-IPN.
- 2) Na základě literární rešerše zvolit vhodné zástupce biopolymerů pro následné experimentální posouzení vlivu jednotlivých aditiv na mechanické vlastnosti poly(vinylalkoholových) hydrogelů.
- 3) Pro uvedenou sadu vzorků hydrogelů definovat a optimalizovat způsoby charakterizace vlivu přídatku zvolených aditiv na mechanické vlastnosti hydrogelů. Prostudovat mechanické vlastnosti těchto materiálů s ohledem na kompozice a základní změny ve struktuře studovaných hydrogelů. Porovnat tyto výstupy s daty pro nemoifikované poly(vinylalkohol) hydrogely.
- 4) Vlastní laboratorní experimenty a diskuze jednotlivých naměřených dat s ohledem na vzájemný vztah kompozice – struktura – mechanické vlastnosti hydrogelu.

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie

- Alginát sodný (SA): Sigma-Aldrich s.r.o.; M_w : $100,4 \pm 5,7$ kDa; CAS: 9005-38-3
- Diethylaminoethyl dextran (DEAE): Sigma-Aldrich s.r.o.; M_w : 1638 ± 43 kDa; CAS: 9064-91-9
- Dextran (DEX): Sigma-Aldrich s.r.o.; M_w : 2116 ± 40 kDa; CAS: 9004-54-0
- Chitosan (CH): Sigma-Aldrich s.r.o.; M_w : $168,3 \pm 10,4$ kDa; CAS: 9012-76-4
- Kyselina octová
- Poly(ethylenglykol) (PEG): Fluka chemika; M_w : $8,3 \pm 0,3$ kDa; CAS: 25322-68-3
- Poly(vinylalkohol) (PVAL): Fluka chemika; M_w : $96,1 \pm 0,9$ kDa; stupeň hydrolyzy: 99,0 – 99,8 %; CAS: 9002-89-5
- Poly(vinylalkohol) (PVAL): Sigma-Aldrich s.r.o.; M_w : $155,9 \pm 1,6$ kDa; stupeň hydrolyzy: 99+ %; CAS: 9002-89-5
- Ultračistá demineralizovaná voda

5.2 Použité laboratorní zařízení a přístroje

- Analytické váhy od společnosti Denver Instrument (USA)
- Analyzátor vlhkosti Denver IR 35 Moisture Analyzer (USA)
- Elektronický regulátor teploty EKT Hei-Com od společnosti Heidolph (Německo)
- Laboratorní mrazák v místnosti C313
- Magnetická míchačka s ohřevem MR Hei-Tec od společnosti Heidolph (Německo)
- Magnetická míchačka s ohřevem MR Hei-Standard od společnosti Heidolph (Německo)
- Mikrokolorimetr TAM III od společnosti TA Instruments (USA)
- Reometr Discovery HR-2 od společnosti TA Instruments Ltd (USA)

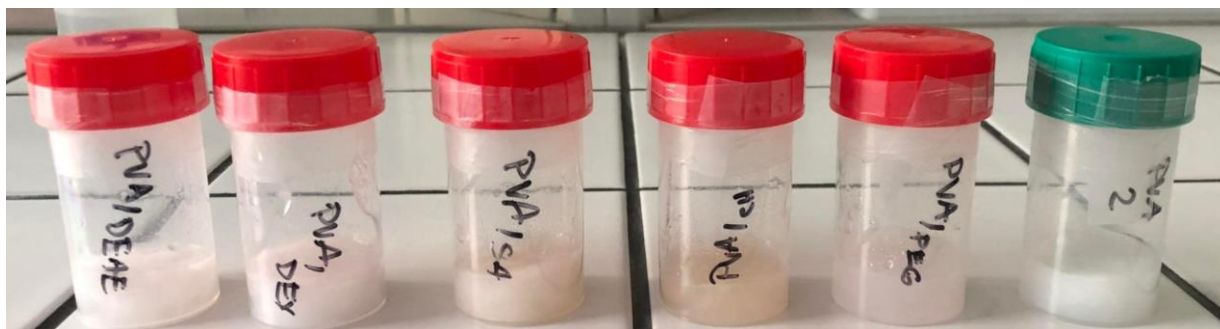
5.3 Příprava hydrogelů

Tato kapitola je věnovaná postupu přípravy fyzikálně síťovaných hydrogelů na bázi PVAL s přídatkem biopolymerů pomocí metody mražení – tání (MT), kdy optimalizace postupu přípravy hydrogelů proběhly v předchozí bakalářské práci (BP) [87]. V předchozí práci byl řešen vliv molekulové hmotnosti PVAL, koncentrace roztoku PVAL, počet cyklů MT a doba mražení na výsledný hydrogel. Na základě výsledků z předchozí práce byl vybrán optimální postup pro přípravu hydrogelů.

Nejdříve byly navázeny všechny komponenty hydrogelu v hmotnostním poměru 9:1 (PVAL ku biopolymeru). Tedy bylo naváženo 0,9 g PVAL a 0,1 g daného biopolymeru. Poté bylo k navážce přidáno 10 ml ultračisté demineralizované vody. Výsledná suspenze tedy obsahoval 10 hm. % polymeru. Takto připravená suspenze se přenesla na magnetickou míchačku s ohřevem, kde byla připravena vodní lázeň (Příloha 1). Následně byly nastaveny parametry ohřevu na 90 °C a rychlost otáček na 400 rpm (otáčky za minutu). Při těchto podmínkách byly vzorky ponechány do úplného rozpuštění biopolymerů po dobu 3 hodin. Poté byl vzniklý sol přelit do plastových nádobek, které byly opatřeny víčkem a utěsněny parafilmovou fólií. Následně byly nádob přesunuty do laboratorního mrazáku k procesu mražení, které trvalo

hodinu při teplotě -20 ± 5 °C. Poté následoval druhý krok cyklu – tání, které probíhalo po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Tyto cykly byly zopakovány dvakrát.

Pro přípravu hydrogelu s chitosanem byl postup mírně pozměněn, kdy nejdříve došlo k přípravě 1 hm. % roztoku chitosanu. Byl navážen 0,1 g chitosanu, který byl poté rozpuštěn v 5% roztoku kyseliny octové. Poté byl vzniklý roztok neutralizován pomocí NaOH. Po rozpuštění chitosanu bylo k vzniklému roztoku přidáno 0,9 g PVAI. Následně byl postup shodný s předešlými vzorky. Některé z připravených hydrogelů jsou zobrazeny na obrázku 26.



Obrázek 26: Připravené PVA hydrogely s biopolymery (DEAE, DEX, SA, CH, PEG, PVAI bez biopolymeru)

5.4 Mechanické charakteristiky hydrogelů

V této kapitole se budeme zabývat experimenty, které sloužily pro posouzení mechanických charakteristik připravených hydrogelů. Tato data byla získána analýzou pomocí reometru pracujícího ve dvou měřících modech. V první části se budeme věnovat „klasickému“ oscilačnímu amplitudovému testu. Druhá část je zaměřená na tzv. dynamickou mechanickou analýzu, kdy se také jedná o oscilační amplitudový test, ale hlavním rozdílem mezi těmito experimenty je způsob oscilace geometrie a získaná informace o vzorku. V prvním „klasickém“ testu geometrie osciluje kolem své osy (deformace kroutivým momentem), zatímco při dynamické mechanické analýze osciluje geometrie reometru nahoru a dolů ve směru osy y a namáhá tak materiál postupným stlačováním.

5.4.1 Reologie

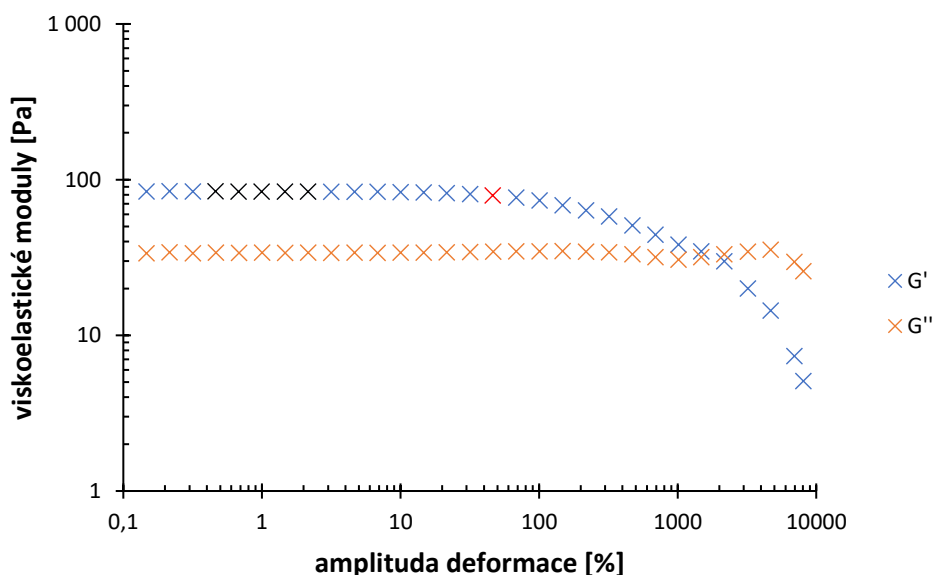
Pro měření mechanických vlastností vzorků hydrogelů bylo využito měření pomocí reometru Discovery HR-2 (TA Instruments). V rámci postupu měření na reometru byly nastaveny dva kroky. V prvním kroku se nastavila doba relaxace hydrogelu na 2 minuty při teplotě 25 °C. Při této teplotě také probíhalo následné měření. Ve druhém kroku došlo k nastavení parametrů samotného experimentu. Byl použit oscilační amplitudový test, kdy jednotlivé parametry experimentu a geometrie jsou zobrazeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Parametry oscilačního amplitudového testu

Nastavení experimentu	
Geometrie	SST ST XHATCH 20MM
mezera (<i>gap</i>) [μm]	1000
čas relaxace [s]	120
teplota [$^{\circ}\text{C}$]	25
frekvence [Hz]	1
amplituda deformace [%]	0,01 – 8000

Vyhodnocení získaných reologických dat

Z měření získaná experimentální data pomocí reometru byla dále vyhodnocena a zpracována pomocí programu MS Excel (Microsoft Office 365). Z experimentálních dat byly vyhodnoceny tři základní parametry – plató, konec lineární viskoelastické oblasti a ztrátový úhel. Plató bylo určeno jako průměr pěti hodnot v lineární oblasti paměťového neboli elastického modulu, což je na obrázku 27 znázorněno černými body. V průběhu experimentu docházelo k zvyšování amplitudy deformace, a to mělo za následek pokles elastického modulu. V bodě, kdy měl elastický modul pokles o 5 % dochází ke konci LVO, který je další z vyhodnocených parametrů. Konec LVO je na obrázku 27 znázorněn v podobě červeného bodu. Ztrátový úhel byl určen na základě veličiny, kterou reometr zaznamenával již v průběhu měření jako $\tan(\delta)$. Tato veličina byla přepočítána na ztrátový úhel, kdy se jednalo o hodnoty naměřené při amplitudě deformace odpovídající konci LVO. Pro získání ztrátového úhlu byla brána hodnota při konci LVO.



Obrázek 27: Vzorový výsledek oscilačního amplitudového testu (černé body znázorňující konstantní hodnoty elastického modulu, červený bod znázorňující konec LVO, G' – paměťový modul, G'' – viskózní modul).

5.4.2 Dynamická mechanická analýza

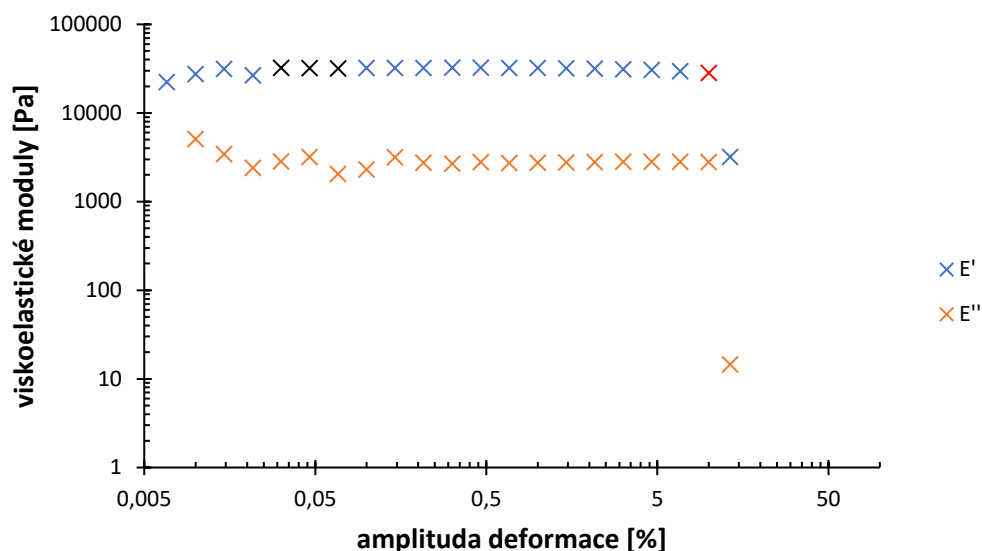
Dynamická mechanická analýza (DMA) hydrogelů byla provedena na reometru Discovery HR-2 (TA Instruments). V tomto experimentu byly také nastaveny dva kroky. První krok zahrnoval relaxaci vzorky, kdy bylo nastavení stejné jako při oscilačním amplitudovém testu, tedy doba relaxace 2 minuty při teplotě 25 °C. V druhém kroku byl nastaven samotný experiment, kdy jednotlivé parametry experimentu jsou zobrazeny v tabulce 2. Při DMA byla mezera mezi horní pohyblivou deskou a spodní stacionární deskou volena na základě axiální síly, která byla v rozmezí 1-2 N, proto se *gap* pohyboval v rozmezí od 3000 do 4000 μm .

Tabulka 2: Parametry DMA

Nastavení experimentu	
Geometrie	SST ST XHATCH 20MM
mezera (<i>gap</i>) [μm]	3000–4000
čas relaxace [s]	120
teplota [$^{\circ}\text{C}$]	25
frekvence [Hz]	1
amplituda deformace [%]	0,1 – 20

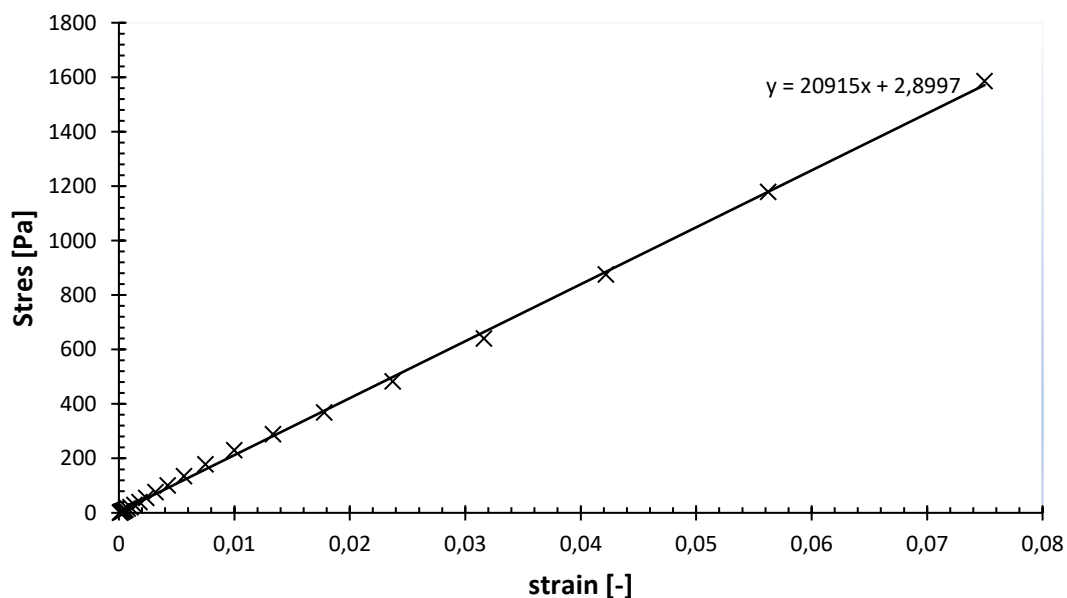
Vyhodnocení dat z DMA

Změřená experimentální data pomocí reometru byla stejně jako u reologického měření vyhodnocována pomocí programu MS Excel. U této metody byl jako hlavní parametr stanoven paměťový modul jednotlivých vzorků a Youngův modul. Posléze byl také vyhodnocen konec LVO. Obdobně jako u vyhodnocení reologie bylo plató určeno z průměrných hodnot bodů nacházejících se v oblasti, kde je elastický modul konstantní. Tyto body jsou zvýrazněny černě v obrázku 28. Poté byl vyhodnocen konec LVO, kdy došlo k poklesu elastického modulu o více jak 5 %, obdobně jako v kapitole vyhodnocení reologie.



Obrázek 28: Vzorový výsledek DMA (černé body zobrazují konstantní hodnoty elastického modulu, červený bod znázorňuje konec LVO, E' – elastický modul, E'' – viskózní modul)

Jako poslední parametr, který byl vyhodnocen pomocí DMA je Youngův modul v tlaku. Pro stanovení Youngova modulu je důležité nejdříve sestavit graf závislosti stresu na *strainu* avšak abychom dostali výsledný Youngův modul v pascálech musíme *strain* vynést jako bezrozměrnou veličinu. Následně dojde k proložení naměřených dat lineární regresí a samotný Youngův modul je směrnice sestavené přímky. Vzorový graf pomocí, kterého je stanoven Youngův modul je zobrazen na obrázku 29.



Obrázek 29: Vyhodnocení Youngova modulu ze závislosti *stresu* na *strainu*

5.5 Bobtnání hydrogelů

Pro zkoušku bobtnání hydrogelů byly použity PVAI hydrogely s přidavkem biopolymeru v poměru 9:1. Byly připraveny hydrogely s přidavkem biopolymeru, kdy pro každý biopolymer byly použity 2, 3 a 4 počty cyklů mražení. Tyto vzorky byly měřeny ve dvou roztocích – destilované vodě a fyziologickém roztoku. Dvě různá prostředí byla použita, aby se sledoval vliv iontové síly na bobtnání hydrogelů.

Samotný experiment probíhal po dobu 8 hodin, kdy nejdříve došlo k zvážení vzorku hydrogelu. Následně došlo k umístění tohoto vzorku do vialky s destilovanou vodou nebo fyziologickém roztokem. K vážení docházelo po 30 minutách, 1, 2, 3 a 8 hodinách, kdy před samotným vážením byl vzorek osušen od přebytečné vody pomocí buničiny. Z následných naměřených dat byl spočítán stupeň bobtnání pomocí rovnice 1 (uvedené v kapitole 2.1.3).

5.6 Sušení

Tento experiment byl zaměřen na schopnost hydrogelů zadržovat vody při procesu sušení, kdy se využilo laboratorního zařízení analyzátor vlhkosti Denver IR 35 Moisture Analyzer. Experiment probíhal po dobu 90 minut při teplotě 110 °C, kdy byla hmotnost zaznamenávána každých 30 vteřin. Co se týká nastavení portálu, který zaznamenává data z vah, bylo zvoleno 1200 bitů za sekundu, 7 datových bitů a lichá parita. Jelikož při tomto experimentu zařízení zaznamenává pouze hmotnost je důležité přepočítat pokles hmotnosti na veličinu zvanou relativní úbytek hmotnosti, což nám umožní porovnávat jednotlivé vzorky mezi sebou. Přepočet hmotnosti na relativní úbytek hmotnosti byl na základě rovnice (9):

$$m_{\text{rel}} = \frac{m_{\text{celkem}} - m_n}{m_{\text{celkem}}} \quad (9)$$

de m_{rel} je relativní úbytek hmotnosti, m_{celkem} je celková hmotnost vzorku před procesem sušení a m_n je naměřená hmotnost při procesu sušení.

Po přepočítání hmotnosti na relativní úbytek hmotnosti se pokračovalo ve vyhodnocení získaných dat v programu OriginPro (verze 2019b), kdy naměřená data byla proložena Boltzmannovým modelem a následně zderivována. Poté byl odečten inflexní bod Boltzmannova modelu, který odpovídá největšímu úbytku vody při sušení a koncový bod, z kterého byla následně určena sušina vzorku.

5.7 Mikrokolorimetrická charakterizace interakcí mezi PVA a biopolymery

Mikrokolorimetrie je disciplína, která sleduje tepelné projevy různých fyzikálně-chemických dějů jako je agregační chování tenzidů, vznik polyelektrolytových komplexů a studium různých interakcí (ligand-protein, protein-protein a enzym-substrát). Mikrokolorimetrické experimenty probíhají za přesně daných podmínek – konstantní teplotě nebo objemu. Mezi často využívané mikrokolorimetrické metody patří izotermická titrační kalorimetrie (ITC) a diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Jedním z jevů, který můžeme sledovat pomocí ITC je vznik interakcí, v této diplomové práci byl pozorován vznik interakcí mezi PVAI a biopolymery, kterou byly využity jako aditiva modifikující vlastnosti nosného PVAI hydrogelu. ITC byla

sledována pomocí kalorimetru MicroCal PEAQ – ITC od společnosti Malvern, který je zobrazen na obrázku 28.



Obrázek 30: Mikrokolorimetr MicroCal PEAQ – ITC od společnosti Malvern [88]

Mikrokolorimetr MicroCal PEAQ – ITC patří mezi vysoce citlivé, nízko objemové kalorimetry, jenž se využívají ke studiu biomolekulárních interakcí v roztoku. Poskytuje přímé měření tepla uvolněného nebo absorbovaného během chemických procesů, při kterých dochází ke vzniku různých vazebných interakcí. Ze zaznamenaného tepla jsme následně schopny vypočítat vazebnou afinitu, stechiometrii, entalpii a entropii, a to vše s minimální spotřebou vzorku. Využití tohoto kalorimetru je široké a lze ho využít od studia interakcí malých molekul přes studium interakcí protilátek a proteinů až po kinetiku enzymů [88].

Pro studium interakcí mezi PVAI a biopolymery byly připraveny roztoky PVAI a jednotlivých biopolymerů o koncentraci dané v tabulce 3.

Tabulka 3: koncentrace roztoků

Vzorek	koncentrace [hm. %]
PVAI	4
DEX	7
DEAE	7
PEG	7
SA	5
CH	-

Experiment probíhal za konstantní teploty (25 °C) a stálého míchání v měrné cele. Nejdříve bylo do cely napipetováno 200 μ l roztoku PVAI a do injekční stříkačky bylo nadávkováno 40 μ l daného biopolymeru. Následně byla stříkačka zasunuta do mikrokolorimetru a utěsněna. Po přípravě aparatury byl spuštěn a nastaven program, který řídí celý experiment. Biopolymer byl

přidáván po jednotlivých krocích, kdy se experiment skládal z 19 přidavků s intervalem mezi jednotlivými přidavky 150 sekund.

5.8 Kryo-SEM vizualizace morfologie hydrogelů

Pro zkoumání morfologie PVAI hydrogelů s přidavkem různých biopolymerů byla použita metoda rastrovací elektronová mikroskopie s kryo-systémem (kryo-SEM). Tato metoda je velmi šetrná pro vzorky, které obsahují velké množství vody, proto byla využita pro studium morfologie hydrogelových materiálů. Tento experiment proběhl ve spolupráci s Ústavem přístrojové techniky Akademie věd (ÚPT). Z důvodu velkého vytížení zařízení na ÚPT bylo pomocí kryo-SEM proměřeno pouze 4 vzorků, kdy jeden byl hydrogel připravený pouze z PVAI. Zbylé 3 vzorky obsahovaly jako aditivum PEG, SA, a DEAE.

Při přípravě vzorků na měření nejdříve došlo k nakrájení vzorků na menší části, které odpovídali přibližně 2 mm³. Následně byly takto zmenšené vzorky uchyceny do měděných trubiček a zmrazení ponořením do tekutého dusíku. Takto fixované vzorky byly umístěny do držáku pod tekutým dusíkem a přeneseny pomocí vakuového transferu (EM VCT 100, Leica Microsystems) do kryogenní vakuové přípravné komory (EM ACE 600, Leica Microsystems), kde byly jednotlivé vzorky zlomeny při teplotě -130 °C. Následně proběhla sublimace po dobu 7 minut při teplotě -95 °C. Poté byly vzorky znovu pomocí vakuového transferu přesunuty, ale tentokrát už do skenovacího elektronového mikroskopu, který byl vybaven kryostolkem. Následně proběhlo samotné pozorování pomocí 1–2 kV elektronového svazku.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato diplomová práce se zabývá mechanickými vlastnostmi semi-IPN hydrogelů na bázi PVAI s přídavkem vhodných biopolymerů. Základním předpokladem pro tvorbu těchto modifikovaných semi-IPN hydrogelů je fakt, že nedochází přídavkem aditiva k výrazným změnám v mechanických vlastnostech hydrogelu. Tyto materiály mají potenciál pro následně využití v řízeném uvolňování aktivní látky, které by bylo cíleně modifikováno volbou vhodného modifikujícího biopolymeru, který by transportní charakteristiky aktivní látky ovlivňoval jednak tvorbou interakce (fyzikální/chemické) ale rovněž na základě sterického působení. Na základě literární rešerše bylo vybráno 5 biopolymerů, které se inkorporovaly do sítě PVAI hydrogelů. Tyto materiály byly následně charakterizovány pomocí oscilační reologie, kde byl stanoven elastický modul, konec LVO a ztrátový úhel, který podává informaci o viskoelastických charakteristikách připravených materiálů. Následně byla k charakterizaci hydrogelů využita metoda DMA pomocí, které se stanovuje Youngův modul vzorku a další parametry.

Pro získání komplexnějšího pohledu na mechanické charakteristiky studovaných hydrogelů získaná reologická data byla doplněna o studium bobtnání a sušení hydrogelů. Nejprve tedy byla pozornost věnována bobtnání hydrogelů a vlivu přídavku jednotlivých biopolymerů na schopnost hydrogelů bobtnat. V tomto experimentu se také řešil vliv počtu cyklů MT na stupeň bobtnání. V neposlední řadě se sledoval vliv iontové síly prostředí, ve kterém vzorek bobtnal. Následně bylo studováno rovněž sušení jednotlivých hydrogelů za využití laboratorního analyzátoru vlhkosti. Pro studium interakcí mezi biopolymery a PVAI v roztoku bylo využito měření na mikrokolorimetru. Potvrzení vzniku semi-IPN sítě bylo následně analyzováno pomocí kryo-SEM ve spolupráci s ÚPT, kdy se sledovala morfologie vybraných vzorků hydrogelů.

6.1 Mechanické charakteristiky hydrogelů

K charakterizaci mechanických vlastností bylo využito dvou experimentů, které lze provést na reometru. První experiment byl oscilační amplitudový test, který vedl ke získání parametrů jako je plató, konec LVO a ztrátový úhel. Plató podává informaci ohledně četnosti uzlů v trojrozměrné síti hydrogelu. V případě, že se jedná o konec LVO tak dostáváme informaci o schopnosti hydrogelů odolávat mechanickému namáhání a schopnosti hydrogelu relaxovat po působení namáhání. Poslední veličina, která lze získat z oscilačního amplitudového testu je ztrátový úhel, který poskytuje informaci, zda je vzorek *solid-like* nebo *liquid-like*, kdy tyto termíny lze do češtiny volně přeložit jako podobné pevné látce nebo podobné kapalině, tedy zda je svými vlastnosti z makroskopického pohledu materiál bližší kapalině nebo pevné látce.

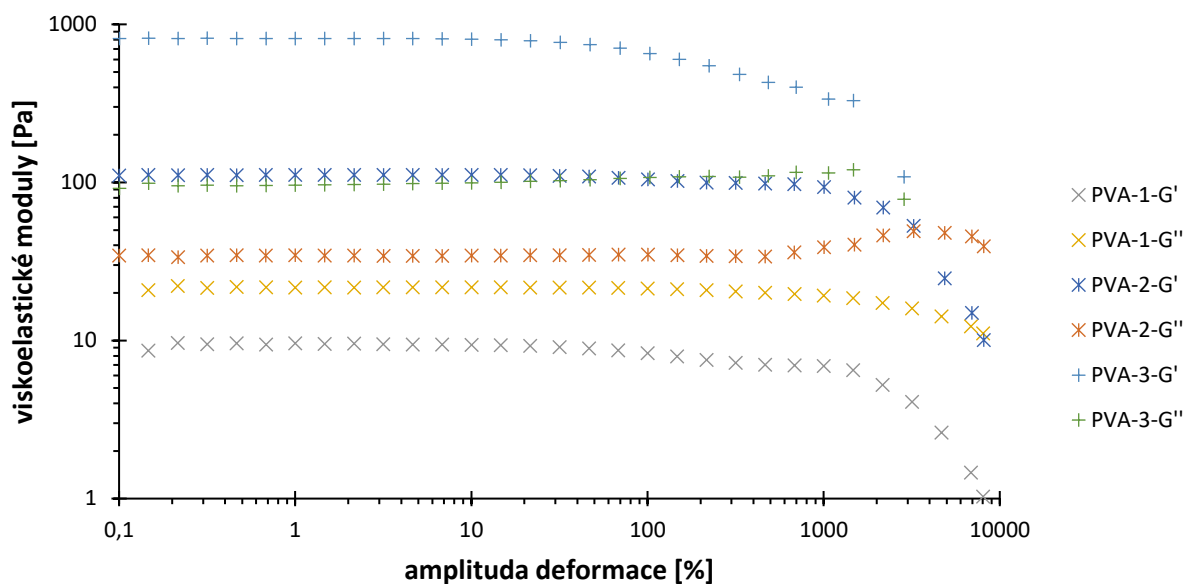
Druhým experimentem byla DMA, která poskytuje informaci o Youngově modulu a též platu elastického modulu, který obdobně jako u oscilačního amplitudového testu poskytuje informaci o počtu uzlů v síti. Avšak tento parametr je obtížně porovnatelný s hodnotami z „klasické“ oscilační reologie.

6.1.1 Vliv počtu cyklů

Hlavním faktorem ovlivňující mechanické vlastnosti fyzikální PVAI hydrogely je proces MT. Na základě literární rešerše a předchozích zkušeností z bakalářské práce byla zvolna doba trvání procesu mražení 1 hodina, avšak počet cyklů byl na základě proměřených experimentálních dat optimalizován, kdy se uvažovalo o 1, 2 nebo 3 cykly. Pro optimalizaci bylo využito PVAI hydrogel bez přídavku aditiva, který podstoupil rozdílný počet cyklů. Vliv počtu cyklů je zobrazen na obrázku 31. Zde je vidět, že s rostoucím počtem MT cyklů rostou i viskoelastické moduly. Při 1 cyklu MT nedošlo k zesíťování vzorků, což bylo pozorováno na základě toho, že viskózní modul je vyšší než elastický. To mělo též za následek, že ztrátový úhel byl větší než 45° , a to znamená, že hydrogel vykazoval chování podobné kapalině. I přes časovou výhodnost pouze 1 cyklu MT nebyl tento počet cyklů použit, protože nedochází ke vzniku trojrozměrné hydrogelové sítě.

V případě, že použijeme 3 cykly MT, dojde k výraznému nárůstu viskoelastických modulů, kdy elastický modul je několikanásobně vyšší než viskózní, což signalizuje, že došlo ke vzniku silné trojrozměrné sítě hydrogelu. To mělo za následek, že připravené hydrogely měly vysokou mechanickou odolnost vůči mechanickému namáhání, kdy nedocházelo k překřížení jednotlivých modulů. Avšak i když došlo k přípravě stabilního a vysoce zesíťovaného hydrogelu pomocí 3 cyklů MT nebyl tento počet cyklů použit, protože nedocházelo k překřížení jednotlivých modulů a při vyšších hodnotách amplitudy deformace docházelo k vyklouznutí vzorku z měřené oblasti.

Na základě nedostatečného zesíťování při použití 1 cyklu MT, a naopak připravení hydrogelů s vysokou mechanickou tuhostí při použití 3 cyklů MT, byl zvolen kompromis a v průběhu experimentální části se převážně používaly 2 cykly MT. V případě 2 cyklů MT dosahují vzorky dostatečného zesíťování, což je charakterizováno vyšším elastickým modulem, než je viskózní modul. Následně však tyto hydrogely odolávaly mechanickému namáhání v menší míře než hydrogely s 3 cykly MT, což vedlo k překřížení jednotlivých modulů (při amplitudě deformace okolo 3 000 %).



Obrázek 31: Vliv počtu cyklů na viskoelastické moduly PVAI hydrogelů (G' – elastický modul, G'' – viskózní modul, PVA-1 – 1 cyklus MT, PVA-2 – 2 cykly MT, PVA-3 – 3 cykly MT).

6.1.2 Vliv teploty při procesu mražení

Dalším velmi významným vlivem na mechanické vlastnosti PVAI hydrogelů je teplota při procesu mražení. Běžně se pro přípravu PVAI hydrogelů využívá teplota mražení $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, avšak udržet konstantní teplotu v běžném laboratorním mrazáku je téměř nemožné, protože tyto zařízení pracují v cyklech a dokáží se pohybovat v rozmezí od -15 do $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kvůli tomuto technickému problému je velmi obtížné připravit hydrogely se stejnými mechanickými vlastnostmi i přes to, že proces přípravy hydrogelů byl vždy stejný. Řešení toho problému je námět pro budoucí směřování výzkumu. Tedy zaměřit se na využití mrazicího zařízení, které dokáže držet po celou dobu konstantní teplotu a nemrazí podobně jako klasický mrazák v „teplotních cyklech“.

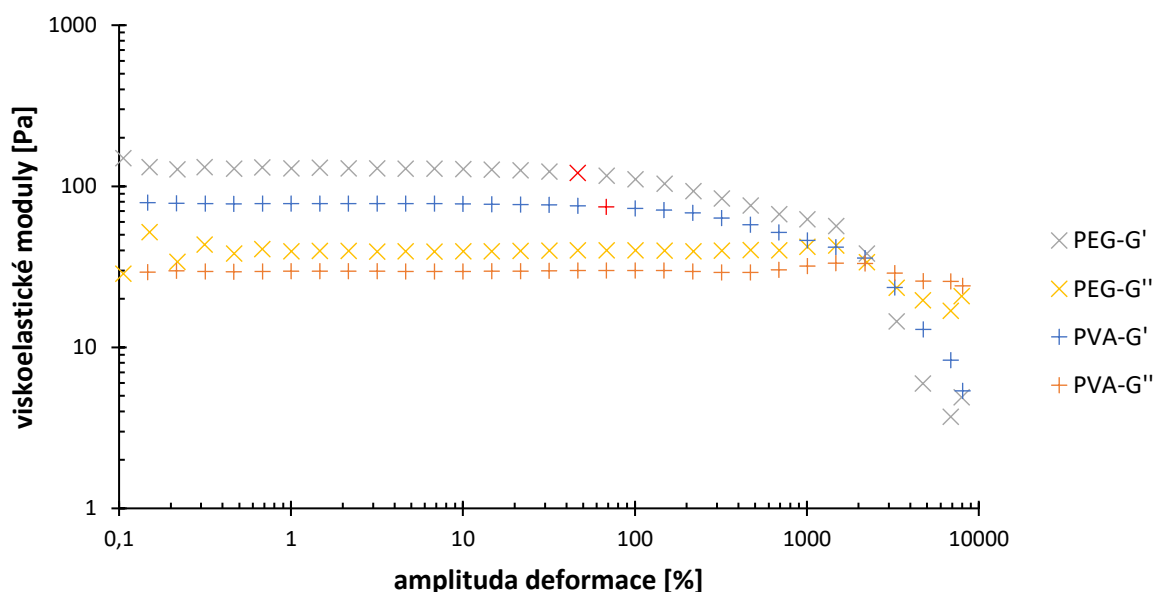
6.1.3 Vliv přídavku biopolymeru – reologie

Stěžejním cílem diplomové práce bylo prostudovat vliv vybraných biopolymerů (na základě literární rešerše byl zvolen PEG, SA, CH, DEX a DEAE) na mechanické vlastnosti PVAI hydrogelů. Při řešení této problematiky byly připraveny fyzikálně síťované hydrogely, kde byl přídavek biopolymeru zastoupen pouze v 1 hm. % aby bylo dosaženo semi-IPN sítě, kdy jednotlivé řetězce zvolených biopolymerů jsou propleteny v nosné trojrozměrné síti hydrogelu tvořené řetězcem PVAI.

Příklad získaného grafického znázornění závislosti viskoelastických modulů na amplitudě deformace vzorků semi-IPN hydrogelu na bázi PVAI s přídavkem PEG a PVAI hydrogelu bez přídavku biopolymeru, je zobrazeno na obrázku 32. Je patrné, že v obou případech při konstantním LVO převažuje elastický modul, takže se vzorky chovají jako materiály s převahou elastické složky. S rostoucí amplitudou deformace dochází k poklesu elastického modulu a ukončení LVO. V případě, že dále pokračujeme zvyšováním amplitudy deformace

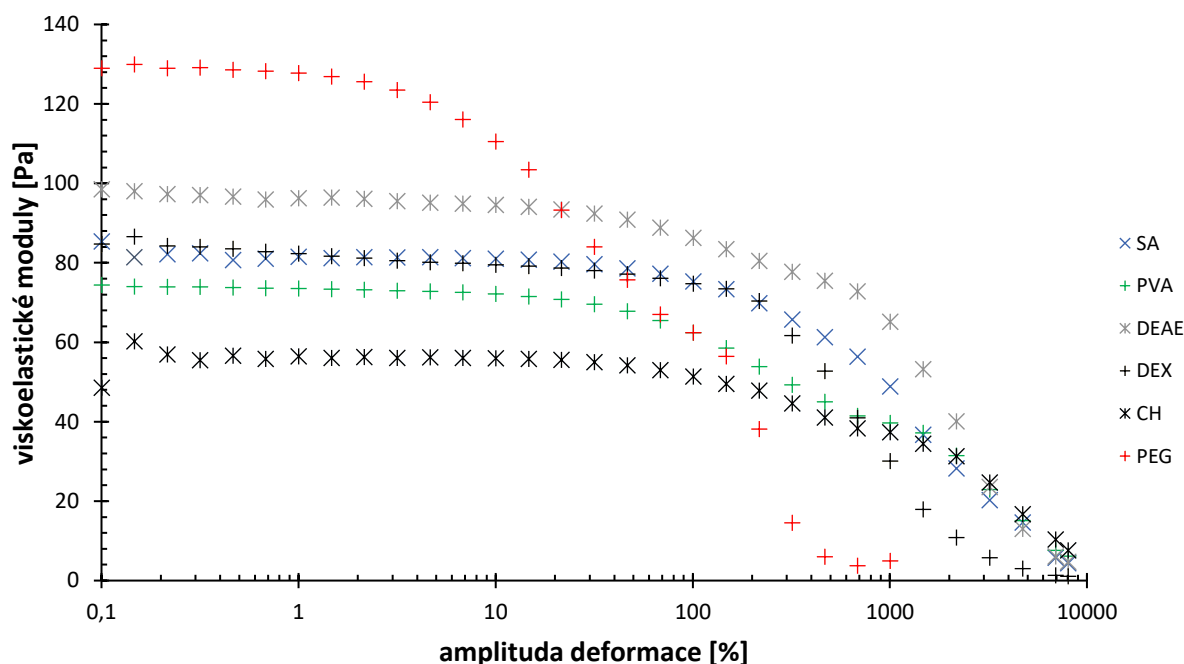
dojde k překřížení elastického modulu s viskózním (cca okolo amplitudy deformace 2000–3000 %). Avšak aby došlo k překřížení jednotlivých modulů musí být vzorek namáhán vysokou hodnotou amplitudy deformace při které dochází k výraznému nárůstu veličiny zvané *raw phase*, která naznačuje, že setrvační síla geometrie se stává dominantní složkou v měřeném signálu, což může způsobit zkreslení výsledných dat. Z toho důvodu se v dalším vyhodnocení budeme zabývat pouze parametry jež byly získány před bodem překřížení [89].

Pokud se vrátíme k zobrazeným výsledkům na obrázku 32 tak je patrné, že v tomto případě má vliv přídavek PEG na výsledné vlastnosti hydrogelu, kdy dojde k nárůstu viskoelastických modulů, ale naopak dochází k poklesu amplitudy deformace, při které dochází k ukončení LVO. Pro vyšší přehlednost je bod, při kterém dochází k ukončení LVO zobrazen červenou značkou.



Obrázek 32: Grafická závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace v porovnání PVAI hydrogelu bez přídavku a s přídavkem PEG.

Následně na obrázku 33 je zobrazena závislost elastického modulu na amplitudě deformace, všech připravených PVAI hydrogelů, jelikož většina elastických modulů nabývala podobných hodnot nejsou hodnoty na ose y zobrazeny v logaritmickém měřítku, aby byly patrné větší rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Z grafu je patrné, že nejvýznamnější vliv na mechanické vlastnosti má přídavek PEG a chitosanu.



Obrázek 33: Závislost elastických modulů na amplitudě deformace. Porovnání vzorků s přidavky různých biopolymerů.

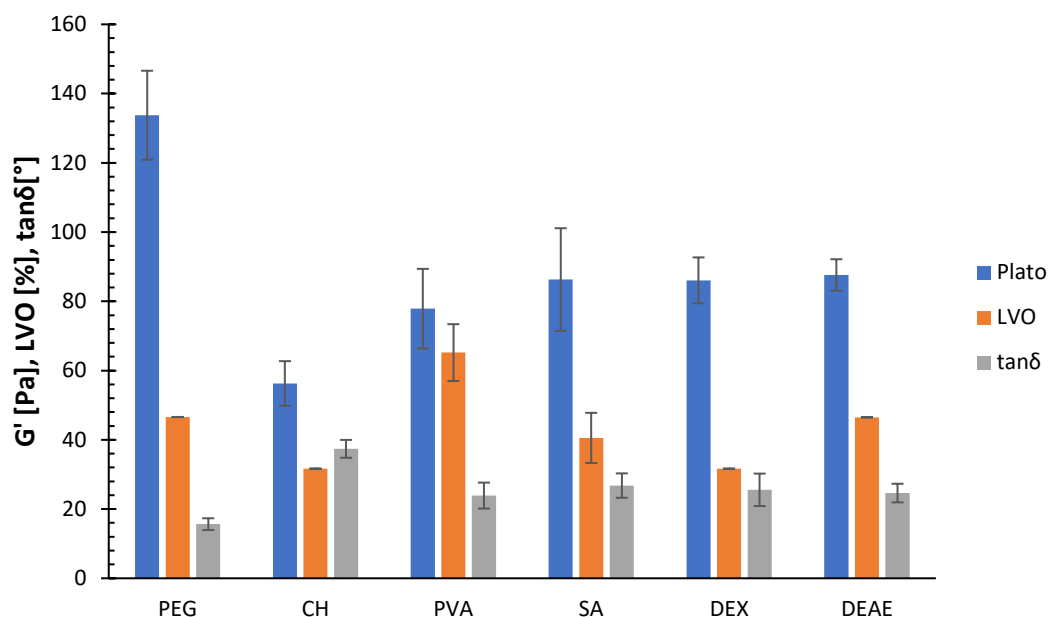
Porovnání jednotlivých přísad biopolymeru na mechanické vlastnosti PVAI hydrogelů je zobrazeno na obrázku 34. Naměřená data byla zpracována dle postupu uvedeného v kapitole 5.4.2. Byly získány následující parametry – elastický modul, ztrátový úhel a konec LVO. Na jejichž základě byly jednotlivé připravené semi-IPN hydrogely vzájemně porovnány. Z naměřených dat (obrázek 34) je patrné že na hodnotu elastického modulu má největší vliv přísada PEG a CH, kdy v případě přísady PEG dochází k nárůstu elastického modulu oproti PVAI hydrogelu bez přísady biopolymeru vůči, kterému jsou jednotlivé přísady biopolymerů porovnávány. V případě přísady chitosanu dochází k poklesu elastického modulu. Tento výrazný pokles může být způsoben vlivem iontové síly, která byla způsobena přípravou vzorku, kdy dochází k navázání jednotlivých iontů na polymerní řetězce, což znesnadňuje tvorbu slabých vazebných interakcí při procesu MT, a to vede k poklesu elastického modulu. Když porovnáme PVAI hydrogely s přísadou SA, DEX a DEAE biopolymerů nedochází k výraznému ovlivnění elastického modulu. Obecnou problematiku hydrogelových materiálů pro aplikaci v tkáňové inženýrství řeší autoři v článku *Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications* [90], kde předpokládají, že při použití syntetických polymerů k modifikaci hydrogelů dojde k posílení mechanických vlastností hydrogelů. Avšak v případě začlenění přírodních biopolymerů do struktury hydrogelu nedochází k výraznému ovlivnění mechanických vlastností, ale k ovlivnění biochemických vlastností jako antibakteriální aktivity, řízení buněčné činnosti a další. To odpovídá mechanickým vlastnostem, které byly naměřeny v této kapitole. Problematikou PVAI hydrogelů s přísadou PEG se zabývali autoři **Lingling**

Cui a kolektiv [91], které dospěli k závěru, že s rostoucím zastoupením PEG ve struktuře hydrogelu dochází k nárůstu mechanických vlastností.

Dalším parametrem, který je důležitý pro charakterizaci mechanických vlastností PVAI hydrogelů je konec LVO, který udává, schopnost hydrogelu reagovat na mechanické namáhání (odolávat mu na základě pevnosti vazeb, respektive schopnosti regenerovat fyzikální spoje uvnitř trojrozměrné sítě hydrogelu). Na obrázku 33 je vidět, že nejvyšší hodnoty amplitudy deformace dosahuje PVAI hydrogel bez přídavku biopolymeru, kdy tento vzorek nejlépe odolává mechanickému namáhání. To může znamenat, že biopolymer narušuje strukturu hydrogelové sítě a zhoršuje jeho schopnost reagovat na mechanické namáhání.

Elastický modul a konec LVO společně charakterizují strukturu trojrozměrné sítě hydrogelu, ale ve vzájemném vztahu jdou proti sobě, kdy s rostoucí hodnotou elastického modulu se snižuje potřebné mechanické namáhání k ukončení LVO. V případě, že dochází k růstu elastického modulu dochází ke vzniku vyššího počtu uzlů v trojrozměrné síti hydrogelu, a to zvyšuje pravděpodobnost výskytu mechanicky méně odolných uzlů, které následnou deformací způsobí pokles elastického modulu a ukončení LVO při nižších hodnotách amplitudy deformace.

Poslední diskutovanou veličinou je ztrátový úhel, který je zobrazen na obrázku 34 šedým sloupcem. Tato veličina udává makroskopický charakter zkoumaného materiálu. Jelikož všechny připravené a proměřené vzorky nabývají hodnot ztrátového úhlu menší než 45° tak to znamená, že ve vzorku převládá elastický modul nad viskózním, což je charakteristické pro hydrogely. Ztrátový úhel je definován především nosnou sítí, kterou v tomto případě definuje 9 hm. % PVAI. To má za následek, že ztrátový úhel je pro všechny vzorky podobný. V případě, že se zaměříme na hodnoty jednotlivých ztrátových úhlů tak pro PVAI hydrogely s přídavkem SA, DEX, DEAE a bez přídavku nabývá ztrátový úhel velmi podobných hodnot a nedochází zde k ovlivnění této veličiny vlivem biopolymeru. Naopak, když sledujeme ztrátový úhel pro PVAI hydrogely s přídavkem PEG a CH, dochází k ovlivnění hodnot pro ztrátový úhel u jednotlivých vzorků. Z naměřených dat vyplývá, že tato veličina má vzájemný vztah s elastickým modulem, protože s rostoucí hodnotou elastického modulu dochází k poklesu ztrátového úhlu. To nejspíše souvisí s počtem uzlů v trojrozměrné síti hydrogelu, kdy čím více uzlů daná síť obsahuje tím spíše se daný materiál chová jako pevná látka. V článku od autorů *Anna P. Cameron a kolektiv* [92], byl studován ztrátový úhel v závislosti na koncentraci polymeru, který tvoří trojrozměrnou síť hydrogelu. S rostoucí koncentrací polymeru docházelo ke zvyšování elastického modulu a snižování ztrátového úhlu jako v této diplomové práci. Na základě toho lze říct, že počet uzlů ve struktuře hydrogelu přímo souvisí se ztrátovým úhlem.

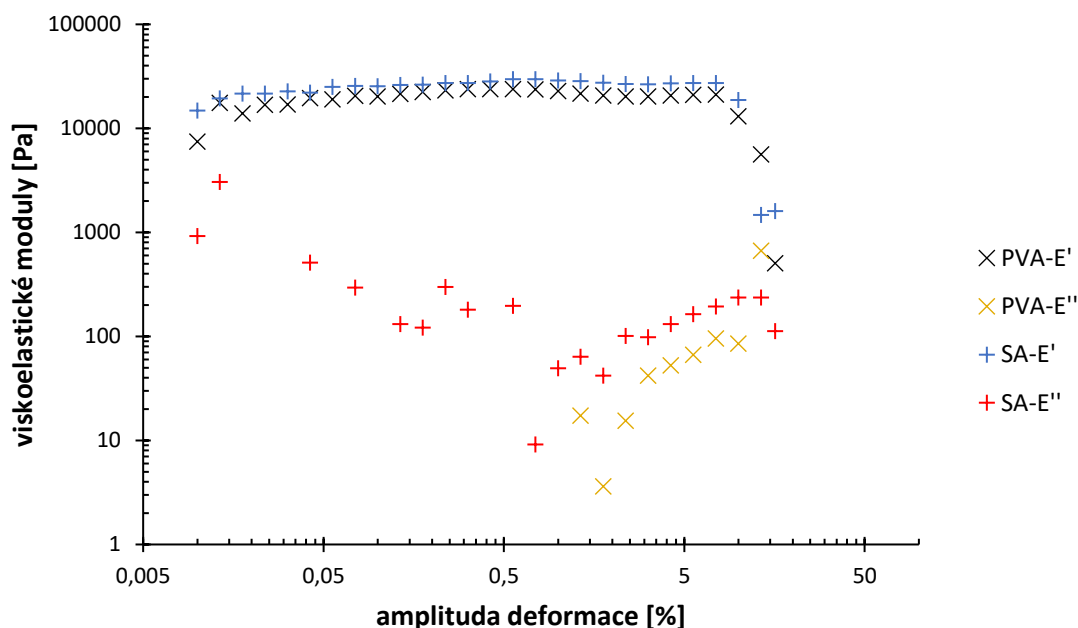


Obrázek 34: Mechanické vlastnosti PVAI hydrogelů s přidavkem biopolymeru (G' - plato, LVO – konec lineární viskoelastické oblasti, $\tan\delta$ – ztrátový úhel)

6.1.4 Vliv přidavku biopolymeru – DMA

Další metoda použita pro charakterizaci mechanických vlastností PVAI hydrogelů s přidavkem biopolymeru byla DMA. Pomocí této metody byl stanoven Youngův modul a elastický modul (plato). Tato metoda má hlavní výhodu oproti „klasické“ oscilační reologii, že nedochází k prokluzu mezi vzorkem a geometrií, což může zanášet chybu do získaných dat. Avšak v případě, že se k této metodě používají reometry, které jsou primárně určeny pro získávání informací na základě deformace krotivým momentem jako byl reometr HR-2, který byl použit v této diplomové práci, je obtížné dosáhnout vysokých hodnot amplitudy deformace, což má za následek značné omezení této metody.

Grafické znázornění viskoelastických modulů na amplitudě deformace je zobrazen na obrázku 35 pro DMA. Na tomto obrázku se porovnají jednotlivé moduly pro čistý PVAI hydrogel a pro PVAI hydrogel s přidavkem SA. Jak je patrné z grafu, tak hodnoty pro viskózní modul jsou poměrně rozházené, a proto je výhodou, že tyto hodnoty nejsou potřeba k žádnému vyhodnocení a lze je vypustit. Avšak pokud se zaměříme na elastický modul je patrné, že v tomto případě nedochází k výraznému ovlivnění jeho hodnot vlivem přidavku biopolymeru.



Obrázek 35: Grafická závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace v porovnání hydrogelu bez přídavku a s přídavkem SA získané metodou DMA

Vliv přídavku jednotlivých biopolymerů na naměřené a stanovené hodnoty Youngova a elastického modulu jsou zobrazeny v tabulce 4. Youngův modul nám udává, jak snadno lze materiál deformovat. Z tabulky je patrné, že jednotlivé přídavky zvyšují jak Youngův, tak elastický modul oproti PVAI hydrogelů bez přídavku biopolymeru. Dle předpokladu dosahuje nejvyššího elastického a Youngova modulu PVAI hydrogel s přídavkem PEG, což potvrzuje měření z předchozí kapitoly. Avšak v porovnání jednotlivých přídavků, nedochází k výraznému ovlivnění mechanických vlastností připravených hydrogelů, což je pro semi-IPN hydrogely žádoucí. Hodnota Youngova modulu je důležitá charakteristika, která udává možnou aplikaci připravených hydrogelů. Protože hydrogely často bývají použity v tkáňovém inženýrství, kde jsou využívány jako *scaffolds*, které vyplňují prostor v místě defektu musí splňovat mechanické vlastnosti v okolí tkáně a ve většině případů se využívají k náhradě kůže, kde je žádoucí, aby dosahovaly Youngova modulu v rozmezí 25–220 kPa to by námi připravené hydrogely splňovaly. Avšak hydrogely jsou pestrá skupina materiálů a například v článku od autorů *Rui Chen a kolektiv* [93], bylo publikováno několik hydrogelů, které dosahovaly různých hodnot Youngova modulu. Například hydrogely na bázi PVAI modifikovaných poly(dopaminem) nabývaly hodnot kolem 4,6 kPa. Také však byly v tomto článku připravené hydrogely na bázi PVAI, jenž byly modifikovány polyvinylpyrrolidonem, který zvýšil Youngův modul k hodnotě 125 kPa. Jak je z celé škály hodnot, kterých mohou PVAI hydrogely nabývat je vždy důležité zvolit vhodnou metodu přípravy pro potřebnou aplikaci.

Tabulka 4: Naměřené a stanovené hodnoty pro DMA

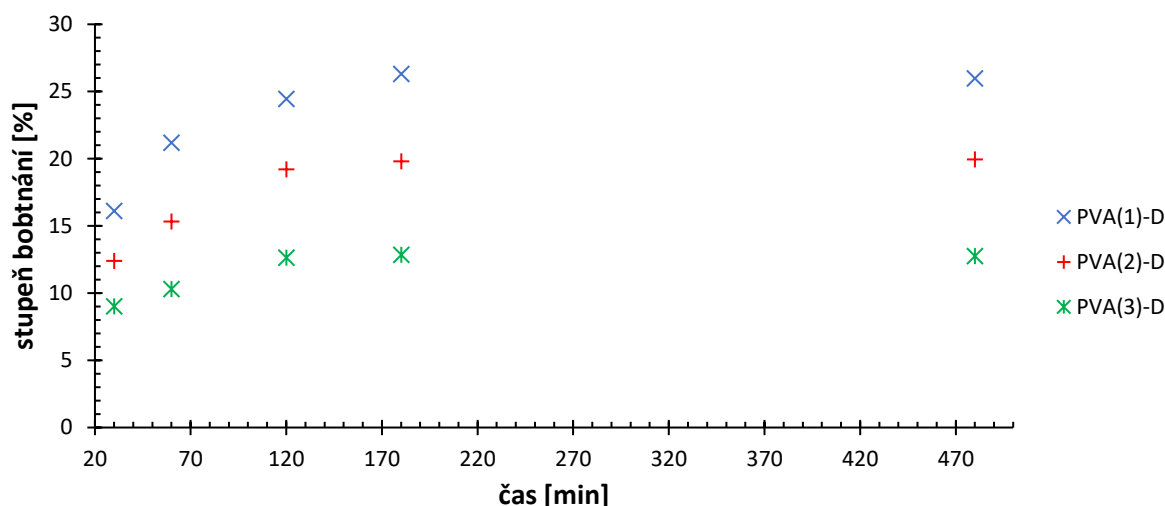
Vzorek	Youngův modul [kPa]	Plato [kPa]
SA	25,20 ± 2,11	24,43 ± 1,21
PEG	36,55 ± 8,73	28,87 ± 1,32
DEAE	26,27 ± 0,95	25,71 ± 1,64
DEX	30,68 ± 2,45	28,68 ± 0,52
CH	28,98 ± 1,27	28,46 ± 1,51
PVA	23,34 ± 2,12	23,25 ± 2,40

6.2 Bobtnání hydrogelů

Bobtnací experimenty se zaměřily na stanovení stupně bobtnání jednotlivých připravených hydrogelů na bázi PVAI. Jedná se o parametr, který popisuje schopnost hydrogelů začlenit disperzní prostředí do své struktury. Čím vyšší je stupeň bobtnání tím více disperzního prostředí je daný hydrogel schopen začlenit do své struktury. Tento parametr je závislý na mnoha podmínkách jako je iontová síla prostředí, pH, hustota zesítní trojrozměrné sítě hydrogelu, což je parametr, který přímo souvisí s mechanickými vlastnostmi daného hydrogelu, kdy čím více daný hydrogel obsahuje uzlů ve své trojrozměrné síti tím méně je ochotný bobtnat. V neposlední řadě také závisí na materiálu, z kterého je hydrogel připraven.

6.2.1 Vliv počtu cyklů

Prvním vlivem na stupeň bobtnání je počet cyklů MT, které daný hydrogel podstoupil při jeho přípravě. Tento vliv byl nejdříve sledován na PVAI hydrogelu bez přídavku biopolymeru a kdy samotné bobtnání probíhalo v destilované vodě. Je patrné, že s rostoucím počtem cyklů klesá schopnost hydrogelu pohltit vodu a tím klesá i stupeň bobtnání daného hydrogelu. Tento trend je vidět na obrázku 36, kdy jsou porovnávány PVAI hydrogely s 2, 3 a 4 cykly. Z naměřených dat vychází, že nejvíce zesíťovaný PVAI hydrogel, tedy ten se 4 cykly, přestává bobtnat již po 2 hodinách při stupni bobtnání, který odpovídá hodnotě 12,64 hm. %. Naopak PVAI hydrogel, který podstoupí pouze 2 cykly MT dosahuje svého maxima až po 3 hodinách bobtnání v destilované vodě na hodnotě 26,32 hm. %. Lze předpokládat, že při vyšším počtu cyklů dochází ke vzniku pevnější a propletenější sítě, kdy mají jednotlivé řetězce polymeru omezenou pohyblivost, což má za následek, že molekuly disperzního prostředí hůře pronikají do struktury hydrogelu, a to vede ke snížení stupně bobtnání. Obdobných zjištění dospěli v článku od autorů *Hyojin Park a kolektiv* [94], kde sledovali vliv rostoucího počtu cyklů na proces bobtnání. S rostoucím počtem cyklů klesala schopnost hydrogelu absorbovat vodu.



Obrázek 36: bobtnání PVAI hydrogelu v deionizované vodě (PVA (1) – 2 cykly MT, PVA (2) – 3 cykly MT, PVA (3) – 4 cykly MT)

Tento vliv byl posléze sledován i na PVAI hydrogelech s přidavkem biopolymeru. Pro vyšší přehlednost jsou proměřené hydrogely zobrazeny v tabulce 5, kde je uveden stupeň bobtnání spolu se směrodatnou odchylkou. Z důvodu, že se v této kapitole neřešil vliv iontové síly nebyl do této tabulky zařazen PVAI hydrogel s přidavkem chitosanu z důvodu samotné přípravy tohoto typu hydrogelu, kdy dochází k významnému vlivu iontové síly.

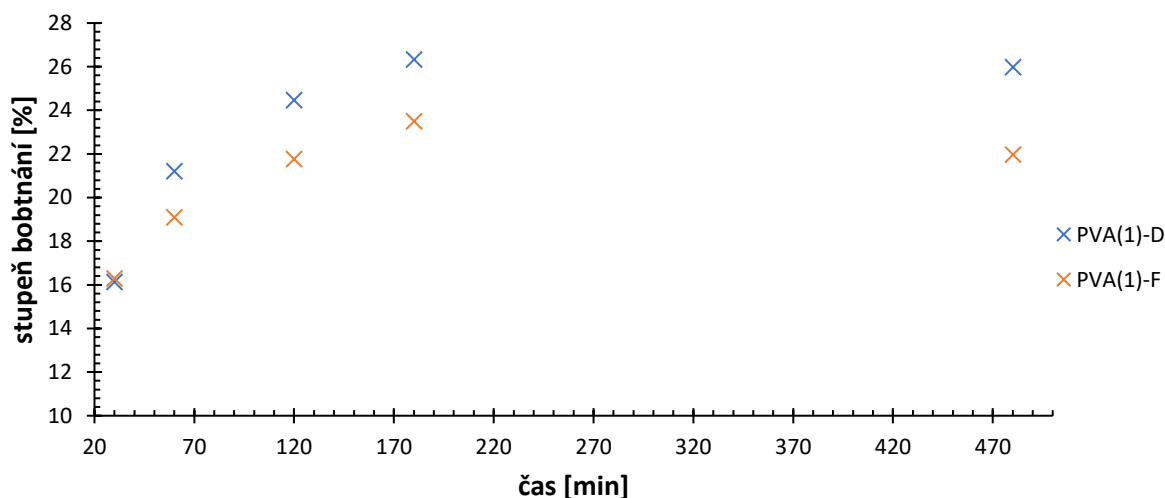
Tabulka 5: Výsledky stupně bobtnání hydrogelů s přidavkem různých biopolymerů a různým počtem cyklů MT ve vodě.

Typ hydrogelu	počet cyklů	stupeň bobtnání [%]				
		30 min	60 min	120 min	180 min	480 min
PVAI/PEG	2	28,26 ± 3,64	37,84 ± 4,34	40,11 ± 3,28	43,98 ± 1,48	49,31 ± 2,70
	3	16,74 ± 0,45	20,95 ± 0,84	25,50 ± 0,95	28,82 ± 0,98	36,97 ± 0,81
	4	20,08 ± 0,61	22,48 ± 0,47	28,27 ± 0,46	31,40 ± 0,90	35,18 ± 2,32
PVAI/SA	2	23,60 ± 2,48	36,12 ± 1,96	46,23 ± 0,59	50,83 ± 3,25	52,68 ± 2,78
	3	24,24 ± 0,55	26,37 ± 4,51	29,34 ± 3,85	31,05 ± 3,73	34,01 ± 1,41
	4	22,43 ± 1,33	24,31 ± 1,14	25,14 ± 0,80	27,75 ± 0,55	29,69 ± 0,48
PVAI/DEAE	2	31,93 ± 3,27	40,11 ± 3,10	53,20 ± 2,56	64,78 ± 1,55	75,61 ± 3,58
	3	25,48 ± 1,72	33,95 ± 1,36	40,04 ± 2,23	49,61 ± 0,91	61,64 ± 1,63
	4	16,28 ± 1,70	26,97 ± 2,46	32,80 ± 2,62	38,75 ± 0,31	49,23 ± 2,13
PVAI/DEX	2	21,56 ± 3,52	25,86 ± 0,15	34,24 ± 3,76	37,45 ± 4,92	43,00 ± 0,31
	3	18,97 ± 2,11	21,26 ± 1,72	23,79 ± 2,41	27,13 ± 3,67	33,33 ± 3,67
	4	18,87 ± 1,56	21,86 ± 3,07	22,51 ± 3,14	25,89 ± 2,90	29,28 ± 2,64
PVAI	2	16,12 ± 1,81	21,20 ± 5,25	24,47 ± 5,43	26,32 ± 4,23	25,98 ± 3,83
	3	12,42 ± 1,79	15,34 ± 0,76	19,23 ± 2,98	19,81 ± 0,48	19,95 ± 1,27
	4	9,03 ± 2,55	10,31 ± 2,39	12,64 ± 1,16	12,85 ± 2,49	12,76 ± 0,55

V případě, že se zaměříme na hodnoty stupně bobtnání při ukončení experimentu (tedy 480 min) můžeme pozorovat trend, že i přes přídavek biopolymeru, který pozitivně ovlivní schopnost hydrogelu bobtnat, dochází k poklesu hodnot stupně bobtnání s počtem realizovaných cyklů MT při přípravě hydrogelu. Můžeme tedy konstatovat, že s rostoucím počtem cyklů dochází k omezení schopnosti hydrogelu bobtnat. Samotný vliv přídavku biopolymeru bude diskutován v kapitole 6.2.3. Avšak v případě, že daný biopolymer výrazně ovlivní schopnost hydrogelu bobtnat (např.: DEAE) můžeme pozorovat, že vliv počtu cyklů je daleko výraznější.

6.2.2 Vliv iontové síly prostředí

Dalším vlivem sledovaným při experimentu zabývajícím se bobtnáním hydrogelů je vliv iontové síly prostředí. Pro studium tohoto vlivu byly PVA1 hydrogely nechány bobtnat v disperzním prostředí o různé iontové síle. Jako prostředí bez vlivu iontové síly byla brána destilovaná voda a jako prostředí s vlivem iontové síly byl v této diplomové práci použit fyziologický roztok (0,9 % roztok NaCl). Pro vzorovou ukázkou byl znovu vybrán čistý PVA1 hydrogel, kdy na obrázku 37 můžeme vidět vliv iontové síly na stupeň bobtnání daného hydrogelu. Tento hydrogel podstoupil 2 cykly mražení. Jak je vidět v případě, že hydrogel bobtná v destilované vodě dochází k zastavení bobtnání po 3 hodinách na stupni bobtnání 26,32 hm. %. Avšak v momentu, kdy hydrogel bobtná ve fyziologickém roztoku, kde je vyšší iontová síla, přestává hydrogel bobtnat již při hodnotě 23,49 hm. %.



Obrázek 37: Bobtnání PVA1 hydrogelu v prostředí o různé iontové síle.

Obdobně jako u vlivu počtu cyklů byl i v tomto případě sledován vliv iontové síly nejen na čistém PVA1 hydrogelu, ale i na hydrogelech s přídavkem biopolymeru, ale pouze s 2 cykly MT. Pro vyšší přehlednost byla sestavena tabulka 6, kde jsou zaznamenány spočítané hodnoty pro stupeň bobtnání a jeho směrodatná odchylka ve dvou různých prostředí – destilovaná voda a fyziologický roztok.

Tabulka 6: Výsledky stupně bobtnání pro PVAI hydrogely s přísádky biopolymerů v prostředí s různou iontovou silou

Typ hydrogelu	Prostředí	stupeň bobtnání [%]				
		30 min	60 min	120 min	180 min	480 min
PVAI/PEG	Destilovaná voda	28,26 ± 3,64	37,84 ± 4,34	40,11 ± 3,28	43,98 ± 1,48	49,31 ± 2,70
	Fyziologický roztok	21,70 ± 1,29	33,52 ± 0,64	41,54 ± 1,51	42,01 ± 1,29	43,61 ± 1,87
PVAI/SA	Destilovaná voda	23,60 ± 2,48	36,12 ± 1,96	46,23 ± 0,59	50,83 ± 3,25	52,68 ± 2,78
	Fyziologický roztok	15,17 ± 0,04	22,24 ± 2,08	32,26 ± 0,78	37,92 ± 5,67	41,32 ± 2,70
PVAI/DEAE	Destilovaná voda	31,93 ± 3,27	40,11 ± 3,10	53,20 ± 2,56	64,78 ± 1,55	75,61 ± 3,58
	Fyziologický roztok	21,70 ± 1,48	28,31 ± 1,54	32,95 ± 3,61	38,21 ± 2,18	42,16 ± 2,87
PVAI/DEX	Destilovaná voda	21,56 ± 3,52	25,86 ± 0,15	34,24 ± 3,76	37,45 ± 4,92	43,00 ± 0,31
	Fyziologický roztok	19,04 ± 4,56	23,65 ± 2,52	29,93 ± 2,02	33,72 ± 1,85	42,43 ± 1,84
PVAI/CH	Destilovaná voda	25,51 ± 5,53	31,13 ± 0,08	45,70 ± 3,60	53,50 ± 3,79	60,89 ± 2,99
	Fyziologický roztok	10,45 ± 2,74	17,43 ± 2,88	26,59 ± 5,84	32,99 ± 4,38	36,47 ± 5,17
PVAI	Destilovaná voda	16,12 ± 1,81	21,20 ± 5,25	24,47 ± 5,43	26,32 ± 4,23	25,98 ± 3,83
	Fyziologický roztok	16,29 ± 2,98	19,09 ± 0,45	21,77 ± 5,19	23,49 ± 0,48	21,97 ± 2,01

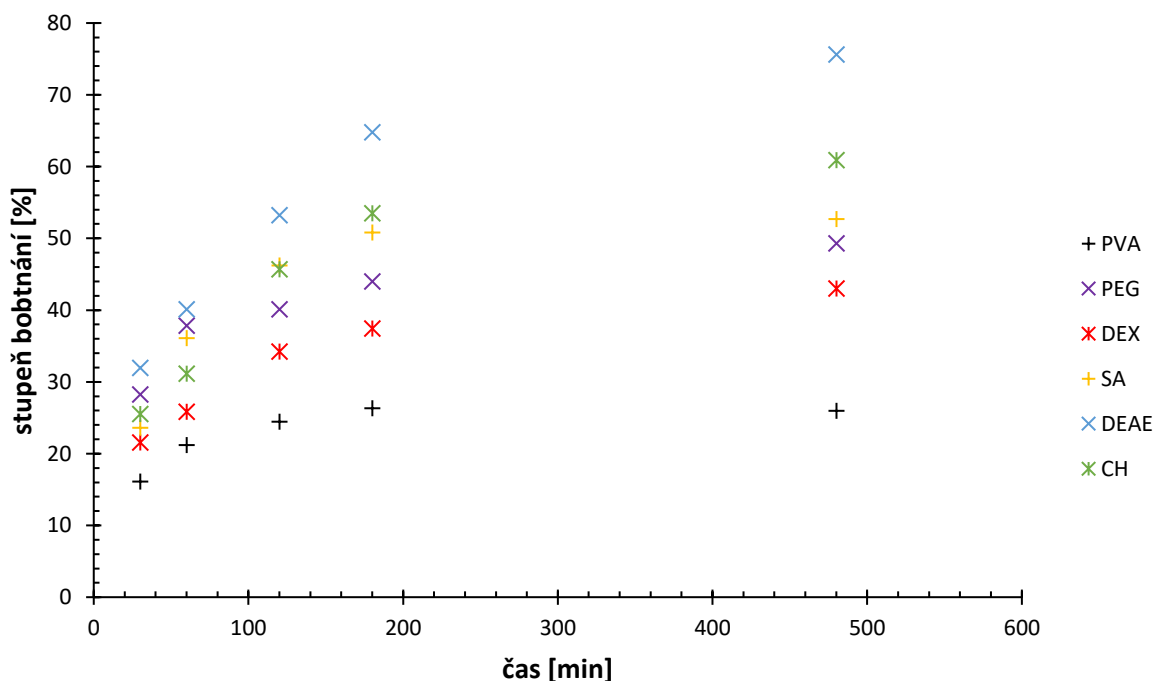
Iontová síla má značný vliv na schopnost hydrogelu bobtnat. Podobně jako u vlivu počtu cyklů je vidět stejný vliv iontové síly u všech měřených vzorků hydrogelů. V případě, že se zaměříme na konec experimentu (480 min) tak u všech vzorků došlo ke snížení stupně bobtnání. Avšak v momentu, kdy se jednalo o kladně nabitě polyelektrolyty (DEAE, CH a SA), využité pro modifikaci PVAI hydrogelu, byl zde vliv iontové síly daleko výraznější než u nenabitých polyelektrolytů. To bylo způsobeno iontovou silou prostředí, kdy dochází s nárůstem iontové síly k poklesu hydratace a odstínění náboje, což vede ke snížení bobtnání. Podobné vysvětlení, proč dochází k poklesu bobtnání vlivem iontové síly je možné najít v článku od autorů *N. Vishal Gupta a kolektiv* [95], kde také sledují vliv iontové síly na bobtnání hydrogelů a dochází ke stejným závěrům, ale pro jiné druhy hydrogelu. Obecně lze říct, že s rostoucí iontovou silou prostředí, ve kterém hydrogel bobtná klesá jeho schopnost bobtnat. Lze to ukázat na příkladu PVAI hydrogelu s přísádkem chitosanu, který vykazoval vysokou schopnost bobtnat v destilované vodě, kdy jeho stupeň bobtnání nabýval hodnot kolem 60 hm. %, zatímco ve fyziologickém roztoku, kde je vyšší iontová síla byl tento hydrogel schopen pohlit pouze poloviční množství disperzního prostředí a přestal bobtnat při stupni bobtnání odpovídající přibližně 36 hm. %.

Zajímavé je porovnat naměřené hodnoty pro PVAI hydrogely modifikované přidavkem DEAE a DEX. V případě, že pozorujeme bobtnání těchto dvou chemicky velmi podobných látek (rozdíl je navázaná postranní skupina diethylaminoethylu u DEAE) v destilované vodě dochází k naměření významných rozdílů mezi stupni bobtnání. Pro PVAI hydrogel s DEX odpovídá stupeň bobtnání 43 hm. %, zatímco v případě, že jako aditivum je použit DEAE dochází k výraznému zvýšení schopnosti hydrogelu absorbovat vodu a hydrogel přestává bobtnat až při stupni bobtnání kolem 75 hm. %. Avšak v případě, že dochází k bobtnání v prostředí s výrazným vlivem iontové síly oba PVAI hydrogely přestaly bobtnat již při 42 hm. %. Zde dochází k výraznému odstínění vlivu kladně nabitě skupiny, která je navázaná na DEAE, vlivem iontové síly.

Pokud se zaměříme na schopnost hydrogelu bobtnat v prostředí s vyšší iontovou silou, dochází u všech modifikovaných PVAI hydrogelu k zastavení bobtnání přibližně při 40 hm. % stupně bobtnání. To je způsobeno právě vlivem iontové síly, kdy dochází k odstínění náboje jednotlivých polyelektrolytů, kdy náboj nemá vliv na stupeň bobtnání.

6.2.3 Vliv přidavku biopolymeru

Posledním sledovaným vlivem na schopnost hydrogelů bobtnat je vliv přidavku biopolymeru, kdy na základě výsledků předchozích kapitol (vliv počtu cyklů a vliv iontové síly prostředí) budou řešeny výsledky pouze pro PVAI hydrogely, které byly připravovány pomocí 2 cyklů MT, a které bobtnaly pouze v prostředí bez vlivu iontové síly – tedy v destilované vodě. Vliv jednotlivých biopolymerů na schopnost bobtnat je zobrazeno na obrázku 38.



Obrázek 38: Bobtnání PVAI hydrogelů s přidavkem daného biopolymeru

Na základě naměřených dat je patrné, že přidavek biopolymeru do struktury PVAI hydrogelu vede ke zlepšení schopnosti hydrogelu bobtnat. Avšak výrazné rozdíly mezi PVAI hydrogely

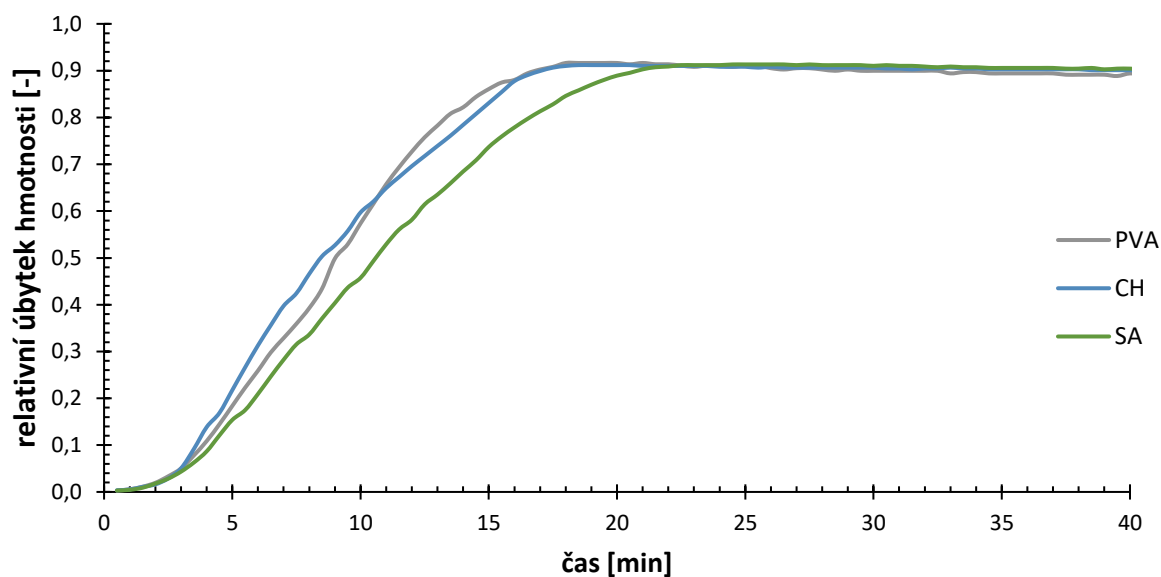
bez přídavku a s přídavkem biopolymeru musíme brát s rezervou, jelikož jednotlivé vzorky se liší v množství sušiny, kdy v čistém PVAI hydrogelu je pouze 9 hm. % sušiny, zatímco v případě vzorku s přídavkem biopolymeru je sušina 10 hm. %. To mohlo způsobit takto výrazný rozdíl. Pokud se, ale zaměříme na hydrogely se stejným množstvím sušiny, tedy na PVAI hydrogely s přídavkem biopolymeru můžeme sledovat trend, kdy kladně nabitě biopolymery bobtnají lépe než biopolymery bez náboje. V případě, že sledujeme vliv příspěvku chitosanu na schopnost PVAI hydrogelu bobtnat, dochází k výraznému zlepšení bobtnacích vlastností kvůli vysokému množství aminových skupin obsažených v chitosanu, které jsou schopny vytvářet slabé fyzikální interakce s molekulami vody. Obdobný jev můžeme pozorovat i u molekuly DEAE, která stejně jako chitosan obsahuje aminové skupiny. K podobným závěrům dospěli i autoři *Figuroa-Pizano M.D. a kolektiv* [96], které se zabývali problematikou bobtnání PVAI hydrogelu s přídavkem chitosanu, kdy jejich vzorky měli vyšší schopnost bobtnat v případě, že byly modifikovány přídavkem chitosanu. Například v článku od autorů *Shuibo Hua a kolektiv* [97], je sledován vliv SA na schopnost hydrogelu bobtnat. Z naměřených dat vyplývá, že s rostoucím množstvím SA obsaženém ve struktuře PVAI hydrogelu dochází k nárůstu stupně bobtnání, což by se shodovalo s námi naměřenými hodnotami.

Jedním z vlivů na bobtnání hydrogelů jsou jeho mechanické vlastnosti. Tento vliv byl již zmiňován výše, ale stojí za zmínku ho probrat ještě jednou, ale z jiného úhlu pohledu. Na základě naměřených reologických dat můžeme předpokládat, že nejméně bude bobtnat PVAI hydrogel s přídavkem PEG, jelikož dosahoval nejvyšších elastických modulů tudíž by měl být nejtuzší. A dle naměřených hodnot v kapitole 6.2.1, kdy byl studován vliv počtu cyklů na bobtnání, bylo zjištěno, že čím tužší hydrogel byl připraven tím hůře bobtná – tuhost zde představuje počet cyklů, čím vyšší počet cyklů tím tužší hydrogel. Avšak to se nepotvrdilo, protože hůře bobtnal čistý PVAI hydrogel a PVAI hydrogel s přídavkem DEX. To znamená, že v případě, kdy jsou mechanické vlastnosti hydrogelu velmi podobné má na schopnost hydrogelu bobtnat větší vliv typ biopolymeru než samotné mechanické vlastnosti.

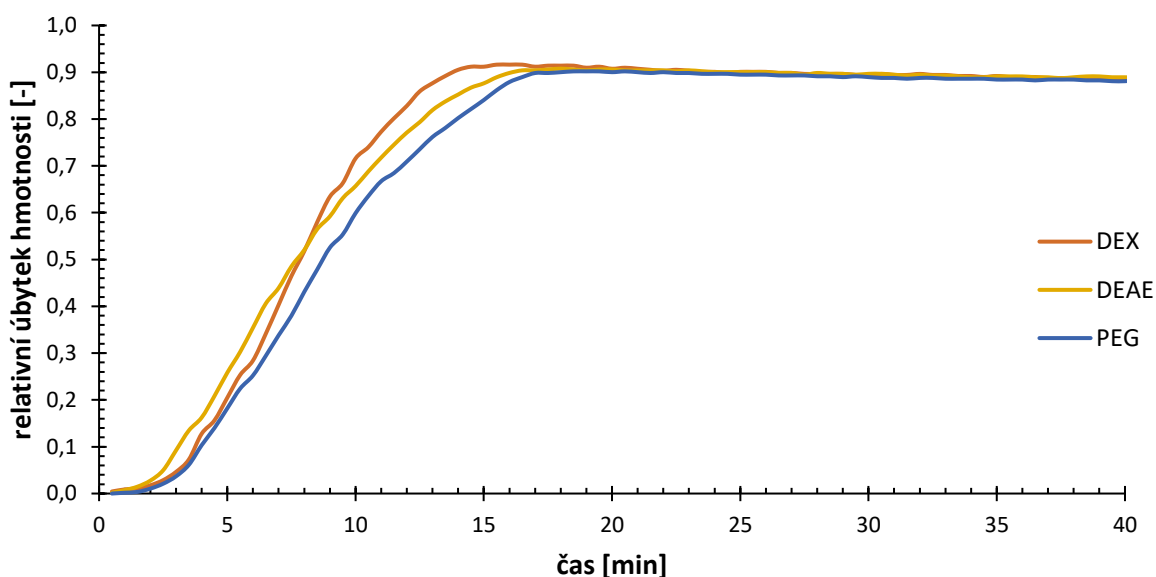
6.3 Sušící charakteristiky hydrogelů

Dalším experimentem zabývající se charakteristikou PVAI hydrogelových materiálů bylo sušení pomocí sušících vah. Cílem tohoto experimentu bylo sledovat průběh procesu sušení neboli sledování odpařování vázaných molekul vody ve strukturách PVAI hydrogelů s přídavkem různých biopolymerů. Z tohoto experimentu byl rovněž určen obsah sušiny ve vzorcích, což spolu s obsahem vody v hydrogelech představuje důležitou charakteristiku ovlivňující mechanické vlastnosti materiálů.

Pro srovnání byly proměřeny PVAI hydrogely s přídavkem biopolymeru, kdy všechny vzorky podstoupily 2 cykly procesu MT. Pro vyšší přehlednost jsou průběhy sušení zobrazeny na obrázcích 39 a 40, kde můžeme pozorovat závislost relativního úbytku hmotnosti PVAI hydrogelů na čase (tzv. termogravimetrické křivky). Z výsledných křivek můžeme vyhodnotit inflexní, koncový bod a sušinu, ale již z tvaru křivek, které se od sebe moc neliší můžeme předpokládat, že přídavek biopolymeru nemá významný vliv na schopnost PVAI hydrogelů uchovat vodu ve své struktuře při procesu sušení.

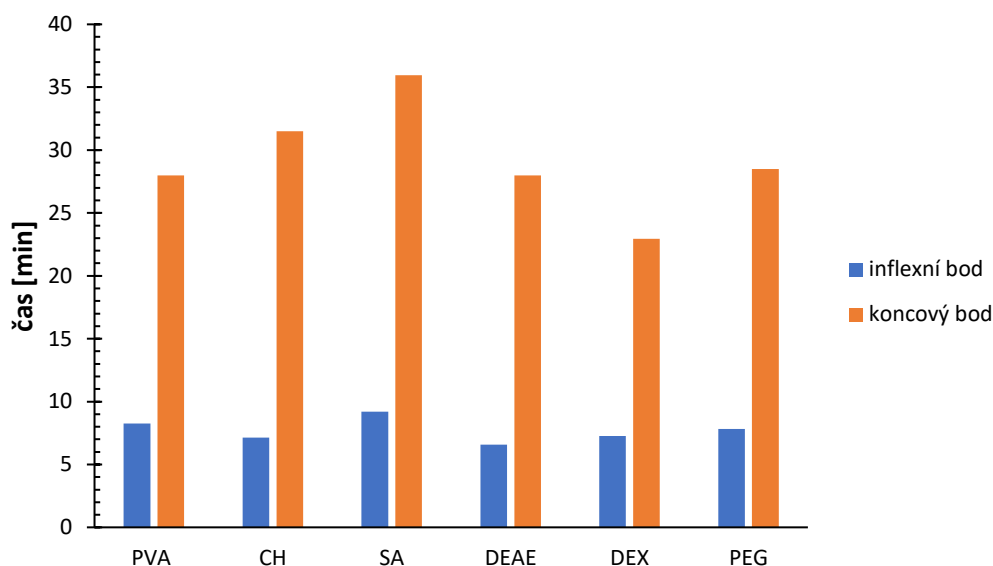


Obrázek 39: Závislost relativního úbytku hmotnosti na čase pro vzorky (PVA, CH a SA)



Obrázek 40: Závislost relativního úbytku hmotnosti na čase pro vzorky (DEX, DEAE a PEG)

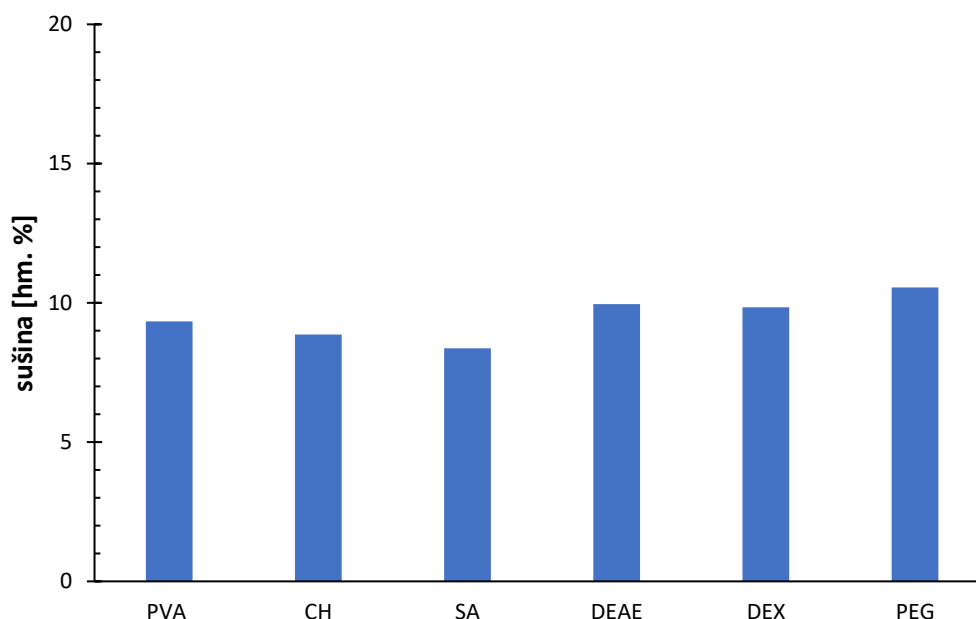
Následně byly pomocí programu OriginPro proloženy jednotlivé křivky Boltzmannovým modelem, který byl posléze zderivován. Díky tomu jsme získali hodnoty odpovídající inflexnímu bodu a koncovému bodu sušení. Inflexního bodu dosáhneme při největším úbytku vody při sušení, zatímco koncový bod je charakteristický pro ukončení sušení a dosáhneme ho v momentu, kdy naměříme konstantní hodnoty hmotnosti vzorku. To odpovídá sušině obsažené ve vzorku. Koncový bod a inflexní bod je zobrazen na obrázku 41, kde na y-ose jsou vyhodnoceny časové souřadnice pro jednotlivé body.



Obrázek 41: časové hodnoty pro inflexní a koncový bod pro připravené hydrogely

Na základě stanovených inflexních a koncových bodů můžeme předpokládat, že nejvíce je voda zadržována v PVA1 hydrogelu, který je modifikovaný přídavkem SA, avšak rozdíly mezi jednotlivými inflexními body jsou dost malé. Z toho důvodu můžeme říct, že přídavek biopolymeru nemá vliv na schopnost hydrogelu udržet vodu ve své struktuře.

Následně se můžeme zaměřit na koncový bod, který opět nabývá nejvyšší hodnoty pro PVA1 hydrogel s přídavkem SA. To naznačuje spojitost mezi inflexním a koncovým bodem, kdy lze předpokládat, že čím je vyšší inflexní bod tím je vyšší i koncový bod. Avšak koncový bod má spíše významnější vztah k pevnému podílu hydrogelu – tedy sušině, protože veškerá voda obsažená ve vzorku je odstraněna před tímto bodem. Proto jsme schopni stanovit množství sušiny, která je zobrazena na obrázku 42, kdy se sušina pohybuje kolem 10 hm. %, což by odpovídalo postupu přípravy. Například u vzorku PVA1 hydrogelu s přídavkem PEG je patrné, že sušina dosahuje vyšších hodnot než 10 hm. %, což mohlo být způsobeno menší nepřesností při vážení potřebných surovin na přípravu vzorků nebo zanesením mírné chyby při vyhodnocení dat.



Obrázek 42: Množství sušiny obsažené v připravených hydrogelech

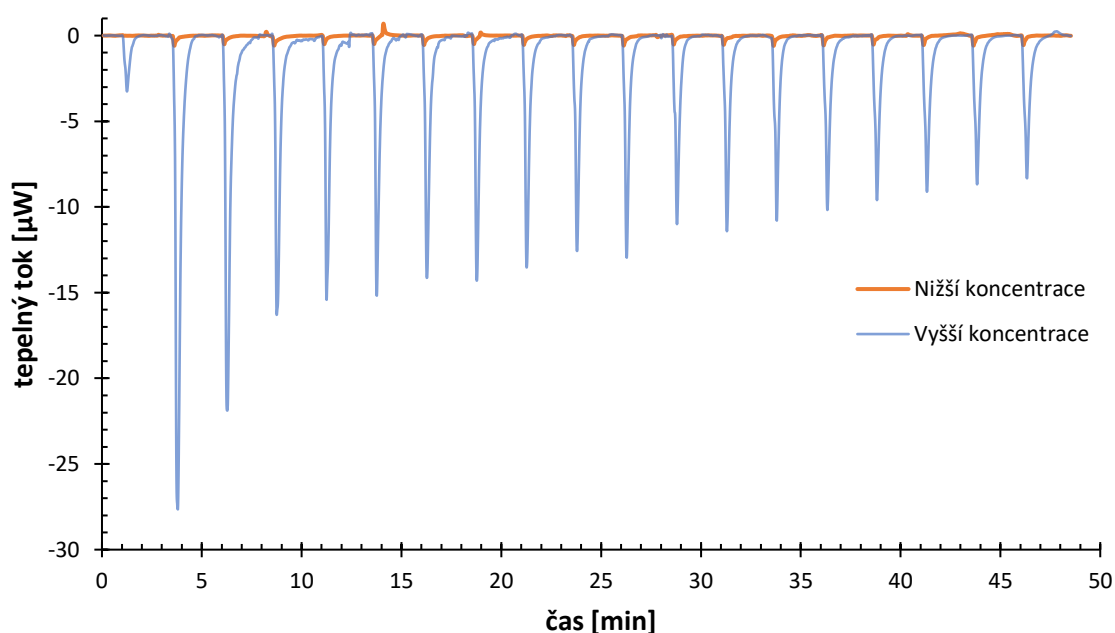
Výsledky ze sušících vah – tedy schopnost hydrogelů udržovat vodu, potvrzují hlavně data naměřená z reologie a DMA, kdy přidavek biopolymeru v poměru 9:1 (PVAI ku biopolymeru) nemá na výsledné vlastnosti významný vliv. V případě, že budeme sledovat inflexní bod, který udává, jak rychle odchází vázaná voda z hydrogelu, tak byl tento parametr pro většinu připravených hydrogelů velmi podobný, z čehož vyplývá, že vliv biopolymerů na vlastnosti hydrogelu je minimální. V případě koncového bodu však dochází k odlišnostem především mezi PVAI hydrogely s SA a DEX. To však může být způsobeno chybou měření, popřípadě pozdním odpařením zbytkového množství vody ze struktury hydrogelu, kdy také závisí na tvaru a objemu vzorky, který byl sušen. To vše může vést k zanesení chyby a zkreslení výsledků. Avšak v případě, že se podíváme na jednotlivé termogravimetrické křivky zmiňované výše je patrné, že dojde k ustálení mezi 20-25 minutami sušení, kdy znovu můžeme konstatovat, že vliv biopolymeru byl minimální. To vše naznačuje k tomu, že se povedlo připravit semi-IPN PVAI hydrogely s přidavkem různých aditiv (biopolymerů), ve kterých přidavek 1% aditiva nemá zásadní vliv na mechanické vlastnosti hydrogelu.

6.4 Mikrokalorimetrická charakterizace interakcí mezi PVAI a biopolymery

Pro sledování interakcí mezi PVAI a biopolymery bylo využito mikrokalorimetrické metody, konkrétně ITC, kdy docházelo k titrování jednotlivých roztoků biopolymerů do roztoku PVAI. Na základě dosavadních zkušeností a znalostí víme, že teoreticky lze studovat interakce mezi jednotlivými (bio)polymery pomocí mikrokalorimetrických metod, avšak v dosavadní praxi se s touto problematikou často nesečkáme, proto naše praktické zkušenosti jsou omezené a celý proces studování interakcí mezi (bio)polymery se musí značně optimalizovat. V průběhu našeho měření jsme narazili na několik problémů, ať už se jednalo o slabé tepelné změny v důsledku přidání jednotlivých biopolymerů z důvodu nízké koncentrace, nebo příliš vysoké viskozitě roztoků, která může způsobit ucpaní stříkačky se vzorkem, což bylo způsobeno naopak vysokou koncentrací roztoků a dalších možných nedostatků, které vyžadují důkladnou

optimalizaci. Byly sice proměřeny všechny biopolymery kromě chitosanu, ale výsledná data, která lze využít do vyhodnocení jsou pouze pro přídavek PEG, jelikož u ostatních nedochází k výrazným teplotním projevům – nedocházelo ke vzniku interakcí.

Na obrázku 43 je zobrazen surový záznam z titrace, kde jsou vidět titrační křivky pro roztoky o nižší koncentraci, což představují roztoky PEG a PVAI o 1 hm. %. A titrační křivka pro roztoky s vyššími koncentracemi, což odpovídá pro PEG 7 hm. % a pro PVAI 4 hm.%. U vyšší koncentrace roztoku PVAI jsme na maximální viskozitě, při které se nebojíme, že dojde k zatuhnutí vzorku v měřící cele. Jak je patrné z titračních křivek, tak vysoké koncentrace jednotlivých roztoků vedou k získání požadovaných výsledkům, jelikož na začátku titrace dochází ke vzniku píku s nejvyšší intenzitou a s přibývajícím koncentrací PEG dochází ke snižování intenzity. To značí, že dochází k obsazování možných vazebných míst, kde může dojít ke vzniku interakce. To by odpovídalo vzniku interakcí mezi PVAI a PEG, ale tyto koncentrace a následný poměr mezi PVA ku PEG je výrazně vyšší než poměr, se kterým pracujeme při přípravě hydrogelů v této diplomové práci. Avšak cílem takto výrazného navýšení koncentrací bylo prokázat, že v případě vhodného nastavení experimentu a dostatečné optimalizace jsme schopny studovat interakce mezi dvěma biopolymery. Naším potřebám daleko více odpovídá měření pro roztoky s nižšími koncentracemi, kde je i výsledný poměr daleko příznivější i když je pořád vyšší než při přípravě hydrogelů modifikovaných jednotlivými přídavky biopolymerů. V tomto případě je patrné, že přídavek PEG nezpůsobí žádné výrazné tepelné projevy, což signalizuje, že nedochází k tvorbě interakcí mezi PVAI a PEG, nebo jsou dané interakce zanedbatelné. Na základě tohoto zjištění můžeme předpokládat, že nedochází ke vzniku chemické vazby nebo jiného typu interakce a biopolymer (PEG) je v trojrozměrné síti pouze propleten, což by odpovídalo charakterizaci semi-IPN hydrogelů. To také potvrzují výsledky z reologie a DMA, jelikož ani tam nedošlo k výrazným změnám mechanických vlastností, a to potvrzuje předpoklad vzniku semi-IPN hydrogelů.

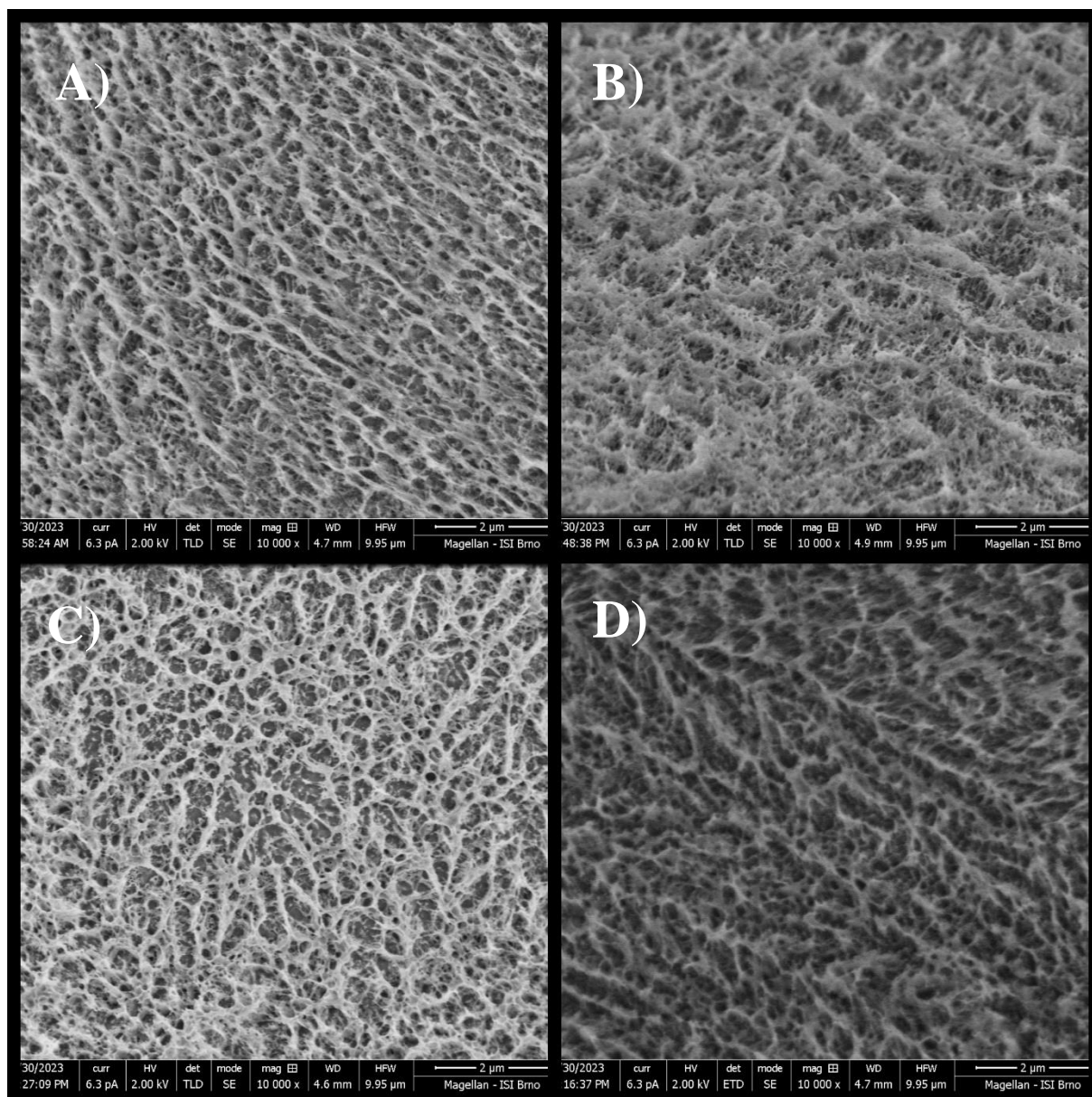


Obrázek 43: Záznam tepelného toku na čase pro roztoky o různých koncentracích

6.5 Kryo-SEM vizualizace morfologie hydrogelů

Poslední metoda, která byla použita k charakterizaci PVAI hydrogelů s přidavkem aditiv je kryo-SEM. Tato metoda nám poskytuje informaci o morfologii hydrogelů. Vzorky byly připraveny dle postupu uvedeném v kapitole 5.8. Pomocí kryo-SEM bychom měli být schopny sledovat změny mezi jednotlivými vzorky, kdy by měly být vidět zakomponované biopolymery.

Změřené vzorky jsou zobrazeny na obrázku 44, kdy je patrné, že hydrogely vykazují vysokou pórovitost, což souvisí se schopností hydrogelů bobtnat, protože disperzní prostředí snáze prochází vysokým počtem pórů obsažených ve struktuře hydrogelu. Avšak to platí pouze pro disperzní prostředí, které proniká dovnitř sítě, protože jako disperzní prostředí uvažujeme malé molekuly (např. molekuly vody). V případě, že bychom studovali uvolňování větších molekul, popřípadě různých polymerních řetězců bude pro nás důležitější velikost pórů a jejich propojenost. Námi připravené vzorky mají sice vysokou poréznost, ale jednotlivé póry jsou velmi malé, a to může ztěžovat uvolnění větších molekul z hydrogelové sítě. V případě, že se zaměříme na osud polymerních řetězců v síti hydrogelu, tak po začlenění polymeru je velmi nízká šance, že dojde k jejich uvolnění ze struktury. Polymery, které jsou zachycené v trojrozměrné síti hydrogelu jsou velmi žádané, protože modifikují hydrogel a zvyšují jeho reaktivitu díky obsahu různých funkčních skupin přítomných na svých řetězcích a také mohou materiálu propůjčit specifické vlastnosti (např. v případě modifikace hydrogelu pomocí chitosanu dostává hydrogel antimikrobiální vlastnosti), bez toho, aniž by se výrazně měnily mechanické vlastnosti. Toto zjištění také potvrzuje naše výsledky z „klasické“ oscilační reologie a DMA, které jsou diskutovány v kapitolách 6.1.3 a 6.1.4. Na základě toho se můžeme domnívat, že se jedná o semi-IPN hydrogely, což by jen potvrzovalo dosažení cíle práce, jelikož byla snaha dosáhnout vytvoření tohoto typu hydrogelů. I když jednotlivé výsledky nás vedou k tomu, že skutečně došlo k tvorbě semi-IPN hydrogelů může se také jednat o tzv. hybridní hydrogely, pro které je typické vznik kovalentních vazeb a slabých vazebných interakcí mezi jednotlivými řetězci polymerů, které tvoří daný hydrogel. Avšak tvorba hybridních hydrogelů s podvojnou vnitřní sítí je nepravděpodobná vzhledem k pilotním výsledkům získaným měřeními na ITC (diskutováno v kapitole 6.4), nedošlo k detekci výrazných tepelných projevů, které by byly důsledek vzniku slabých vazebných interakcí natož kovalentních vazeb mezi použitými biopolymery a PVAI tvořící nosnou sít studovaných hydrogelových materiálů.



Obrázek 44: Snímky z kryo-SEM při 10 000x zvětšení. A) PVAI bez přísady, B) PVAI s PEG, C) PVAI s SA, D) PVAI s DEAE

7 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zaměřuje na studium mechanických vlastností PVAI hydrogelů modifikovaných pomocí biopolymerů. Hydrogely sledované v této práci můžeme zařadit do skupiny semi-IPN hydrogelů, kdy byl studován vliv biopolymer na mechanické vlastnosti. V průběhu práce bylo použito několik metod pro stanovení mechanických vlastností. Mezi klíčové metody patřila reologie, kdy za využití amplitudových oscilačních testů byly sledovány parametry jako elastický modul, ztrátový úhel a délka, respektive konec LVO. Pomocí reometru byla také provedena metoda DMA, kdy se stanovoval Youngův a elastický modul. Tyto základní viskoelastické charakteristiky připravených hydrogelů byly dále doplněny o studium stupně bobtnání, kdy byl sledován vliv počtu cyklů mražení a tání využitých při přípravě PVAI hydrogelů a dále také vliv iontové síly disperzního prostředí a přídavku biopolymeru. Získané charakteristiky byly rozšířeny o vlastnosti vyplývající z experimentů provedených prostřednictvím sušících vah, kde byly studovány interakce mezi disperzním prostředím a hydrogelem během cíleného teplotního namáhání vzorku v průběhu sušení. Experiment za využití izotermické titrační kalorimetrie (ITC) sloužil ke studium interakcí mezi PVAI a biopolymery. Jak poslední experiment byla použita metoda kryo-SEM za účelem vizualizace vnitřní morfologie materiálu. Tato metoda se využívá pro materiály s vysokým obsahem vody.

U přípravy PVAI hydrogelů obecně hraje velký vliv teplota při procesu MT, kdy v případě námi studovaných hydrogelů nebylo možné využít sofistikovanějších zařízení, které by byly schopny udržet konstantní teplotu při první (mrazicí) části procesu MT. Kvůli tomuto technologickému nedostatku je velmi obtížné dosáhnout vysoké reprodukovatelnosti PVAI hydrogelů připravovaných procesem MT. Avšak na vyřešení tohoto technologického problému se na FCH VUT pracuje v rámci probíhajícího výzkumu a vývoje, kde je snahou ve spolupráci s Fakultou strojního inženýrství VUT zkonstruovat zařízení, které by bylo schopné udržet konstantní teplotu při mrazicí části procesu MT.

Úvodní experimenty sloužily k charakterizaci mechanických vlastností PVAI hydrogelů s přídavkem biopolymerů. Pro tyto účely byl využit přístroj zvaný reometr. V „klasickém“ reologickém uspořádání je vzorek zatížen deformací pomocí krouživého momentu za využití oscilačních amplitudových testů. Dle odpovědi vzorku byly sledovány parametry jako je elastický modul, konec LVO a ztrátový úhel. Z naměřených dat vyplývá, že na tyto parametry má vliv přídavek PEG a CH, avšak nedochází k výrazným mechanickým změnám studovaných hydrogelů, kdy nosnou síť tvoří 9 hm. % PVAI s přídavkem biopolymeru o koncentraci 1 hm. %. V případě, že sledujeme vliv přídavku DEX, DEAE a SA na jednotlivé parametry dojdeme ke zjištění, že rozdíly mezi parametry jsou minimálně až téměř zanedbatelné. To by naznačovalo, že došlo k přípravě semi-IPN hydrogelů, kdy biopolymer obsažený ve struktuře hydrogelu výrazně neovlivňuje mechanické vlastnosti, což je žádoucí. Druhá metoda (DMA) působí na vzorek oscilací geometrie ve vodorovném směru a na základě odpovědi vzorku na toto mechanické namáhání jsme schopni stanovit Youngův a elastický modul. V případě námi studovaných hydrogelů nedochází k ovlivnění modulů, což potvrzuje výsledky z předchozího měření a můžeme na základě těchto dvou experimentů říct, že přidané biopolymeru mají

minimální vliv na mechanické vlastnosti. Došlo tedy k vytvoření semi-IPN hydrogelů s mechanickými vlastnostmi odpovídajícími nosnému PVAI hydrogelů.

Další metoda se zaměřila na studium stupně bobtnání, kde byl sledován vliv iontové síly prostředí, počtu cyklů a přídavku biopolymeru. Dle výsledků je patrné že stupeň bobtnání je výrazně ovlivněn iontovou silou, kdy hydrogel lépe bobtná v prostředí s nižší iontovou silou. Při studiu vlivu počtu cyklů na stupeň bobtnání je důležité zmínit, že s rostoucím počtem provedených cyklů MT roste stupeň zesílení ve struktuře hydrogelu, což má za následek zvýšení elastického modulu a hydrogel se stává tužším. S rostoucím počtem cyklů MT dochází k poklesu stupně bobtnání. V neposlední řadě byl sledován vliv přídavku biopolymeru, kdy je patrné, že dochází k významnému ovlivnění stupně bobtnání na základě druhu použitého biopolymeru. Biopolymery, které jsou kladně nabitě zvyšují schopnost hydrogelu bobtnat daleko výrazněji než neutrální biopolymery.

PVAI hydrogely byly charakterizovány i za využití řízeného sušení pomocí sušících vah. Na základě získaných sušících křivek pro jednotlivé připravené vzorky je patrné, že přídavek biopolymeru nemá významný vliv na proces sušení tohoto typu modifikovaných PVAI hydrogelů. To potvrzuje měření pomocí reometru, který naznačuje, že přídavek biopolymeru nemá vliv na mechanické vlastnosti hydrogelu.

Na základě mikrokolorimetrické analýzy za využití ITC byly studovány potenciální interakce mezi PVAI a biopolymery použité jako modifikátory PVAI hydrogelů. Dle výsledků je patrné, že při dodržení vysokého poměru mezi polymerem, který tvoří nosnou síť a polymerem, který slouží jako aditivum nedochází k tvorbě interakcí nebo je daná interakce velmi slabá. To by znamenalo, že polymer, který byl použit jako aditivum je ve struktuře hydrogelu pouze propleten a dochází ke vzniku semi-IPN hydrogelů.

Kryo-SEM bylo použito ke studiu morfologie vzorků. Výsledné snímky z této metody poukazují na to, že nedochází k výrazným změnám morfologie mezi čistým PVAI hydrogelem a PVAI hydrogelem s přídavkem biopolymeru.

Závěrem lze říci, že semi-IPN hydrogely na bázi PVAI hydrogelů s přídavkem biopolymeru jsou složité a komplexní systémy jejichž mechanické vlastnosti se odvíjí od způsobu přípravy a použitého biopolymeru. I přes problematiku spojenou s reprodukovatelností PVAI hydrogelů procesem MT se jedná o materiály s celou řadou aplikací, kdy mezi jejich hlavní přednosti patří biokompatibilita a mechanické vlastnosti podobné různým druhům tkání, což umožňuje jejich vysoký aplikační potenciál. Avšak aby došlo k hojnějšímu využití PVAI hydrogelů v praxi je důležité vyřešit problematiku spojenou s jejich reprodukovatelností. Připravené semi-IPN modifikované PVAI hydrogely představují zajímavé materiály pro další výzkum s ohledem na potenciální praktické aplikace (hydrogely s řízeným uvolňováním aktivní látky, inteligentní obalové materiály).

8 ZDROJE

- [1] HUSAIN, Mohamed Saad Bala, Arun GUPTA, Basma Yahya ALASHWAL a Swati SHARMA. Synthesis of PVA/PVP based hydrogel for biomedical applications: a review. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* [online]. 2018, 40(20), 2388-2393 [cit. 2023-01-03]. ISSN 1556-7036. Dostupné z: doi:10.1080/15567036.2018.1495786
- [2] MERINO, Sonia, Cristina MARTÍN, Kostas KOSTARELOS, Maurizio PRATO a Ester VÁZQUEZ. Nanocomposite Hydrogels: 3D Polymer–Nanoparticle Synergies for On-Demand Drug Delivery. *ACS Nano* [online]. 2015, 9(5), 4686-4697 [cit. 2023-01-03]. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.5b01433
- [3] BERGER, Michael. Hydrogels [online]. 30.8.2021 [cit. 2023-01-03]. Dostupné z: <https://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=58702.php>
- [4] LEE, Sang Cheon, Il Keun KWON a Kinam PARK. Hydrogels for delivery of bioactive agents: A historical perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2013, 65(1), 17-20 [cit. 2022-12-31]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2012.07.015
- [5] YAHIA, LHocine. History and Applications of Hydrogels. *Journal of Biomedical Sciences* [online]. 2015, 04(02) [cit. 2022-12-31]. ISSN 2254609X. Dostupné z: doi:10.4172/2254-609X.100013
- [6] KUMAR, Anuj a Sung Soo HAN. PVA-based hydrogels for tissue engineering: A review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* [online]. 2016, 66(4), 159-182 [cit. 2023-01-05]. ISSN 0091-4037. Dostupné z: doi:10.1080/00914037.2016.1190930
- [7] Hydrogels Based on Natural Polymers [online]. Elsevier, 2020 [cit. 2023-01-05]. ISBN 9780128164211. Dostupné z: doi:10.1016/C2018-0-00171-1
- [8] BAO, Ziting, Caihong XIAN, Qijuan YUAN, Guiting LIU a Jun WU. Natural Polymer-Based Hydrogels with Enhanced Mechanical Performances: Preparation, Structure, and Property. *Advanced Healthcare Materials* [online]. 2019, 8(17) [cit. 2023-01-05]. ISSN 2192-2640. Dostupné z: doi:10.1002/adhm.201900670
- [9] LIANG, J., P. J. DIJKSTRA, A. A. POOT a D. W. GRIJPMAN. Hybrid Hydrogels Based on Methacrylate-Functionalized Gelatin (GelMA) and Synthetic Polymers. *Biomedical Materials & Devices* [online]. [cit. 2023-01-06]. ISSN 2731-4812. Dostupné z: doi:10.1007/s44174-022-00023-2
- [10] PEPPAS, Nicholas A. a Allan S. HOFFMAN. Hydrogels. In: *Biomaterials Science* [online]. Elsevier, 2020, 2020, s. 153-166 [cit. 2023-01-06]. ISBN 9780128161371. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816137-1.00014-3
- [11] ULLAH, Faheem, Muhammad Bisyrul Hafi OTHMAN, Fatima JAVED, Zulkifli AHMAD a Hazizan Md. AKIL. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2015, 57, 414-433 [cit. 2023-01-06]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2015.07.053
- [12] ADELNIA, Hossein, Reza ENSANDOOST, Shehzahdi SHEBBRIN MOONSHI, Jaber Nasrollah GAVGANI, Emad Izadi VASAFI a Hang Thu TA. Freeze/thawed polyvinyl

- alcohol hydrogels: Present, past and future. *European Polymer Journal* [online]. 2022, 164 [cit. 2023-01-06]. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2021.110974
- [13] DRAGAN, Ecaterina Stela. Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2014, 243, 572-590 [cit. 2023-01-06]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2014.01.065
- [14] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research* [online]. 2015, 6(2), 105-121 [cit. 2023-01-06]. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2013.07.006
- [15] AKHTAR, Muhammad Faheem, Muhammad HANIF a Nazar Muhammad RANJHA. Methods of synthesis of hydrogels ... A review. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. 2016, 24(5), 554-559 [cit. 2023-01-09]. ISSN 13190164. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsps.2015.03.022
- [16] ZHANG, Yu Shrike a Ali KHADEMHOSEINI. Advances in engineering hydrogels. *Science* [online]. 2017, 356(6337) [cit. 2023-01-09]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.aaf3627
- [17] VARAPRASAD, Kokkarachedu, Gownolla Malegowd RAGHAVENDRA, Tippabattini JAYARAMUDU, Murali Mohan YALLAPU a Rotimi SADIKU. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2017, 79, 958-971 [cit. 2023-01-18]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2017.05.096
- [18] HUSAIN, Mohamed Saad Bala, Arun GUPTA, Basma Yahya ALASHWAL a Swati SHARMA. Synthesis of PVA/PVP based hydrogel for biomedical applications: a review. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* [online]. 2018, 40(20), 2388-2393 [cit. 2023-01-19]. ISSN 1556-7036. Dostupné z: doi:10.1080/15567036.2018.1495786
- [19] HU, Weikang, Zijian WANG, Yu XIAO, Shengmin ZHANG a Jianglin WANG. Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels. *Biomaterials Science* [online]. 2019, 7(3), 843-855 [cit. 2023-01-19]. ISSN 2047-4830. Dostupné z: doi:10.1039/C8BM01246F
- [20] HENNINK, W.E. a C.F. VAN NOSTRUM. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2012, 64, 223-236 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2012.09.009
- [21] Effect of Chemical Crosslinking on Properties of Polymer Microbeads: A Review. *Canadian Chemical Transactions* [online]. 2016, 473-485 [cit. 2023-01-19]. ISSN 22916458. Dostupné z: doi:10.13179/canchemtrans.2015.03.04.0245
- [22] GHOBAIL, C. a M. W. GRINSTAFF. The chemistry and engineering of polymeric hydrogel adhesives for wound closure: a tutorial. *Chemical Society Reviews* [online]. 2015, 44(7), 1820-1835 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0306-0012. Dostupné z: doi:10.1039/C4CS00332B
- [23] PARHI, Rabinarayan. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* [online]. 2017, 7(4), 515-530 [cit. 2023-01-19]. ISSN 2228-5881. Dostupné z: doi:10.15171/apb.2017.064

- [24] ECHALIER, Cécile, Laurine VALOT, Jean MARTINEZ, Ahmad MEHDI a Gilles SUBRA. Chemical cross-linking methods for cell encapsulation in hydrogels. *Materials Today Communications* [online]. 2019, 20 [cit. 2023-01-19]. ISSN 23524928. Dostupné z: doi:10.1016/j.mtcomm.2019.05.012
- [25] KIRSCHNER, Chelsea M. a Kristi S. ANSETH. Hydrogels in healthcare: From static to dynamic material microenvironments. *Acta Materialia* [online]. 2013, 61(3), 931-944 [cit. 2023-01-22]. ISSN 13596454. Dostupné z: doi:10.1016/j.actamat.2012.10.037
- [26] OYEN, M. L. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews* [online]. 2013, 59(1), 44-59 [cit. 2023-01-22]. ISSN 0950-6608. Dostupné z: doi:10.1179/1743280413Y.0000000022
- [27] PANJA, Santanu, Bart DIETRICH a Dave J. ADAMS. Controlling Syneresis of Hydrogels Using Organic Salts. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2022, 61(4) [cit. 2023-01-22]. ISSN 1433-7851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.202115021
- [28] KOETTING, Michael C., Jonathan T. PETERS, Stephanie D. STEICHEN a Nicholas A. PEPPAS. Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports* [online]. 2015, 93, 1-49 [cit. 2023-01-22]. ISSN 0927796X. Dostupné z: doi:10.1016/j.mser.2015.04.001
- [29] VEDADGHAVAMI, Armin, Farnaz MINOOEI, Mohammad Hossein MOHAMMADI, Sultan KHETANI, Ahmad REZAEI KOLAHCHI, Shohreh MASHAYEKHAN a Amir SANATI-NEZHAD. Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia* [online]. 2017, 62, 42-63 [cit. 2023-01-22]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2017.07.028
- [30] PRAMANIK, Bapan. Short Peptide-Based Smart Thixotropic Hydrogels. *Gels* [online]. 2022, 8(9) [cit. 2023-01-23]. ISSN 2310-2861. Dostupné z: doi:10.3390/gels8090569
- [31] MAHINROOSTA, Mostafa, Zohreh JOMEH FARSANGI, Ali ALLAHVERDI a Zahra SHAKOORI. Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. *Materials Today Chemistry* [online]. 2018, 8, 42-55 [cit. 2023-01-23]. ISSN 24685194. Dostupné z: doi:10.1016/j.mtchem.2018.02.004
- [32] KABANOV, Alexander V. a Serguei V. VINOGRADOV. Nanogels as Pharmaceutical Carriers: Finite Networks of Infinite Capabilities. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2009, 48(30), 5418-5429 [cit. 2023-01-23]. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200900441
- [33] HOFFMAN, Allan S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2012, 64, 18-23 [cit. 2023-01-23]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2012.09.010
- [34] BAHRAM, Morteza, Naimeh MOHSENI a Mehdi MOGHTADER. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. In: MAJEE, Sutapa Biswas, ed. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels* [online]. InTech, 2016, 2016-08-24 [cit. 2023-01-23]. ISBN 978-953-51-2509-9. Dostupné z: doi:10.5772/64301
- [35] CALÓ, Enrica a Vitaliy V. KHUTORYANSKIY. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*

- [online]. 2015, 65, 252-267 [cit. 2023-01-23]. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024
- [36] MAJCHER, Michael J. a Todd HOARE. Applications of Hydrogels. In: JAFAR MAZUMDER, Mohammad Abu, Heather SHEARDOWN a Amir AL-AHMED, ed. Functional Biopolymers [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019, 2019-04-03, s. 453-490 [cit. 2023-01-23]. Polymers and Polymeric Composites: A Reference Series. ISBN 978-3-319-95989-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-95990-0_17
- [37] PEKAŘ, M., M. KLUČÁKOVÁ, M. VESELÝ a M. ČEPAN. Fyzikální chemie a fotochemie. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. 2003. ISBN: 80-214-2470-2.76
- [38] MEZGER, Thomas. The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers. 4th edition. Hannover: Vincentz Network, 2014. European coatings tech files. ISBN 978-3-86630-842-8.
- [39] Pitch Drop experiment [online]. [cit. 2022-10-16]. Dostupné z: <https://smp.uq.edu.au/pitch-drop-experiment>
- [40] VONDRÁČEK, P. a kol.: Metody studia a charakterizace struktury polymerů. VŠCHT, Praha, 1991.
- [41] BARNES, H.A, J.F HUTTON a K. WALTERS. An introduction to rheology. Amsterdam: Elsevier, 1998. ISBN 0-444-87469-0.
- [42] Hydrogely. Editor Radovan BUFFA, editor Martin PRAVDA, editor Petr SEDLÁČEK, editor Martin CHYTIL. [Dolní Dobrouč]: [Contipro Biotech], [2015]. ISBN isbn978-80-260-7866-1.
- [43] SCHRAMM, G. A Practival Approach to Rheology and Rheometry. Německo:Gebrueder GmbH. 1994, 290 s.
- [44] HOLUBOVÁ, Renata. Základy reologie a reometrie kapalin. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 9788024441788
- [45] MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. A Basic Introduction to Rheology: WHITEPAPER. 1. Grovewood Road, Malvern, Worcestershire, UK, 2016. Dostupné také z: <https://cdn.technologynetworks.com/TN/Resources/PDF/WP160620BasicIntroRheology.pdf>
- [46] SOPOUŠEK, Jiří. Základy reologie a reometrie kapalin [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2007, [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2014/C5160/um/2457585/2457594/Reologie_a_reometrie_kapalin.pdf
- [47] ABOUT RHEOLOGY [online]. [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: http://www.iq.usp.br/mralcant/About_Rheo.html
- [48] MEWIS, Jan a Norman J. WAGNER. Thixotropy. Advances in Colloid and Interface Science [online]. 2009, 147-148, 214-227 [cit. 2022-10-26]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2008.09.005
- [49] Tixotropie [online]. [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/tixotropie.html

- [50] Britannica [online]. [cit. 2022-10-31]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/Hookes-law>
- [51] UGURAL, Ansel C. a Saul K. FENSTER. Advanced strength and applied elasticity. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2003. ISBN 0-13-047392-8
- [52] JÓŹWIAK, Bertrand, Magdalena ORCZYKOWSKA, Marek DZIUBIŃSKI a Yingjie XU. Fractional Generalizations of Maxwell and Kelvin-Voigt Models for Biopolymer Characterization. PLOS ONE [online]. 2015, 10(11) [cit. 2022-10-31]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0143090
- [53] JEONG, Jena, Edgar CHUTA, Hamidreza RAMÉZANI a Samuel GUILLOT. Rheological properties for fresh cement paste from colloidal suspension to the three-element Kelvin–Voigt model. Rheologica Acta [online]. 2020, 59(1), 47-61 [cit. 2022-10-31]. ISSN 0035-4511. Dostupné z: doi:10.1007/s00397-019-01171-x
- [54] ATKINS, P., Julio DE PAULA: Fyzikální chemie. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013, s. 915, ISBN 978-80-7080-830-6.
- [55] Measurement apparatus: Rotational methods [online]. [cit. 2022-11-02]. Dostupné z: <http://ciks.cbt.nist.gov/~garboz/SP946/node14.htm>
- [56] ODENBACH, Stefan, Thomas RYLEWICZ a Michael HEYEN. A rheometer dedicated for the investigation of viscoelastic effects in commercial magnetic fluids. Journal of Magnetism and Magnetic Materials [online]. 1999, 201(1-3), 155-158 [cit. 2022-11-02]. ISSN 03048853. Dostupné z: doi:10.1016/S0304-8853(99)00109-2
- [57] MEZGER, Thomas. Applied rheology: with Joe Flow on rheology road. 5th edition. Graz: Anton Paar, 2015. ISBN isbn978-3-9504016-0-8.
- [58] ÖHRLUND, Åke. Evaluation of Rheometry Amplitude Sweep Cross-Over Point as an Index of Flexibility for HA Fillers. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications [online]. 2018, 08(02), 47-54 [cit. 2022-11-02]. ISSN 2161-4105. Dostupné z: doi:10.4236/jcdsa.2018.82008
- [59] YAN, Congqi a Darrin J. POCHAN. Rheological properties of peptide-based hydrogels for biomedical and other applications. Chemical Society Reviews [online]. 2010, 39(9) [cit. 2022-11-02]. ISSN 0306-0012. Dostupné z: doi:10.1039/b919449p
- [60] ASLAM, Muhammad, Mazhar Ali KALYAR a Zulfiqar Ali RAZA. Polyvinyl alcohol: A review of research status and use of polyvinyl alcohol based nanocomposites. Polymer Engineering & Science [online]. 2018, 58(12), 2119-2132 [cit. 2022-12-29]. ISSN 00323888. Dostupné z: doi:10.1002/pen.24855
- [61] BAKER, Maribel I., Steven P. WALSH, Zvi SCHWARTZ a Barbara D. BOYAN. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials [online]. 2012, 100B(5), 1451-1457 [cit. 2022-12-29]. ISSN 15524973. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.32694
- [62] BEN HALIMA, Nihed. Poly(vinyl alcohol): review of its promising applications and insights into biodegradation. RSC Advances [online]. 2016, 6(46), 39823-39832 [cit. 2022-12-29]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C6RA05742J

- [63] HODGKINSON, Nigel a Michael TAYLOR. Thermoplastic Poly (Vinyl Alcohol) (PVOH) [online]. 6.4.2001 [cit. 2022-12-30]. Dostupné z: <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=266>
- [64] GAAZ, Tayser, Abu SULONG, Majid AKHTAR, Abdul KADHUM, Abu MOHAMAD a Ahmed AL-AMIERY. Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol, Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites. *Molecules* [online]. 2015, 20(12), 22833-22847 [cit. 2022-12-30]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: [doi:10.3390/molecules201219884](https://doi.org/10.3390/molecules201219884)
- [65] NAWAZ, Ali a Ivo A. HÜMMELGEN. Poly(vinyl alcohol) gate dielectric in organic field-effect transistors. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* [online]. 2019, 30(6), 5299-5326 [cit. 2022-12-30]. ISSN 0957-4522. Dostupné z: [doi:10.1007/s10854-019-00873-5](https://doi.org/10.1007/s10854-019-00873-5)
- [66] LONG, Jingjunjiao, Ashveen V. NAND, Craig BUNT a Ali SEYFODDIN. Controlled release of dexamethasone from poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Pharmaceutical Development and Technology* [online]. 2019, 24(7), 839-848 [cit. 2022-10-16]. ISSN 1083-7450. Dostupné z: [doi:10.1080/10837450.2019.1602632](https://doi.org/10.1080/10837450.2019.1602632)
- [67] Poly (vinyl acetate): Structure, Preparation, Properties and Applications [online]. 12.12.2021 [cit. 2022-12-30]. Dostupné z: <https://www.sciencedoze.com/2021/12/poly-vinyl-acetate-structure-preparation-properties-application.html>
- [68] ADELNIA, Hossein, Reza ENSANDOOST, Shehzahdi SHEBBRIN MOONSHI, Jaber Nasrollah GAVGANI, Emad Izadi VASAFI a Hang Thu TA. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. *European Polymer Journal* [online]. 2022, 164 [cit. 2022-10-17]. ISSN 00143057. Dostupné z: [doi:10.1016/j.eurpolymj.2021.110974](https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110974)
- [69] HOLLOWAY, Julianne L., Anthony M. LOWMAN a Giuseppe R. PALMESE. The role of crystallization and phase separation in the formation of physically cross-linked PVA hydrogels. *Soft Matter* [online]. 2013, 9(3), 826-833 [cit. 2022-10-17]. ISSN 1744-683X. Dostupné z: [doi:10.1039/C2SM26763B](https://doi.org/10.1039/C2SM26763B)
- [70] XIE, Liang, Man JIANG, Xiaogang DONG, Xia BAI, Jin TONG a Jiang ZHOU. Controlled mechanical and swelling properties of poly(vinyl alcohol)/sodium alginate blend hydrogels prepared by freeze-thaw followed by Ca²⁺ crosslinking. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2012, 124(1), 823-831 [cit. 2022-10-15]. ISSN 00218995. Dostupné z: [doi:10.1002/app.35083](https://doi.org/10.1002/app.35083)
- [71] WU, Guangfeng, Kaiyun JIN, Li LIU a Huixuan ZHANG. A rapid self-healing hydrogel based on PVA and sodium alginate with conductive and cold-resistant properties. *Soft Matter* [online]. 2020, 16(13), 3319-3324 [cit. 2022-10-15]. ISSN 1744-683X. Dostupné z: [doi:10.1039/C9SM02455G](https://doi.org/10.1039/C9SM02455G)
- [72] PARK, Jong-Seok, Hyun-A KIM, Jong-Bae CHOI, Hui-Jeong GWON, Young-Min SHIN, Youn-Mook LIM, Myung Seob KHIL a Young-Chang NHO. Effects of annealing and the addition of PEG on the PVA based hydrogel by gamma ray. *Radiation Physics and Chemistry* [online]. 2012, 81(7), 857-860 [cit. 2022-10-16]. ISSN 0969806X. Dostupné z: [doi:10.1016/j.radphyschem.2012.02.005](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.02.005)

- [73] STENEKES, R.J.H., H. TALSMA a W.E. HENNINK. Formation of dextran hydrogels by crystallization. *Biomaterials* [online]. 2001, 22(13), 1891-1898 [cit. 2022-10-16]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(00)00375-6
- [74] DEAE-Dextran chloride form, off-white powder [online]. [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://us.vwr.com/store/product/14514148/deae-dextran-chloride-form-off-white-powder>
- [75] LALANI, Jigar a Ambikanandan MISRA. Gene Delivery Using Chemical Methods. In: *Challenges in Delivery of Therapeutic Genomics and Proteomics* [online]. Elsevier, 2011, 2011, s. 127-206 [cit. 2023-03-24]. ISBN 9780123849649. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384964-9.00004-9
- [76] WANG, Tao, Mahir TURHAN a Sundaram GUNASEKARAN. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan–poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polymer International* [online]. 2004, 53(7), 911-918 [cit. 2022-10-16]. ISSN 0959-8103. Dostupné z: doi:10.1002/pi.1461
- [77] FEKSA, Luciane R., Eduardo A. TROIAN, Cristina D. MULLER, Fabian VIEGAS, Aline B. MACHADO a Virgínia C. RECH. Hydrogels for biomedical applications. *Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs* [online]. B.m.: Elsevier, 2018, s. 403–438. ISBN 9780128136669. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813665-2.00011-9.
- [78] WISE, Donald L. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology* [online]. CRC Press, 2000 [cit. 2023-01-23]. ISBN 9780429080067. Dostupné z: doi:10.1201/9781482289985
- [79] MEHROTRA, Tithi, Mohammad Nawaid ZAMAN, Bhim Bali PRASAD, Anuradha SHUKLA, Srijan AGGARWAL a Rachana SINGH. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomycoides* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2020, 27(9), 9167-9180 [cit. 2023-05-02]. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-019-07296-z
- [80] JIANG, Shan, Sha LIU a Wenhao FENG. PVA hydrogel properties for biomedical application. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2011, 4(7), 1228-1233 [cit. 2023-05-02]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2011.04.005
- [81] EL-DIN, Horia M. Nizam, Safaa G. Abd ALLA a Abdel Wahab M. EL-NAGGAR. Swelling, Thermal and Mechanical Properties of Poly(vinyl alcohol)/Sodium Alginate Hydrogels Synthesized by Electron Beam Irradiation. *Journal of Macromolecular Science, Part A* [online]. 2007, 44(3), 291-297 [cit. 2023-01-23]. ISSN 1060-1325. Dostupné z: doi:10.1080/10601320601077336
- [82] CUI, Lingling, Wei TONG, Huangjie ZHOU, Chengqi YAN, Junyue CHEN a Dangsheng XIONG. PVA-BA/PEG hydrogel with bilayer structure for biomimetic articular cartilage and investigation of its biotribological and mechanical properties. *Journal of Materials Science* [online]. 2021, 56(5), 3935-3946 [cit. 2023-01-23]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/s10853-020-05467-9

- [83] ZHENG, Ce, Chunyu LIU, Hailiang CHEN, Ning WANG, Xia LIU, Guozhen SUN a Weihong QIAO. Effective wound dressing based on Poly (vinyl alcohol)/Dextran-aldehyde composite hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, 132, 1098-1105 [cit. 2023-01-23]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.04.038
- [84] ABDEL-MOHSEN, A. M., A. S. ALY, R. HRDINA, A. S. MONTASER a A. HEBEISH. Eco-Synthesis of PVA/Chitosan Hydrogels for Biomedical Application. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2011, 19(4), 1005-1012 [cit. 2023-01-23]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-011-0334-0
- [85] MEYVIS, Tom K.L, Barbara G STUBBE, Mies J VAN STEENBERGEN, Wim E HENNINK, Stefaan C DE SMEDT a Joseph DEMEESTER. A comparison between the use of dynamic mechanical analysis and oscillatory shear rheometry for the characterisation of hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2002, 244(1-2), 163-168 [cit. 2023-05-02]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5173(02)00328-9
- [86] LEE, Jae-Hoon, Sang-Soo LEE, Jun-Dong CHANG, Mark S. THOMPSON, Dong-Joong KANG, Sungchan PARK a Seonghun PARK. A Novel Method for the Accurate Evaluation of Poisson's Ratio of Soft Polymer Materials. *The Scientific World Journal* [online]. 2013, 2013, 1-7 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1537-744X. Dostupné z: doi:10.1155/2013/930798
- [87] PŘIBYL, Jiří. Adheze hydrogelů na bázi poly(vinylalkoholu). Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/130300>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.
- [88] MicroCal PEAQ-ITC [online]. [cit. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/microcal-range/microcal-itc-range/microcal-peaq-itc>
- [89] Rheology Theory and Applications [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.tainstruments.com/wp-content/uploads/Boston-Rheology-Training-2019.pdf>
- [90] VEDADGHAVAMI, Armin, Farnaz MINOOEI, Mohammad Hossein MOHAMMADI, Sultan KHETANI, Ahmad REZAEI KOLAHCHI, Shohreh MASHAYEKHAN a Amir SANATI-NEZHAD. Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia* [online]. 2017, 62, 42-63 [cit. 2023-05-03]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2017.07.028
- [91] CUI, Lingling, Wei TONG, Huangjie ZHOU, Chengqi YAN, Junyue CHEN a Dangsheng XIONG. PVA-BA/PEG hydrogel with bilayer structure for biomimetic articular cartilage and investigation of its biotribological and mechanical properties. *Journal of Materials Science* [online]. 2021, 56(5), 3935-3946 [cit. 2023-05-03]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/s10853-020-05467-9
- [92] CAMERON, Anna P., Bijun ZENG, Yun LIU, Haofei WANG, Farhad SOHEILMOGHADDAM, Justin COOPER-WHITE a Chun-Xia ZHAO. Biophysical properties of hydrogels for mimicking tumor extracellular matrix. *Biomaterials Advances* [online]. 2022, 136 [cit. 2023-05-03]. ISSN 27729508. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioadv.2022.212782

- [93] CHEN, Rui, Xiubin XU, Danfeng YU, et al. Highly stretchable and fatigue resistant hydrogels with low Young's modulus as transparent and flexible strain sensors. *Journal of Materials Chemistry C* [online]. 2018, 6(41), 11193-11201 [cit. 2023-05-02]. ISSN 2050-7526. Dostupné z: doi:10.1039/C8TC02583E
- [94] PARK, Hyojin a Dukjoon KIM. Swelling and mechanical properties of glycol chitosan/poly(vinyl alcohol) IPN-type superporous hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2006, 78A(4), 662-667 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1549-3296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.30768
- [95] Gupta NV, Shivakumar HG. Investigation of Swelling Behavior and Mechanical Properties of a pH-Sensitive Superporous Hydrogel Composite. *Iran J Pharm Res*. 2012 Spring;11(2):481-93. PMID: 24250471; PMCID: PMC3832170.
- [96] FIGUEROA-PIZANO, M.D., I. VÉLAZ, F.J. PEÑAS, P. ZAVALA-RIVERA, A.J. ROSAS-DURAZO, A.D. MALDONADO-ARCE a M.E. MARTÍNEZ-BARBOSA. Effect of freeze-thawing conditions for preparation of chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogels and drug release studies. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2018, 195, 476-485 [cit. 2023-05-02]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.05.004
- [97] HUA, Shuibo, Haizhen MA, Xun LI, Huixia YANG a Aiqin WANG. PH-sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca²⁺ crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2010, 46(5), 517-523 [cit. 2023-05-02]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.03.004

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

9.1 Použité zkratky

BP	bakalářská práce
DEAE	diethylaminoethyl – dextran
DEX	dextran
DMA	dynamická mechanická analýza
DSC	difrakční skenovací kalorimetrie
GA	glutaraldehyd
CH	chitosan
IPN	interpenetrující polymerní síť
ITC	izotermická titrační kalorimetrie
LVO	lineární viskoelastická oblast
MT	mražení – tání
PEG	poly(ethylenglykol)
poly(HEMA)	poly(2-hydroxymethylmethakrylát)
PVAc	poly(vinylacetát)
PVAI	poly(vinylalkohol)
rpm	otáčky za minutu
SA	alginát sodný
SB	stupeň bobtnání

9.2 Použité symboly

m_s	hmotnost nabobtnalého hydrogelu
m_d	hmotnost suchého hydrogelu
D_e	Deborahno číslo
λ	materiálový (relaxační) čas
τ_{poz}	doba pozorování
A	plocha desky
v	rychlost desky
F	působící síla
τ	tečné napětí
du	posun horní desky
dx	vzdálenost mezi deskami
γ	relativní deformace
$\dot{\gamma}$	časová změna deformace
η	dynamická viskozita
F_s	působící síla
k	materiálová konstanta pro dané těleso
x	vzdálenost protažení
G_E	Youngův elastický modul pružnosti
ε	relativní prodloužení
G^*	komplexní modul
δ	ztrátový úhel
G'	paměťový (elastický) modul
G''	ztrátový (viskózní) modul
m_{rel}	relativní úbytek hmotnosti

m_{celkem}
 m_n

celková hmotnost vzorku
hmotnost při procesu sušení

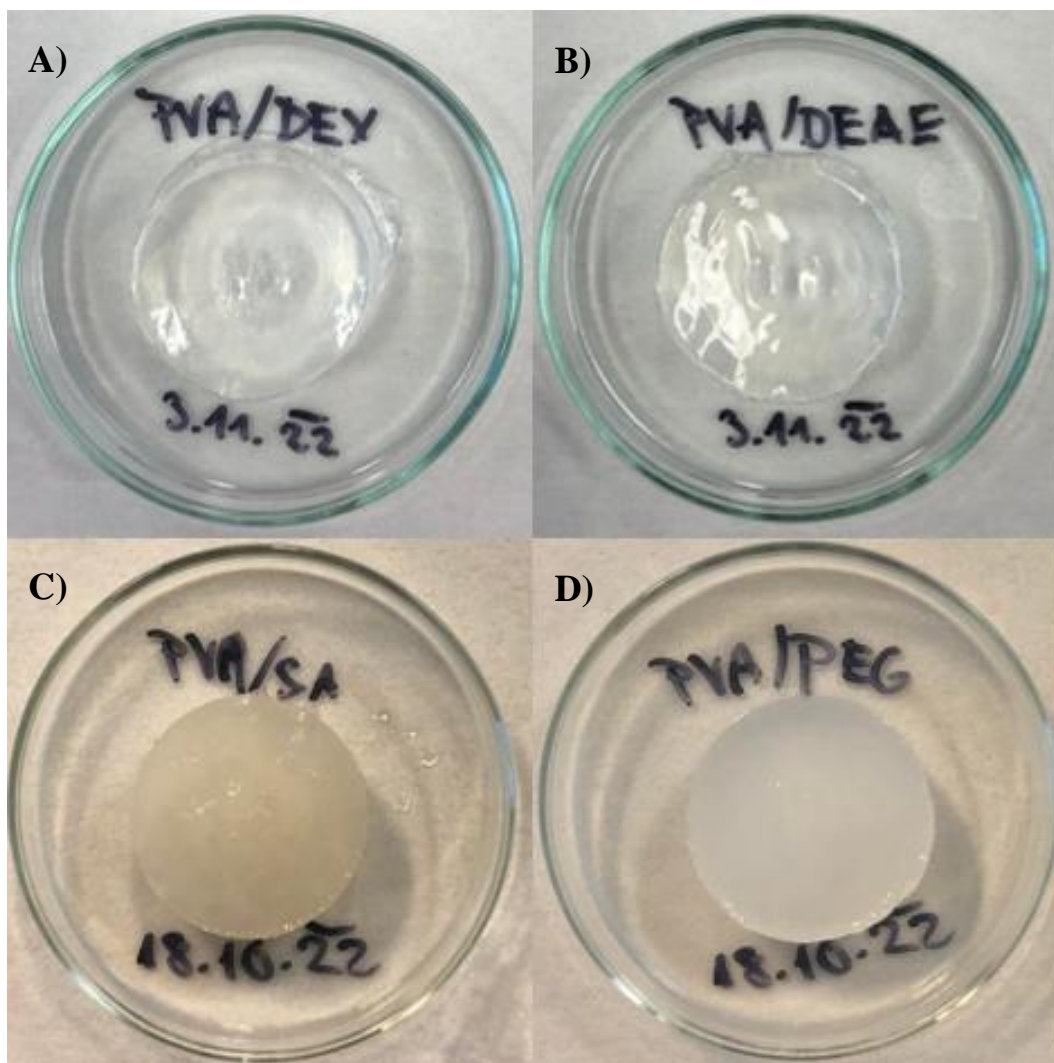
10 PŘÍLOHY



Příloha 1: Aparatura pro přípravu polymerních roztoků s nastavenými parametry.



Příloha 2: A) nadávkovaný vzorek pro DMA analýzu B) Stlačený vzorek pro DMA analýzu



Příloha 3: Ukázka vzorových PVA hydrogelů s přidáním biopolymeru, A) DEX, B) DEAE, C) SA, D) PEG