



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

**SLEDOVÁNÍ ZMĚNY PH V SYSTÉMU FÁZOVĚ
SEPAROVANÝCH HYDROGELŮ**

MONITORING THE PH CHANGE IN THE PHASE-SEPARATED HYDROGEL SYSTEMS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Richard Heger

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Filip Mravec, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1135/2017
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Bc. Richard Heger**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Filip Mravec, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název diplomové práce:

Sledování změny pH v systému fázově separovaných hydrogelů

Zadání diplomové práce:

- 1) Rešerše na stanovení pH v gelových systémech se zaměřením na spektroskopické indikátory.
- 2) Na základě rešerše navrhnout indikátory pro sledování změn pH ve fázově separovaných hydrogelech vzniklých interakcí polyelektrolyt–tenzid a vhodnou reologickou metodu pro porovnání vlastností před a po změně pH.
- 3) Experimentálně popsat průběh změny pH pomocí indikátorů a reologických měření při vystavení hydrogelů prostředím o různém pH.
- 4) Na základě získaných dat diskutovat vliv změn pH na gelovou matici.

Termín odevzdání diplomové práce: 7.5.2018

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

Bc. Richard Heger
student(ka)

Ing. Filip Mravec, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá sledováním změn pH a popisu vlastností ve fázově separovaných hydrogelech připravených interakcí polyelektrolytu a opačně nabitého tenzidu. Pro potřeby této práce byly hydrogely připravovány interakcí hyaluronanu se Septonexem. Všechny hydrogely byly vystavovány změnám hodnot pH (4–9). Změny pH byly monitorovány pomocí spektroskopických indikátorů, methylovaní, methylčervení, bromthymolovou modří a fenolftaleinem. Vlastnosti před a po změně pH byly porovnány pomocí reologických metod. Doplňující informace byly také získány z termogravimetrických analýz. Těmito metodami bylo dokázáno, že změnami pH lze upravovat mechanické vlastnosti a částečně i vnitřní strukturu hydrogelů. Z reologických testů vyplývá, že z aplikačního hlediska jsou nejzajímavější hydrogely pozorované při pH 9, které mají nejpevnější vazby, ale malou propustnost, a hydrogely popsané při pH 7, které jsou naopak mnohem měkčí a jsou schopné absorbovat velké množství vody.

ABSTRACT

This thesis pursues monitoring of pH changes and description of properties in phase-separated hydrogels prepared by interaction of polyelectrolyte and oppositely charged surfactants. For the purposes of this work, all hydrogels were prepared by the interaction of hyaluronan with Septonex. All hydrogels were exposed to pH changes (4–9). Changes in pH were being monitored using spectroscopic indicators, methyl orange, methyl red, bromothymol blue and phenolphthalein. The pre- and post- pH changes in properties were compared using rheological methods. Additional information was gathered through thermogravimetric analysis. By these methods it was proved that the changes in the pH can modify the mechanical properties and partly the internal structure of the hydrogels. Rheological tests show, that from the application point of view, the most interesting hydrogels are observed at pH 9 which have the strongest bonds but have low permeability and hydrogels described at pH 7 which are much softer and are capable of absorbing large amounts of water.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogel, hyaluronan, Septonex, pH, spektroskopické indikátory, reologie

KEYWORDS

hydrogel, hyaluronan, Septonex, pH, spectroscopic indicators, rheology

HEGER, R. *Sledování změny pH v systému fázově separovaných hydrogelů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 80 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D..

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 diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
Bc. Richard Heger

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu mé diplomové práce, Ing. Filipovi Mravcovi, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost a čas, který mi věnoval. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D. za ochotu, užitečné rady a předané znalosti při osvojování metody reologie. Poděkování patří také paní Leoně Kubíkové za pomoc při měření termogravimetrie. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1 Hyaluronan.....	8
2.1.1 Struktura.....	8
2.1.2 Síťování.....	9
2.1.3 Biologická aktivita	9
2.1.4 Zdroje.....	10
2.1.5 Syntéza a metabolismus hyaluronanu.....	10
2.1.6 Využití	10
2.2 Tenzidy	11
2.2.1 Klasifikace	12
2.2.2 Micely	13
2.2.3 Septonex.....	13
2.2.4 Solubilizace.....	14
2.2.5 Interakce polymerů s tenzidy	14
2.3 Gely.....	15
2.3.1 Gelace	16
2.3.2 Vliv podmínek na průběh gelace	16
2.3.3 Vlastnosti	16
2.3.4 Hydrogely	17
2.3.5 Využití	18
2.4 Reologie	18
2.4.1 Newtonovské kapaliny.....	19
2.4.2 Nenevtonovské kapaliny	20
2.4.3 Měřicí systémy.....	21
2.4.4 Viskoelastické testy	21
3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	23
3.1 Interakce hyaluronan–tenzid.....	23
3.2 Hydrogely s hyaluronanovým základem	24
3.3 Polysacharidové hydrogely	25
3.4 Studium pH ve složitějších systémech.....	25
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
4.1 Chemikálie	27
4.1.1 Chemikálie pro tvorbu hydrogelů	27
4.1.2 Chemikálie na přípravu pufrů	27
4.1.3 Indikátory.....	27
4.1.4 Barviva.....	27
4.2 Přístroje.....	28

4.3 Pracovní postup.....	28
4.3.1 Příprava pufrů	28
4.3.2 Příprava hydrogelů.....	28
4.3.3 Příprava hydrogelů s indikovanou hodnotou pH	28
4.3.4 Výměna disperzního prostředí	29
4.3.5 Difúze v kyvetách	29
4.3.6 Barvení hydrogelů olejovou červení.....	29
4.3.7 Reologie gelů	30
4.3.8 Termogravimetrie	31
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	32
5.1 Vizuální charakterizace hydrogelů	32
5.2 Testy výměny disperzního prostředí.....	33
5.3 Probarvení gelů indikátory.....	37
5.4 Difúze v odlišných podmínkách	41
5.5 Solubilizační experiment	43
5.6 Reologická měření	44
5.6.1 Oscilační měření	44
5.6.2 Tokové testy.....	52
5.7 Termogravimetrická analýza	56
6 ZÁVĚR.....	58
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	61
8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	68
9 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	69
10 PŘÍLOHY.....	70

1 ÚVOD

V současné době je interakce polymer–tenzid středem zájmu mnoha vědeckých skupin. Metodou fázové separace je možné interakcí těchto látek připravit fyzikální hydrogely. O hydrogelech je známo, což vypovídá i ze jména, že dokáží absorbovat obrovské množství vody do své struktury a tím zvýšit svůj objem. Této skutečnosti se využívá zejména v medicínských aplikacích. Takový materiál je ideálním kandidátem pro využití jako nosiče léčiv. Tento nosič by měl zaručit prodlouženou cirkulaci léčiva a díky své specifické struktuře uvolňovat léčivo pomalu a postupně. Jeho struktura taktéž zaručuje prostup kyslíku a dalších živin.

Při práci s hydrogely zaměřenými na medicínské aplikace, které by měly přicházet do styku s lidským tělem, je třeba brát v úvahu podmínky, které se tak mění. Jednou z těchto podmínek je hodnota pH, která je významným faktorem pro všechny fyzikální interakce. Ať už tomu jsou izoelektrické body aminokyselin, peptidů nebo bílkovin, při kterém mají tyto látky nulový celkový náboj. Právě i udržování stálého pH patří mezi základní úkony vnitřního prostředí.

Aplikace hydrogelu rozhoduje o tom, jaké hodnotě pH bude hydrogel vystaven. Hodnoty pH lidského těla se značně liší. Při aplikaci na kůži může být hydrogel vystaven hodnotě pH v rozmezí 4–7. Při požití je hydrogel ihned vystaven pH slin (6,5–7,5), dále prostoupí až do žaludku, kde je vystaven podstatně kyselějšímu pH (2–6) a následně nestrávený zbytek by teoreticky byl vystaven hodnotě pH 4–7. V případě vaginální aplikace by se dostal do styku s hodnotou pH 3,8–4,5 [1–3].

Cílem této práce bylo sledovat a popsat změny ve fázově separovaných hydrogelech vzniklých změnou hodnoty pH. Rozsah studovaných hodnot pH je korelující s hodnotami pH, se kterými by se hydrogel mohl potkat v lidském těle. Jako výchozí látky pro tvorbu hydrogelů interakcí polymeru s tenzidem byly vybrány záporně nabitý polyelektrolyt hyaluronan a kladně nabitý tenzid Septonex. U připravených hydrogelů jsou pomocí indikátorů zkoumány změny pH. Použitím reologických metod je provedena charakteristika mechanických vlastností připravených gelů a tyto charakteristiky jsou porovnávány mezi jednotlivými gely připravenými o různých hodnotách pH. V poslední kapitole jsou pro tyto hydrogely provedeny prvotní testy termogravimetrické analýzy.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hyaluronan

Hyaluronan (Hya) je polysacharid, který je základní složkou extracelulární matrice obratlovců a také produktem virů, bakterií a hub. Přesto, že se tento polymer skládá ze stále se dokola opakujících disacharidových jednotek, má celou řadu biologických funkcí a lékařských aplikací. Několika málo příklady mohou být: efektivní prostorová výplň udržující hydrataci, podklad pro montáž proteoglykanů a buněčný pohyb, regulace buněčné funkce a hojení ran. Jeho fyzikální vlastnosti a biokompatibilita jej dělají velmi významným v tkáňovém inženýrství, klinických aplikacích a vývoji biomateriálů [4, 5].

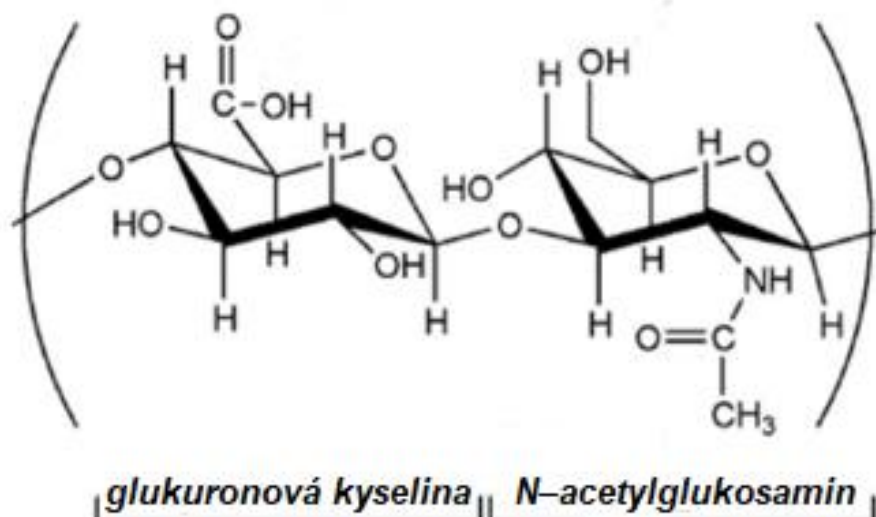
Tato chemická sloučenina byla objevena v roce 1934 Karlem Mayerem a Johnem Palmerem v hovězím sklivci. V té době se jim také podařilo zjistit, že obsahuje dvě molekuly cukru. Po objevu navrhli pojmenování „hyaluronová kyselina“. Tento název vycházel z toho, co o této sloučenině věděli, a tedy, že vypadá jako sklo, což popsali řeckým slovem pro sklo „hyalos“, a to, že jedním z cukrů, které tato sloučenina obsahuje, je kyselina uronová [6]. Termín hyaluronan byl zaveden v roce 1986 Enderem Balazsem, aby byl v souladu s mezinárodní nomenklaturou polysacharidů. Termín byl zaveden, aby zahrnoval různé formy, které tato molekula může zaujmout, jako jsou kyselinová forma, tedy kyselina hyaluronová nebo soli, jako je hyaluronan sodný [7].

Hyaluronan se vyskytuje ve všech obratlovcích, a dokonce i v některých patogenních bakteriích, jako je *Streptococcus sp.* a *Pasteurella*. Je součástí extracelulárních matic ve většině tkání a v některých tkáních tvoří hlavní složku. V případě lidského těla se hyaluronan vyskytuje ve formě solí, tedy jako hyaluronát. Největší množství hyaluronanu je možné nalézt v synoviální tekutině, v pupečnickové šňůře a ve sklivci oka. Dále se velké množství hyaluronanu vyskytuje v kůži, svalch a kostře. Hyaluronan se také vyskytuje v plicích, ledvinách, mozku a svalové tkáni [8].

Za fyziologických podmínek, při neutrálním pH, jsou karboxylové skupiny ionizovány a všechny disacharidové jednotky nesou záporný náboj, a tak se kyselina hyaluronanová nevyskytuje ve formě protonované kyseliny. Vyskytuje se ve formě polyaniontu jako sodná nebo draselná sůl. [4].

2.1.1 Struktura

Hyaluronan je klasifikován jako glykosaminoglykan (GAG), avšak na rozdíl od proteoglykanů, postrádá proteinové jádro a jako jeden z hlavních glykosaminglykanů není sulfatován. Molekulární hmotnosti hyaluronanu se mohou pohybovat od 20 kDa do 10 MDa. Jeho řetězce se skládají z opakujících se disacharidových jednotek kyseliny D–glukuronové a N–acetylglukosaminu (*Obr. 1*). Tyto jednotky jsou vzájemně propojeny střídajícími se β -1,4 a β -1,3 glykosidickými vazbami. Oba cukry jsou prostorově příbuzné s glukózou, která v beta konfiguraci umožňuje, aby všechny její objemné skupiny byly ve stericky příznivých polohách, zatímco všechny malé vodíkové atomy obsazovaly méně stericky výhodné polohy. Proto je struktura tohoto disacharidu energeticky velmi stabilní [6].



Obr. 1: Struktura disacharidové jednotky hyaluronanu [9].

Stabilita struktury hyaluronanového řetězce je dána díky svým vazbám. Mezi glykosidovými jednotkami jsou vazby skládající se z jediného atomu kyslíku spojující jeden cukr s druhým. Tyto kyslíkové atomy do struktury přispívají dvěma vazbami, které svírají vazby ve tvaru písmene „V“. Substituenty připojené na těchto vazbách mohou rotovat o 360°. Avšak z důvodu zavazení si samotných jednotek nemají jednotky dokonalou volnost v rotaci. I přesto existuje obrovské množství možných uspořádání. Pomocí modelovacích a zobrazovacích technik bylo zjištěno, že každá disacharidová jednotka je pootočená o 180° vůči další jednotce před a za ní. Druhé pootočení by přineslo zpět původní uspořádání, nesoucí název „two-fold helix“ (dvakrát stočená šroubovice) [10, 11].

2.1.2 Síťování

Hyaluronan ve své struktuře obsahuje rozsáhlou hydrofobní oblast. Hyaluronan má tedy vlastnosti vysoce hydrofilního materiálu a současně i hydrofobní oblasti, které jsou typické pro lipidy. Takové látky se nazývají amfifilní. Hydrofobní oblasti uvnitř hyaluronanu mají dalekosáhlé důsledky pro molekuly ve vodném prostředí. Tyto oblasti se ve vodném prostředí shlukují dohromady a snižují tak kontakt povrchu s hydrofilním rozpouštědlem. Hydrofobní oblasti tímto sbalením napomáhají hyaluronanu tvořit shluky mezi sebou a síťovat se.

Sekundární struktura hyaluronanu připomíná plochou pásku. Obě strany jsou totožné, ale jsou vůči sobě antiparalelní. To jim dovoluje růst z obou stran. Elektrostatická repulze mezi záporně nabitými místy na řetězcích by mohla způsobit disociaci agregátů. Avšak této repulzi je zabráněno nejen hydrofobními interakcemi, ale i vodíkovými můstky mezi acetamidovými a karboxylovými skupinami. I přesto jsou síly držící tuto síť poměrně slabé a pouhá změna okolních podmínek může vést k disociaci.

K samotnému síťování dochází už při nízkých koncentracích hyaluronanu a se zvyšující se koncentrací roste síla jednotlivých větví, které propojují všechny molekuly [11].

2.1.3 Biologická aktivita

Délka hyaluronanového řetězce rozhoduje o biologické aktivitě polysacharidu. Molekuly hyaluronanu s vysokou molekulovou hmotností jsou obvykle molekulami, které vyplňují

a hydratují tkáň. Pravidelně jsou také antiangiogenní, imunosupresivní a protizánětlivé. Menší oligomery hyaluronanu, v rozmezí 6–20 kDa, jsou silnými aktivátory dendritických buněk, buněk imunitního systému. Dá se tedy říct, že hyaluronan s nižší molekulovou hmotností bývá angiogenní, zánětlivý a imunostimulační. Velmi malé oligosacharidy hyaluronanu mívají velmi jedinečné biologické aktivity. Oligosacharidy o velikosti 3–10 disacharidů inhibují růst nádorových buněk [5, 12].

2.1.4 Zdroje

Jak již bylo naznačeno dříve, hyaluronan je základní funkční složkou téměř všech tkání v organismu obratlovců. Jako zdroj hyaluronanu bylo v minulosti použito značné množství živočišných tkání, např. kohoutkové hřebeny, žraločí kůže nebo bovinní oční bulvy. Vzhledem k tomu, že hyaluronan je v biologických materiálech obvykle přítomen v komplexu s jinými biopolymery, je potřeba využít řady separačních metod k získání čisté sloučeniny, jako je štěpení proteázou, srážení nebo lyofilizace. Průměrná molární hmotnost komerčně dostupných „extrakčních“ Hya přípravků je přibližně 2,5 MDa. V současné době, při potřebě vysokomolekulární hmotnosti hyaluronanu, se pro použití v medicíně využívá hyaluronan připravený z kohoutkových hřebenů.

Ačkoliv se dříve hojně využívaly živočišné tkáně, dnes se od nich ustupuje a začínají se více využívat mikroorganismy. Mezi mikroorganismy, které se využívají k fermentační produkci hyaluronanu se řadí např. *Streptococcus zooepidemicus*, *Bacillus subtilis* nebo *Streptococcus equismilis*. Mnoho podniků je schopno dodávat hyaluronan fermentačně připravený i s vysokou molekulovou hmotností [13].

2.1.5 Syntéza a metabolismus hyaluronanu

Pro syntézu hyaluronanu je potřeba tří enzymů, Hya syntázy (HAS–1, HAS–2 a HAS–3). Tyto enzymy byly objeveny až po roce 1990. Jedná se o transmembránové proteiny, které ztrácejí svou aktivitu při rozpuštění, a tak bylo velmi obtížné je studovat. Každý enzym je jiný a zastává jinou funkci. HAS–1 je nejméně aktivním z trojice a řídí syntézu hyaluronanu s vysokými molekulovými hmotnostmi. HAS–2 je katalyticky aktivnější oproti HAS–1 a stejně jako HAS–1 produkuje hyaluronan s vysokou molekulovou hmotností. Kromě toho se HAS–2 podílí na vývojových a opravných procesech zahrnující expanzi a růst tkání. HAS–3 je neaktivnějším z trojice enzymů a řídí syntézu řetězců hyaluronanu s nižší molekulovou hmotností [14, 15].

Na rozdíl od všech glykosaminoglykanů, k polymeraci hyaluronanového řetězce dochází na povrchu intracelulární membrány. Jsou syntetizovány v hrubém endoplazmatickém retikulu připojením k jadrovým proteinům. Během syntézy, s růstem hyaluronanového polymeru, dochází k extruzi přes plazmatickou membránu do perikulární povrchové vrstvy, která se nazývá glykokalyx. Extruze rostoucího hyaluronanového řetězce přes plazmatickou membránu umožňuje neomezený růst polymeru, a tak může dosáhnout velikosti 1000 až 10 000 kDa. Syntéza takového polymeru, obsahujícího až 25 000 disacharidových jednotek, by nemohla být možná intracelulárně [14, 16].

2.1.6 Využití

Hyaluronan díky svým unikátním vlastnostem představuje jedinečný biologický materiál, který nachází uplatnění v mnoha odvětvích průmyslu. Jelikož se jedná o přirozeně se

vyskytující, biokompatibilní polysacharid s jedinečnými viskoelastickými a hygrokopickými vlastnostmi, nachází využití zejména v medicíně a farmacii.

Jeho úloha jako přírodního maziva a jeho vynikajících vodu udržujících vlastností, jej činí ideálním materiálem pro použití v průmyslu zabývajícím se očními přípravky. Oční přípravky obsahující hyaluronan se používají v případech, kdy je potřeba provést náhradu sklivce nebo ochranu rohovky při očních operacích. Zde se používají přípravky vyvinuté k ochraně endotelu rohovky před mechanickým poškozením. Dále jej můžeme nalézt v přípravcích zaměřených na kontaktní čočky, kde slouží ke zvýšení smáčivosti a všeobecnému pohodlí kontaktních čoček. S tím souvisí i jeho další uplatnění při léčbě syndromu suchého oka, při kterém zvyšuje pohodlí při užívání očních kapek [17].

Dalším obrovským odvětvím využívajícím hyaluronan je dermatologie a s ní blíže související kosmetický průmysl. Výskyt hyaluronanu v měkkých pojivových tkáních lidského těla, kde hydratuje kůži a udržuje flexibilitu zdravé kůže, ho předurčuje k aplikacím v této oblasti. I degradace hyaluronanu specifickými hyaluronidázami vytváří hyaluronanové fragmenty, které pomáhají regulovat zánětlivý proces. Obrovské uplatnění nachází v hojení ran, při kterém napomáhá k hojení ran bez vytváření jizev. Hyaluronanové přípravky jsou také schopné redukovat známky stárnutí. V neposlední řadě se tyto přípravky využívají k augmentaci v plastické chirurgii [18].

Jelikož se hyaluronan vyskytuje v synoviální tekutině lidského těla, není příliš překvapivé, že našel i široké uplatnění v přípravcích využívaných pacienty s osteoartrózou. Jednou z možností, jak léčit toto postižení, je přímé vstříknutí hyaluronanu do synoviální tekutiny kloubu. Hyaluronan tak potlačuje opotřebenou chrupavku vlivem pohybu, která je právě hyaluronanem lubrikována [19].

Hyaluronan také prorazil do tkáňového inženýrství, kde se hojně uplatňuje jako scaffold. I přes některé nedostatky hyaluronanu jako scaffoldového materiálu je jeho využití možné díky řadě síťovacích technik, které zlepšují jejich mechanické vlastnosti. Výsledné materiály nabízejí výhodné vlastnosti jako je bioresorbovatelnost, inhibice tvorby jizev a podpora angiogeneze. Pro zvýšení rychlosti regenerace tkáně se často do Hya scaffoldu začleňují různé buněčné adhezni ligandy a růstové faktory [20].

2.2 Tenzidy

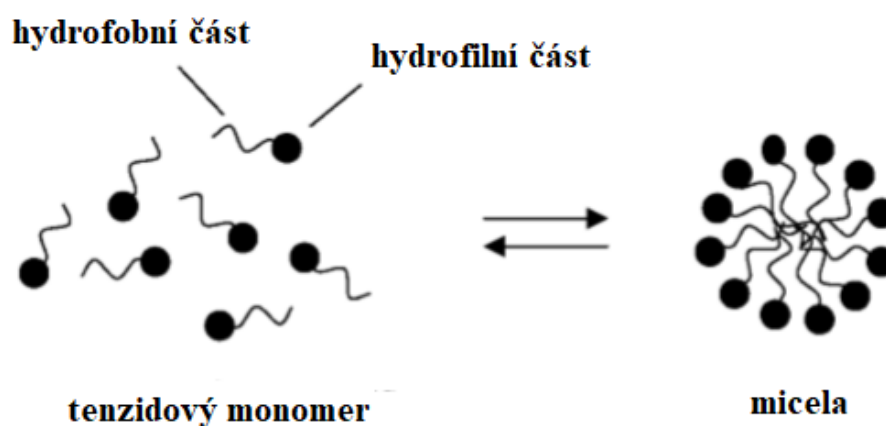
Pro tenzidy existuje několik názvů, podle kterých je můžeme v literatuře nalézt. Jedním z nich je tedy slovo *tenzid*, které bylo přejato z německého *Tenside*, které vyháží z latinského *tensus*, tedy napjatý. Synonymem je i pojem surfaktant, který je přejat naopak z angličtiny ze *surface active agent*, tedy povrchově aktivní látka, s jehož českým překladem se můžeme v literatuře také setkat.

Tenzidy mají poměrně charakteristickou molekulární strukturu. Skládají se ze dvou částí. Z části lyofilní, v případě vody hydrofilní, která má silnou přitažlivost k rozpouštědlu. A z části lyofobní, u vody hydrofobní, která je naopak velmi odpuzivá od rozpouštědla. Taková struktura se nazývá amfifilní struktura.

Při rozpouštění molekuly s amfifilní skupinou v rozpouštědle, může lyofobní skupina způsobit deformaci struktury rozpouštědla, a to zvýšením volné energie systému. Proti tomuto se systém snaží snížit kontakt lyofobní skupiny a rozpouštědla na minimum. V případě vody jako rozpouštědla, dochází k deformaci vody lyofobní skupinou rozbitím vodíkových vazeb

v molekule vody a orientací vody. To způsobí, že některé molekuly tenzidu jsou vyloučeny na povrch systému a jejich hydrofobní skupiny orientovány tak, aby minimalizovaly kontakt s vodními molekulami. Takto je povrch vody potažen vrstvou tenzidových molekul s jejich hydrofobními skupinami primárně orientovanými směrem ke vzduchu. Tím, že vzduchové molekuly jsou stejně jako hydrofobní skupiny nepolární povahy, způsobí to snížení povrchového napětí vody. Naopak přítomnost hydrofilních skupin zabraňuje úplnému vyloučení tenzidu z rozpouštědla [21].

Obecně lze tenzidy shrnout jako povrchově aktivní látky, které se hromadí na povrchu a fázovém rozhraní. Hnací silou tohoto hromadění je snížení mezifázové energie na fázovém rozhraní. Tenzid, vyskytující se při nízkých koncentracích, je látka, která má vlastnost se adsorbovat na povrch nebo mezifázové rozhraní a do jisté míry tím měnit povrchovou nebo mezifázovou volnou energii [22].



Obr. 2: Struktura tenzidu a micely [23].

2.2.1 Klasifikace

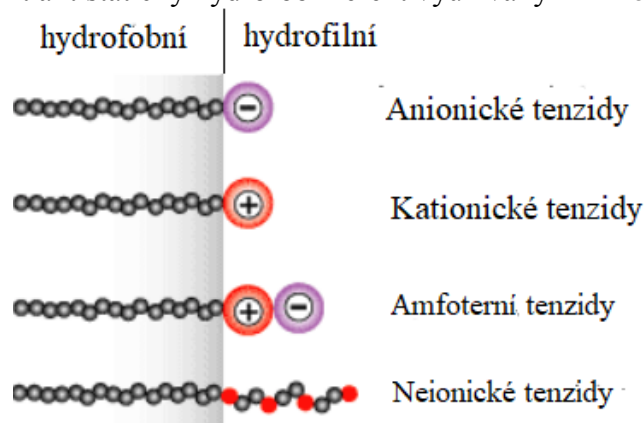
Komerčně se tenzidy často klasifikují podle jejich použití. To ovšem není příliš užitečné, protože mnoho tenzidů má více využití, a tak se to může stát matoucí. Nejčastěji, a tedy i vědecky správně, je jejich pojmenování založeno na jejich disociaci ve vodě.

Anionické tenzidy jsou disociovány ve vodě na amfifilní aniont a kationt, kterým je alkalický kov (Na^+ , K^+) nebo kvartérní amoniová sůl. Anionické tenzidy jsou nejčastějšími tenzidy a běžně se vyskytující v alkybenzenových sulfonátech (detergenty), (mastné kyseliny), mýdla, lauryl sulfonáty (pěnicí činidla), di-alkyl sulfosukcináty (vlhčící činidla), lignosulfonáty (dispergační činidla). 50 % světové produkce jsou právě anionické tenzidy [22].

Neionické tenzidy neionizují ve vodném prostředí, protože jejich hydrofilní skupina je nedisociovatelná. Mezi nedisociovatelné skupiny patří alkoholy, fenoly, ethery, estery nebo amidy. Velké množství těchto neionických tenzidů jsou změněny na hydrofilní přítomností polyethylenglykolového řetězce, polykondenzací ethylen oxidu. Tyto tenzidy zastávají asi 45 % světové produkce tenzidů [22].

Kationické tenzidy jsou disociovány ve vodě na amfifilní kationt a aniont. Velká část této skupiny koresponduje s dusíkatými sloučeninami jako soli mastných aminů a kvartérní amoniové sloučeniny s jedním nebo více dlouhými řetězci alkylového typu, často

pocházejících z přírodních mastných kyselin. Běžně jsou tyto tenzidy dražší než anionické, protože při jejich výrobě je potřeba provést vysokotlakou hydrogenaci. Z tohoto důvodu se využívají jen v málo případech a neexistuje jejich levnější substitute. Využívají se například jako baktericidy a kladně nabitě látky, které jsou schopné adsorbovat na záporně nabitě substráty, a tak tvořit antistatický hydrofobní efekt využívaný k inhibici koroze [22].



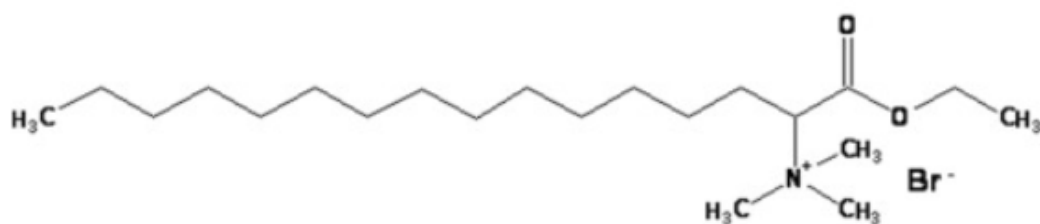
Obr. 3: Klasifikace tenzidů na anionické, kationické, amfoterní a neionické [24].

2.2.2 Micely

Povrchově aktivní látky (PAL) se vyznačují schopností samovolně agregovat ve vodném roztoku do útvarů, které se nazývají micely. Pro tvorbu micel je potřeba, aby molekula obsahovala skupiny, které svou afinitou k rozpouštědлу zaručují rozpustnost, a aby druhá část molekuly byla sama o sobě v rozpouštědle nerozpustná. Takové molekuly se nazývají amfifilní. Tyto molekuly obsahují sň hydrofilní polární skupinu a musí mít dostatečně dlouhý uhlovodíkový řetězec. Micely se začínají tvořit po překročení určité koncentrace, která se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC). Pro rozpustnost mnoha organických PAL je třeba dosáhnout vysoké teploty, při níž rozpustnost dosahuje hodnoty CMC, takové teplotě se říká Krafftova teplota. Gibbsova energie micelizace musí být záporná, protože schopnost tvořit micely je samovolná. Tento proces je endotermní, a tak musí být změna entropie kladná a dostatečně vysoká. Při tvorbě micel dochází ke změně hydratačních vrstev okolo molekul PAL [25, 26].

2.2.3 Septonex

Septonex neboli karbethopendeciniumbromid je bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu a chloroformu [27]. Jedná se o kvartérní amoniovou sůl, která má velký význam ve farmaceutickém průmyslu. A to z důvodu, protože tato látka vykazuje antimikrobiální a antiseptickou aktivitu. Toho se hojně využívá v různých farmaceutických přípravcích, jako jsou dermatologické spreje, oční a nosní kapky nebo masti. Také se využívá jako pomocná látka pro konzervaci léků [28]. Jedná se o kladně nabitý tenzid s dlouhým alkylovým řetězcem (Obr. 4).



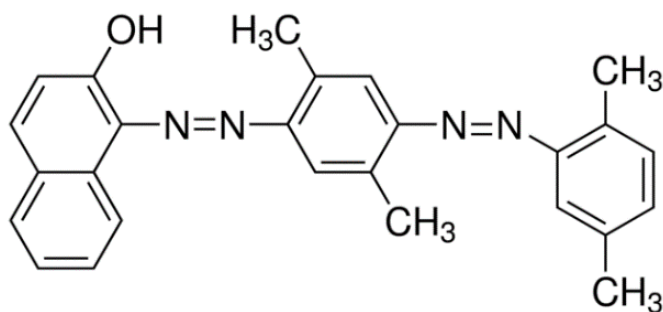
Obr. 4: Strukturální vzorec Septonexu [56].

2.2.4 Solubilizace

Solubilizace je významnou vlastností micelárních koloidů. Jedná se o schopnost rozpouštět látky v čistém disperzním prostředí nerozpustné. Tato schopnost je dána díky jejich amfifilní struktuře. Způsob, jakým dochází k solubilizaci, může být různý. Nejčastějším způsobem rozpouštění nepolárních látek je jejich inkorporace do jádra micely. Vše je v micelle ovládáno tak, aby uhlovodíkové řetězce směřovaly dovnitř micel a polární skupiny naopak do vodné fáze. Solubilizace polárních látek probíhá na povrchu nebo v těsné blízkosti povrchu micely [26].

Olejová červeň O

Olejová červeň se řadí mezi hydrofobní barviva. Vyskytuje se jako červený prášek, který nachází uplatnění nejen ve vědě, kde se využívá k barvení preparátů, ale také v mnoha odvětvích průmyslu. Hojně se například využívá v kriminalistice, kde se využívá například ke zabarvení latentních otisků prstů [30, 31].

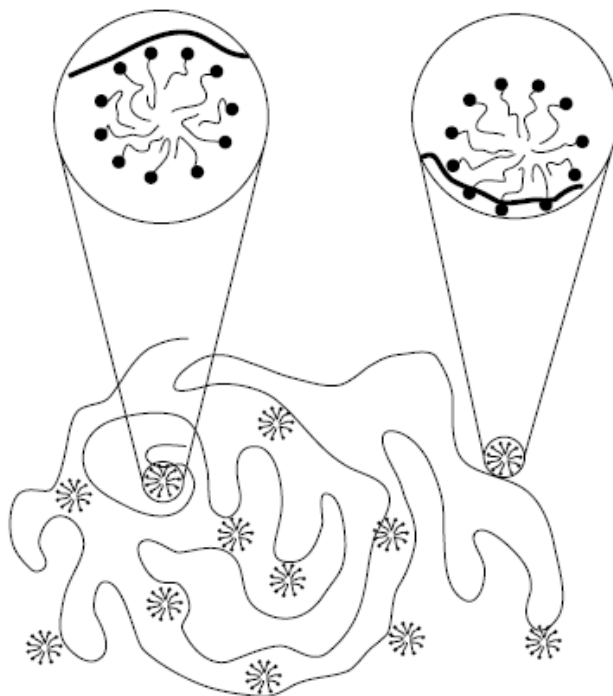


Obr. 5: Olejová červeň O [31].

2.2.5 Interakce polymerů s tenzidy

Interakci polymer–tenzid ovlivňuje jak polymer, tak i tenzid. Tato interakce má více druhů. Jedna je popsána jako asociace nebo vazba tenzidu na polymer, a druhá jako micelizace tenzidu přímo na nebo do okolí polymerního řetězce. Množství hydrofilních a hydrofobních skupin rozhoduje o druhu interakce. U polymerů s převahujícím množstvím hydrofobních skupin se převážně uplatňují hydrofobní interakce, a naopak u polymerů s více hydrofilními skupinami jsou hojnější elektrostatické interakce. Elektrostatické interakce se tedy budou hojněji vyskytovat mezi polyelektrolyty, tedy nabitými polymery a iontovými tenzidy. K nejsilnějším vazbám dochází v případě, kdy jsou tyto složky opačně nabitě.

Povrchově aktivní látky samy o sobě snižují mezifázové rozhraní. Přídavek polymeru k tenzidu způsobí jeho vázání k molekulám. Koncentrace popisující počátek navazování se nazývá kritická agregační koncentrace (CAC). K této koncentraci dochází mnohem dříve než ke kritické micelární koncentraci tenzidu. Při interakci těchto složek dochází ke vzniku klastrů. K popisu těchto klastrů slouží „pearl–necklace“ model (Obr. 6). Svůj název získaly díky svým micelám, které mají perlovitý tvar [32].



Obr. 6: Interakce polymer–tenzid, struktura "pearl–necklace" (perlový náhrdelník) [32].

2.3 Gely

Gel je trojrozměrnou makromolekulární sítí makroskopické velikosti s elastickými vlastnostmi [33]. Etymologický slovník popisuje pojem gel jako polotuhou substanci, vycházejících ze slov gelatin a jell, tedy želovat [34]. Jak je možné pochopit z tohoto základního popisu, tak i když je disperzní prostředí tvořeno kapalinou, tak se gely v důsledku jejich uspořádání budou chovat jako tuhé látky [33].

Gely, které se skládají z kapalného disperzního prostředí, se nazývají lyogely. Podle druhu tohoto disperzního prostředí je možné je dále dělit na hydrogely, kde je disperzním prostředím voda, a organogely, kde je disperzním prostředím organická kapalina. Dalším možným dělením, je dělení podle složení disperzního podílu na anorganické a organické. Při vysušování kapaliny z disperzního prostředí lyogelu vznikají xerogely.

Dle jejich chování ve vysušeném stavu, se gely dělí na reverzibilní a ireverzibilní. Reverzibilní gely při vysušení zmenšují svůj objem a opětovným přijetím disperzního prostředí, tj. botnáním jsou schopné přecházet zpět do původního stavu. Naopak ireverzibilní gely po přechodu do vysušeného stavu mají stále zhruba stejný objem, ale jsou porézní. Tyto gely jsou poté schopny přijmout nějaké množství kapaliny, ale ne takové, aby došlo ke vzniku hydrogelu [26, 33].

2.3.1 Gelace

Děj, který podmiňuje vznik gelu, se nazývá gelace. Jedná se o vytvoření spojů mezi makromolekulami lineárního polymeru nebo jeho roztoku. Spoje neboli uzly sítě, vznikají buďto chemickou reakcí, v tom případě se jedná o chemicky síťované gely, přesněji kovalentně síťované gely, nebo působením fyzikálních sil. Takto vytvořené gely se pak nazývají fyzikálně síťované gely [33].

Kovalentně síťované gely

Tyto gely představují nekonečnou trojrozměrnou síť, kterou je možné vytvořit několika způsoby, mezi které spadá například nelineární kondenzační nebo adiční polymerace monomerů nebo síťování lineárních polymerů za využití síťovacího činidla. Takto připravené gely mají velmi pevnou strukturu a po vysušení je téměř nemožné je převést zpět na lyogel [26].

Fyzikálně síťované gely

Fyzikálně síťované gely jsou postaveny na spojování úseků polymerních řetězců působením fyzikálních sil, jako jsou van der Waalovy síly, polární síly nebo vodíkové vazby. Tyto úseky se spojují do uzlových oblastí. Ve struktuře se střídají zapojené a volné úseky. Takové to gely si zachovávají svou ohebnost a tepelný pohyb [26].

2.3.2 Vliv podmínek na průběh gelace

Průběh tvorby gelů výrazně ovlivňují čtyři podmínky, vliv teploty, vliv koncentrace, vliv pH a vliv mechanických podmínek. Zvýšení teploty obvykle brání vzniku gelu, neboť roste intenzita tepelného pohybu jednotlivých segmentů a v důsledku toho klesá počet i doba trvání vazeb mezi makromolekulami. Snížení teploty podporuje tvorbu gelů.

Vzrůst koncentrace podporuje gelaci roztoků vysokomolekulárních látek, protože tím roste počet srážek makromolekul a jejich částí. Také se zvětšuje počet vazeb, které se vytvářejí v jednotce objemu.

Hodnota pH roztoků má výrazný vliv na tvorbu gelů u vodných roztoků amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů. Gelace nejlépe probíhá při hodnotě odpovídající izoelektrickému bodu [26].

2.3.3 Vlastnosti

Jak již bylo zmíněno dříve, tak gely se z velké části skládají z kapalného disperzního prostředí, ale i přesto se chovají jako pevné látky, za což může uspořádání jejich struktury. Gely se tedy vyznačují jako viskoelastické materiály. Při působení deformační silou se gely do určitého stavu nedeformují úplně, ale pouze vratně, což je jejich projevem elasticity [33]. Pro tuto vlastnost hraje počet vazeb značnou roli. Gely obsahující malý počet vazeb se vyznačují značnou elasticitou. Rostoucí počet vazeb mezi řetězci snižuje možnost na změnu tvaru makromolekuly, a tak je gel rigidnější [35].

Další vlastností, která stojí za zmínku, je elektrická vodivost. V případě, že disperzní prostředí gelu je disociované nízkomolekulárními elektrolyty, zůstane jeho elektrická vodivost shodná jako v odpovídajícím solu [35].

Gelová difuzivita pro nízkomolekulární látky je téměř neměnná oproti původnímu solu, ze kterého gel vznikl [35].

Gelová síť obsahuje značný počet elastických větví, a v případě stárnutí gelu, dochází ke kontaktu s tepelnými výkyvy a může docházet k tvorbě nových vazeb. Tvorba nových vazeb mezi větvemi způsobuje uzavírání sítě a vylučování kapaliny. Tento proces se nazývá synergie. Obvykle se jedná o sražení o několik procent během několika dnů nebo týdnů [36].

2.3.4 Hydrogely

Hydrogely se definují jako trojrozměrné polymerní síť, schopné přijmout a držet velké množství vody, aniž by došlo k jejich rozpuštění, vytvořené jednoduchou reakcí jednoho nebo více monomerů. Jejich schopnost absorbovat vodu vychází z hydrofilních funkčních skupin připojených k polymernímu řetězci. Naopak jejich odolnost vůči rozpuštění vychází z jejich zesílení.

Právě schopnost zadržovat a propouštět vodu je nejdůležitější charakteristikou hydrogelů. První, co hydratuje při kontaktu s vodou, jsou polární hydrofilní skupiny. To vede k formaci primárně vázané vody, což způsobí nabotnutí sítě a obnažení hydrofobní skupiny, které jsou také schopné interagovat s molekulami vody. To vede k tvorbě formace nazývané „sekundárně vázaná voda“. Kombinace primárně a sekundárně vázané vody se sjednocuje pod pojmem „celková vázaná voda“. Hydrogel může přijmout další vodu v důsledku osmotické hnací síly síťových řetězců směrem k nekonečnému zředění. Proti nekonečnému zředění působí kovalentní nebo fyzikální vazby. Tato absorbovaná voda „navíc“ se nazývá „volná voda“. U této vody se předpokládá, že vyplňuje prostor mezi síťovými řetězci a různé póry a dutiny [37]. Hydrogely se většinou vyskytují jako dvou nebo více složkové systémy naplněné vodou. V závislosti na vlastnostech použitých polymerů, jakožto i na povaze a hustotě síťových spojů, mohou tyto struktury v rovnováze obsahovat různá množství vody. Hmotnostní podíl vody v hydrogelu je mnohem vyšší než hmotnostní podíl polymeru [38].

Podle původu můžeme hydrogely dělit do dvou hlavních skupin, na přírodní a syntetické. Přírodní jsou v naprosté většině biokompatibilní a mají minimální stimulaci proti zánětlivým nebo imunologickým reakcím hostitelských tkání. Přírodní hydrogely se zkoumají z důvodu uplatnění zejména jako biomateriály pro tkáňové inženýrství a reparativní medicínu. Syntetické polymery mají dlouhou životnost, vysokou kapacitu absorpce vody a vysokou pevnost gelu. Tyto hydrogely lehce postrádají v odbouratelnosti a funkčnosti. Tyto nedostatky se však částečně mažou modifikací [38].

Dalším hlediskem dělení je polymerní kompozice:

- a) *Homopolymerní hydrogely*, strukturální jednotkou je jeden monomer.
- b) *Kopolymerní hydrogely*, skládají se ze dvou nebo více monomerů, kdy alespoň jeden je hydrofilní.
- c) *Multipolymerní hydrogely*, skládají se z více cross-link polymerních sítí.

Dělení podle elektrického náboje:

- a) neionické (neutrálně nabitě)
- b) ionické (kladně nebo záporně nabitě)
- c) amfoterní
- d) Zwitteronické [38].

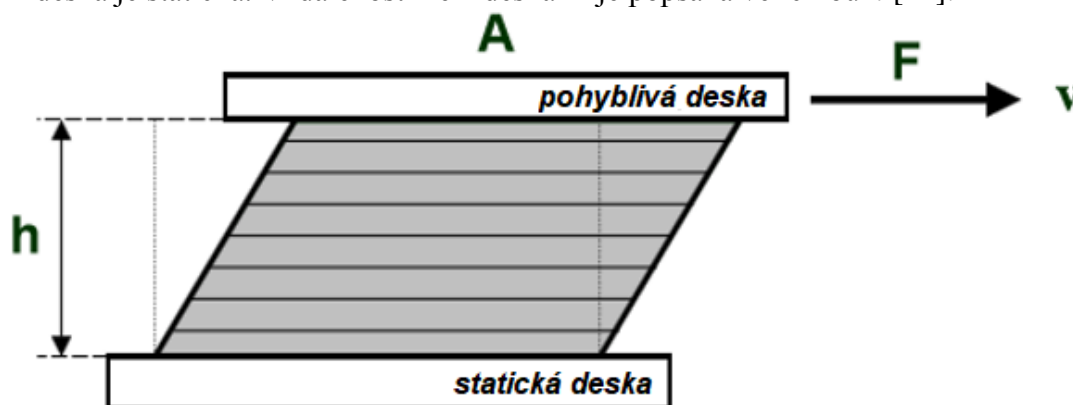
2.3.5 Využití

Gely a samotný proces gelace mají obrovský význam v mnoha odvětvích průmyslu. Jako příklady mohou být uvedeny výroby vláken, lepidel, kontaktních čoček nebo zpracování kůží. Našly uplatnění i v potravinářství, kde se používají jako zahušťovadla. Své místo našly i v kosmetice, a to právě pro svou dobrou roztíratelnost a dobrou vstřebatelnost. Ve zdravotnictví dokáží ochladit poškozené místo a působit protizánětlivě [26, 29].

2.4 Reologie

Reologická společnost (Society of Rheology) definuje reologii jako obor mechaniky studující vlastnosti materiálů, které určují jejich odezvu na mechanickou sílu [39]. Jedná se tedy o studium toku a deformace hmoty, která popisuje vztah mezi silou, deformací a časem. Termín reologie pochází z řeckých slov „rheo“, což se překládá jako tok, a „logia“, tedy věda. Jak ale definice naznačuje, nejedná se pouze o deformaci pevných materiálů nebo toku tekutých materiálů, ale zvláště pak se zabývá chováním komplexních viskoelastických materiálů. Tyto materiály v reakci na sílu, deformaci nebo změnu času vykazují jak vlastnosti pevných látek, tak kapalin. Existuje celá řada reometrických testů, které lze provést na reometru, pro stanovení tokových nebo viskoelastických vlastností materiálu [40].

Nejjednodušším modelem, na kterém se dají ilustrovat reologické vlastnosti je paralelní deskový model (Obr. 7). Tento model se skládá ze dvou desek. Z horní desky, která se pohybuje a má plochu A . Když je uvedena do pohybu silou F , tak se pohybuje rychlostí v . Spodní deska je statická. Vzdálenost mezi deskami je popsána veličinou h [41].



Obr. 7: Model paralelních desek [41].

Reologie je popisována několika veličinami. První z nich je smykové napětí. Při smykovém napětí působí síla F na povrch A (1), aby vyvolala pohyb látky mezi dvěma deskami. Rychlost tohoto pohybu při dané síle je řízen vnitřními silami materiálu.

$$\sigma = \frac{F}{A}, \quad (1)$$

kde σ je smykové napětí, F je síla a A je plocha.

Působením smykového napětí na tok látky mezi deskami vzniká laminární smykový tok. Nejvyšší vrstva se pohybuje maximální rychlostí, zatímco ostatní vrstvy jsou v klidu. Smyková rychlost je definována jako (2):

$$\dot{\gamma} = \frac{v}{h}, \quad (2)$$

kde $\dot{\gamma}$ je smyková rychlost, v je rychlost a h je výška (vzdálenost mezi deskami).

Dynamická viskozita popisuje tvrdost materiálu a tato veličina je definována (3):

$$\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}}, \quad (3)$$

kde η je dynamická viskozita, σ je smykové napětí a $\dot{\gamma}$ smyková rychlost.

Poslední veličinou je kinematická viskozita související s dynamickou viskozitou přes hustotu materiálu (4):

$$\nu = \frac{\eta}{\rho}, \quad (4)$$

kde ν je kinematická viskozita, η je dynamická viskozita a ρ je hustota [40].

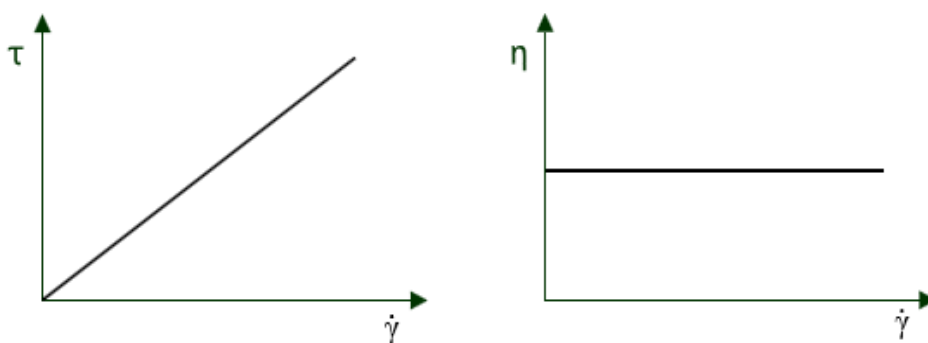
2.4.1 Newtonovské kapaliny

Newtonovské kapaliny jsou pojmenovány po Isaacu Newtonovi, který v roce 1687 publikoval práci, ve které popsal chování tekutin lineárním vztahem mezi smykovým napětím a smykovou rychlostí. Tento vztah (5) se dnes označuje jako Newtonův zákon viskozity:

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma}, \quad (5)$$

kde σ je smykové napětí, η je dynamická viskozita a $\dot{\gamma}$ je smyková rychlost. [42].

Newtonovskou kapalinou, se nazývá taková kapalina, pro kterou se viskozita nemění s rychlostí deformace nebo časem (Obr. 8). Dále tato kapalina nevykazuje žádné elastické vlastnosti. Newtonovská kapalina je teoreticky ideální kapalinou, která prakticky neexistuje, ale v mnoha případech je velmi dobrou reprezentací tekutin za běžných „každodenních“ podmínek [43].

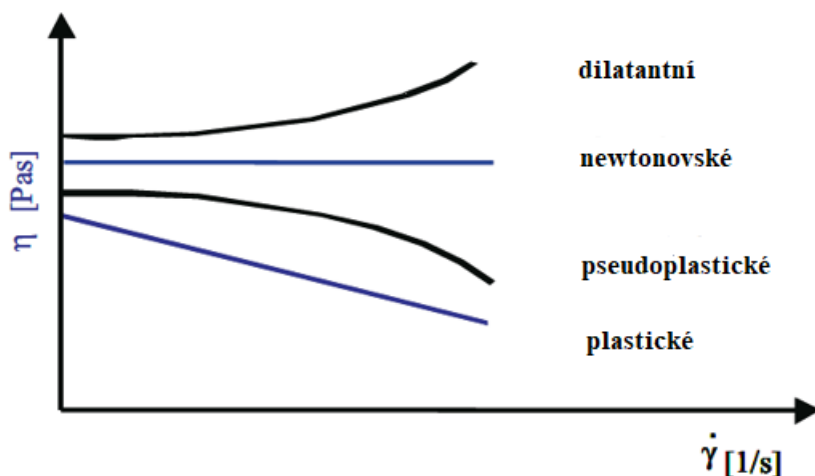


Obr. 8: Toková křivka newtonovského materiálu (vlevo) a viskozitní křivka newtonovského materiálu (vpravo) [41].

2.4.2 Neneutronovské kapaliny

U neneutronovských kapalin je viskozita závislá na deformační rychlosti. Tyto kapaliny se pak dále dělí na dilatantní, plastické a pseudoplastické (Obr. 9).

Látky s pseudoplastickým tokem se vyznačují tím, že jejich viskozita vykazuje podobnost s newtonovskými kapalinami při nízkých smykových rychlostech, ale se zvyšující se smykovou rychlostí dochází k poklesu jejich viskozity. Plastické kapaliny vykazují snížení viskozity se zvyšující se smykovou rychlostí. A přesně naopak tomu je u látek dilatantních, u kterých se viskozita zvyšuje se zvyšující se smykovou rychlostí [44].

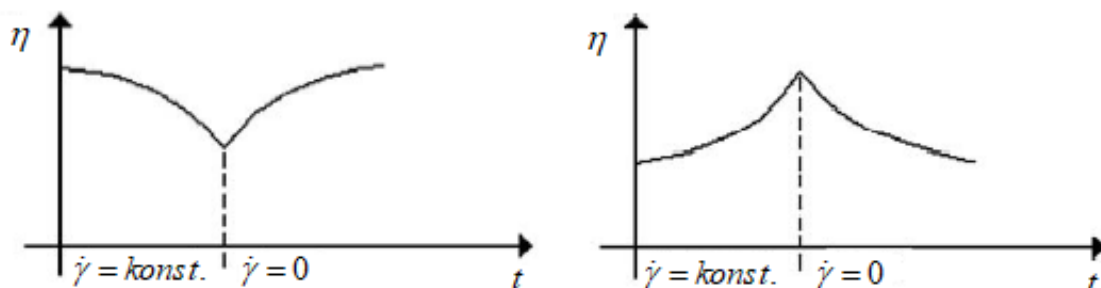


Obr. 9: Různé viskozitní křivky pro newtonovské a neneutronovské kapaliny [44].

Tixotropie a reopexie

Zvláštním případem neneutronovských kapalin jsou tixotropie a reopexie. Nejedná se o funkci smykové rychlosti, ale o funkci smykového času. Tixotropie se vyznačuje jako projev časového působení na namáhání tekutiny. Při studiu tixotropických tekutin, se při konstantní smykové rychlosti zvyšuje zdánlivá viskozita. Tento proces, jak je možné vidět z obrázku (Obr. 10), je reverzibilní.

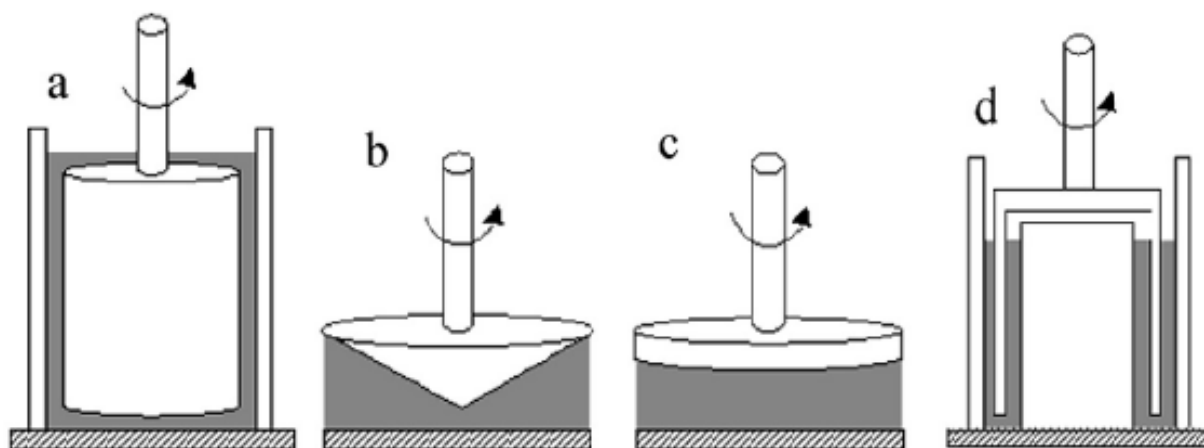
Druhým speciálním případem je reopektický tok. Jedná se o opačný proces k tixotropii. Při stálé smykové rychlosti se zvyšuje zdánlivá viskozita. Tento průběh toku je také reverzibilní a po nějaké době ponechání v klidu, dojde k obnově původní viskozity. Opravdový reopektický tok je velmi vzácný [44].



Obr. 10: (vlevo) tixotropický tok, (vpravo) reopektický tok [44].

2.4.3 Měřící systémy

Rotační reometry využívají řadu různých geometrií, které se střídají pro měření různých typů vzorků. Nejdůležitější veličinou, podle které se geometrie vybírá, je viskozita vzorku. Obecně se rotační reometry skládají ze dvou základních částí. Jedna část je statická a druhá je pohyblivá, přesněji otáčivá. Na obrázku níže (Obr. 11) je možné vidět několik základních typů geometrií. Na obrázku je možné pozorovat dvě válcové geometrie. První je válec–válec (a), která se sestává z vnitřního rotujícího válce se stacionárním vnějším válcem. Druhou je tzv. double-gap (d). Nevýhodou těchto aparatur je jejich čištění, kdy je potřeba rozebrat celou aparaturu. Další geometrií je kužel–deska (b). Tato geometrie se skládá ze stacionární desky a mírně zkoseného kužele. Poslední geometrií je deska–deska (c), která se obdobně skládá ze stacionární desky a na ní přiléhající pohyblivé desky. Tato geometrie je nejvhodnější k měření gelů [45, 46].



Obr. 11: Měřící systémy rotačního reometru, a) válec–válec, b) kužel–deska, c) deska–deska, d) double-gap [45].

2.4.4 Viskoelastické testy

Krajní chování látek, zejména pak gelů, je elastické nebo viskózní. Avšak je zcela běžné, aby se látka svým chováním vyskytovala mezi ideálně elastickou pevnou látkou a ideálně viskózní tekutinou. Takové látky se popisují jako viskoelastické. Vlastnosti těchto látek je možné popsat pomocí dvou modulů. Jedná se o elastický (paměťový) modul, který se označuje jako G' . Elastický modul popisuje schopnost tělesa uchovat elastickou energii, tedy energii, která byla uložena v materiálu během napěťového cyklu. Druhým modulem je viskózní modul, který souvisí s nevratnou změnou deformační energie a označuje se G'' . Oba tyto moduly se udávají v jednotce Pa. Dohromady tyto moduly tvoří reálnou část komplexního modulu G^* (6). Ten podává informace o mechanické odolnosti vzorku.

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

Veličinou úzce související s elastickým a viskózním modulem je ztrátový úhel (δ) Ten vyjadřuje poměr mezi elastickým a viskózním modulem podle vztahu níže (7).

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

Velikost ztrátového úhlu lze použít k charakterizaci chování zkoumané látky. V případě gelových látek je možné díky ztrátovému úhlu rozhodnout o tom, jestli převažuje elastická nebo viskózní složka. Při velikosti ztrátového úhlu 45° vykazuje látka viskoelastické chování a nepřevažuje žádná složka. Pokud je ztrátový úhel nižší než 45° , tak se látka chová elasticky a převažuje elastická složka. Pokud je ztrátový úhel naopak vyšší než 45° , znamená to, že látka vykazuje viskózní chování a převažuje viskózní složka [47, 48].

Při popisu reologického chování látek hraje poměrně důležitou roli také bod překřížení modulů. Měřením elastického a viskózního modulu v závislosti na frekvenci oscilací lze stanovit bod překřížení. Ten se v literatuře objevuje pod pojmem „cross-over point“. Jak je z popisu jasné, jedná se o body, kdy dochází k protnutí křivky elastického modulu a křivky viskózního modulu. V tomto bodě jsou oba moduly v rovnováze ($G'' = G'$). Obecně platí, že při nízké frekvenci oscilací jsou hodnoty modulů nízké a projevuje se spíše viskózní charakter ($G'' > G'$). Při vyšších hodnotách frekvencí oscilací je tomu přesně naopak a hodnoty viskózního modulu převažují ($G'' < G'$) [47, 48].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Studium fázově separovaných hydrogelů tvořených interakcí nabitého polyelektrolytu a opačně nabitého tenzidu započala již v 90. letech minulého století, když Kyrre Thalberg a Björn Lindman publikovali první práce na toto téma [49, 50]. Od té doby se toto téma rozšířilo o mnoho publikací právě ze skupiny BioKol sídlící na Fakultě chemické, Vysokého učení technického v Brně. Zejména velká část závěrečných prací se zabývá tímto tématem [51–55].

3.1 Interakce hyaluronan–tenzid

Tématem zabývajícím se interakcí zejména hyaluronanu a tenzidů vyvolávající tvorbu gelových systémů se zabývá, jak již bylo uvedeno, právě skupina BioKol. V této kapitole budou zmíněny články této skupiny vydané za posledních pár let.

Jedním z článků vydaných právě touto skupinou od *T. Vernerové a M. Pekaře* bylo studium reologických vlastností gelů vytvořených interakcí hyaluronanu a kladně nabitých tenzidů nad jejich hodnotou CMC. Závěrem jejich práce bylo, že všechny zkoumané gely vykazovaly viskoelastické chování, které mohlo být modifikováno, jak dobou skladování, tak molekulovou hmotností hyaluronanu, tak jeho počátečními koncentracemi. Dále nebyl nalezen žádný vztah mezi reologickými vlastnostmi a poměrem nábojů. Reologické vlastnosti vytvořených gelů byly citlivé na strukturní vlastnosti molekul tenzidů [56].

Další prací této skupiny byl článek *T. Pilgrové a spol.*, ve kterém byla studována interakce hyaluronanu s opačně nabitým tenzidem ve velmi zředěných roztocích. Výsledky byly získány využitím fluorescenční spektroskopie a dynamického rozptylu světla. Využití fluorescenční sondy odhalilo tvorbu micelárních struktur hyaluronanu v homogenních systémech významně pod hodnotou standardní kritické micelární koncentraci tenzidu. Pro nízké hodnoty zředěné oblasti byl vytvořen fázový diagram, což odhalilo, že koncentrace hyaluronanu byla hlavním parametrem kontrolujícím fázové chování. Kromě těchto zjištění byla studována i stabilita agregátů vytvořených interakcí hyaluronan–tenzid. I velmi malá změna podmínek způsobovala změnu ve struktuře agregátů [57].

Kalorimetrie, turbidimetrie, potenciometrie a konduktometrie interakce hyaluronanu s kladně nabitými tenzidy byla dalším počinem studovaným laboratoří biokoloidů VUT ve spolupráci s týmem univerzity v Lublani, pod vedením *J. Krouské*. Titrační kalorimetrií byla studována termodynamická formace micel kladně nabitých surfaktantů (CTAB a TTAB) s a bez přidaného hyaluronanu. Kalorimetricky a konduktometricky byla studována makroskopická fázová separace. Ta nastávala v případě, že náboje tenzidu a hyaluronanu jsou v rovnováze. Naopak turbidimetrické a potenciometrické měření dokazovaly interakci hyaluronanu a tenzidu již při velmi nízkých koncentracích tenzidu. Zajímavým zjištěním bylo, že hydrofobní efekty pravděpodobně hrají roli při interakci hyaluronanu s tenzidy [58].

Ve spolupráci s několika pracovišti vznikla práce pod vedením *P. Sauerové*. Jejím cílem bylo zjistit, jak kyselina hyaluronová ovlivňuje cytotoxicitu kationaktivních tenzidů. Pro studium tohoto problému bylo využito interakce výše zmíněného hyaluronanu, jakožto záporně nabitého polyelektrolytu, a kladně nabitých tenzidů CTAB a Septonex. Cytotoxicita byla studována na lidských osteoblastech. Charakterizace vytvořených komplexů proběhla nejprve pomocí distribuce velikostí částic a jejich zeta potenciálu. Obrázky buněk byly získávány pomocí světelného mikroskopu. Data získána z tohoto výzkumu dokázaly, že jak

komplexy CTAB–Hya, tak Septonex–Hya snižují toxicitu obou tenzidů ve všech testovaných koncentracích. Výsledky také vyzdvihují fetální bovinní sérum. Buňky při absenci séra byly více citlivé na toxicitu tenzidů. Autoři také uvádějí aplikovatelnost těchto systémů jako nosičových systémů nebo v kosmetickém průmyslu [59].

3.2 Hydrogely s hyaluronanovým základem

Jak je zřejmé, tak právě hyaluronan je v dnešní době, velmi populární chemikálií. Právě proto se obrovské množství výzkumných skupin zabývá přípravou a modifikací všelijakých hyaluronanových hydrogelů, s cílem využití zejména ve zdravotnictví.

Speciálním případem hydrogelů byl výzkum *J. Mourycové a spol.*, který se zaměřil na charakterizaci hyaluronan–aminojílových hydrogelů. Jednalo se o syntézu anorganicko-organických hydrogelů. Autoři v tomto článku popsali jednoduchý postup přípravy. Tento viskoelastický materiál byl vytvořen elektrostatickými interakcemi a zesílením hyaluronanu v přítomnosti exfoliovaného organojílu. Takový to materiál, gelovitěho chování, byl schopný absorbovat velké množství vody. To dále potvrdilo i reologické měření, které odhalilo významnou elastickou odezvu v celém rozsahu měřené deformační frekvence. Autoři dále uvádí, že hyaluronanové hydrogely s aminojílem vykazují vyšší mechanickou pevnost než u hydrogelů založených na polyvinylpyrrolidinu a aminojílu. Poznatky získané v této studii by mohly vést k rozvoji nosičových a enkapsulačních systémů využitelných jak v medicíně, tak v kosmetickém průmyslu [60].

Tématem práce *Ralucy Vulpe a spol.* byla příprava a reologické popsání hydrogelů připravených z kolagenu, hyaluronanu a sericinu. Reologický popis byl doplněn i o data z elektronového mikroskopu. Pro reologickou charakteristiku byla podle viskozity vzorku použita geometrie válec–válec a kužel–válec. Ukázalo se, že pochopení molekulární dynamiky a kinetiky síťovacích procesů je velmi důležité pro práci s těmito hydrogely. Z viskozitní analýzy vyšlo najevo, že sericin se choval jako newtonovská kapalina, na rozdíl od kolagenu, hyaluroanu a všem směsím, které se chovaly neneutronovsky. Dalšími získanými závěry bylo to, že kolagen se choval poměrně elasticky na rozdíl od hyaluronanu, který se choval více viskoelasticky. Přidání kolagenu nebo sericinu vedlo k zvětšení elastického modulu během procesu síťování. Kromě reologických měření bylo studováno i botnání a degradace připravených hydrogelů. Nejvyšší stupeň nabotnání byl zjištěn pro vzorky pouze s hyaluronanem. Nejnížší dosahovaly kolagenové vzorky. Elektronovou mikroskopií bylo rozhodnuto, že nejkompaktnějšími byly kolagenové gely [61].

Kmenové buňky dříve trpěly špatnou integrací a špatnou schopností přežít. Tento problém se snažil vyřešit *Brian G. Ballios s jeho týmem*. A to hyaluronano–methylcelulázovými hydrogely, které byly určeny pro distribuci, přežití a integraci kmenových buněk po transplantaci v centrálním nervovém systému, aplikovatelné v injektovatelné podobě. Studovaný hydrogel měl díky hyaluronano–methylcelulázové struktuře ideální vlastnosti pro dosažení uniformnější distribuce kmenových buněk, než tomu bylo doposud. V těchto hydrogelech přežívaly buňky mnohem lépe než v solném roztoku [62].

Studiu směsného hyalurano–alginátového hydrogelu se zabýval *O. Catanzano a spol.* Zaměřili se na využití těchto hydrogelů při hojení ran. Takto připravené hydrogely byly

homogenní a bylo velmi jednoduché s nimi zacházet. Díky reologickým měřením bylo možné pochopit jejich síťovací proces, a tak bylo možné u těchto diskovitých hydrogelů popsat reologické vlastnosti. Přítomnost hyaluronanu zpomalovala gelaci, ale neovlivňovala vlastnosti hydrogelu. Podle výsledků získaných autory se tyto hydrogely jeví jako velmi nadějným nástrojem pro hojení ran [63].

3.3 Polysacharidové hydrogely

Kromě výzkumu hyaluronanových hydrogelů existuje řada výzkumných skupin zaměřujících se na výzkum hydrogelů na bázi jiných polysacharidů. Velkým odvětvím v tomto směru jsou chitinové a chitosanové hydrogely.

Těm se například zabýval *Tapan Kumar Giri a spol.* Cílem jejich práce bylo prozkoumat možnosti těchto hydrogelů v tkáňovém inženýrství a jako nosičů léčiv [64]. Tvorbou chitosanových hydrogelů s SDS se také zabýval *Sudipta Chatterjee* [65]. *S. Deepthi a spol.* se stejně jako ostatní snažili připravit chitinové hydrogely, které by našly uplatnění zejména v tkáňovém inženýrství [66]. Studium chitosanových gelů se zabývala i norská výzkumná skupina vedena *Julii Nilsen-Nygaard* [67]. Stejným tématem se zabývali *Masubon Thongam a D. Julian McClements* [68].

Kromě chitosanových hydrogelů se výzkumné skupiny zaměřují i na dextran. Charakterizací agregátů připravených z dextranu, se zabývala *Marieta Nichifor a spol.* [69]. *Hamed Salimi-Kenari a spol.* se zabývali závislostí délky řetězce a síťovacího činidla na reologických vlastnostech dextranových hydrogelů [70]. Syntézou a přípravou biodegradabilních dextranových hydrogelů se také zabývali *Mona Alibolandi a spol.* [71].

3.4 Studium pH ve složitějších systémech

Studium pH v komplexních systémech je poměrně složitý problém, který má své úskalí. Hlavním problémem je fakt, že na rozdíl od roztoku, se hodnota pH může lišit v různých částech obsahu a vůbec vpravit elektrodu do některého z komplexních systémů se může jevit jako poměrně obtížný úkol. U některých systémů tento problém řeší vpichová elektroda, ale u jiných může být problém s penetrací povrchu nebo získáním objektivního měření po celém obsahu. Dalším řešením tohoto problému je indikace pH pomocí barevných indikátorů, které mění své zbarvení podle vyskytujícího se pH. Indikátory takto dokáží barevně označit různé oblasti o různých hodnotách pH. Tyto indikátory je třeba vpravit do systému nebo je chemicky inkorporovat. Indikace pomocí indikátorů se ve spojení s hydrogely využívá jako hydrogelových indikátorů. Ty využívají propustnosti hydrogelové matrice a jeho probarvení. U některých hydrogelů lze změnu jeho pH vypořádat i změnou jeho struktury.

Například *Li Liu a spol.* byli schopni připravit hydrogelový obvaz na rány, který byl schopný monitorovat změnu pH hodnot. V této práci použili fenolovou červeň jako pH indikátor, který byl dále modifikován methakrylátem, aby byl schopný kopolymerizace s algináto-polyakrylamidovou hydrogelovou maticí. Změny hodnoty pH byly indikovány barevnými změnami hydrogelu. Ten přecházel od žluté (pH 5, 6 a 7) k oranžové (pH 7,4 a 8) až do červené (pH 9) [72].

Hydrogely s inkorporovanými indikátory prezentovali ve své práci *Yu-Kyoung a Sang-Yup Lee*. Připravili alginátový hydrogel, do kterého dokázali inkorporovat indikátor

pyrokatechinovou violet'. Hydrogel v tomto případě fungoval jako matrice, která držela indikátor uvnitř. Indikátor poté reagoval na změny pH a indikoval to svým zbarvením [73].

Dalším, kdo se zabýval enkapsulací indikátorů do gelové matrice byl **Farid R. Zaggout a spol.** Těm se podařilo do gelu enkapsulovat indikátor methylořanž [74]. Podobným tématem se zabýval i **Issa M. El-Nahhal a spol.**, kteří do gelové matrice ukotvili indikátor fenolovou červen [75].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Chemikálie

4.1.1 Chemikálie pro tvorbu hydrogelů

Septonex CAS: 10567-02-9, GNB chem a.s., šarže 511SEP003

Hyaluronan M_w : 1540 kDa, CPN spol. s.r.o., šarže: 181214-4D1

4.1.2 Chemikálie na přípravu pufrů

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát CAS: 10039-32-4, Penta s.r.o.,
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ šarže 2105180516

Dihydrogenfosforečnan sodný dihydrát CAS: 13472-35-0, Lachema a.s.,
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ šarže 310491101

Kyselina chlorovodíková CAS: 7647-01-0, Lach-Ner s.r.o.,
HCl šarže PP/2014/05946

Kyselina citrónová monohydrát CAS: 5949-29-1, Penta s.r.o.,
 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ šarže 1907070714

Tetraboritan sodný dekahydrát CAS: 1303-96-4, Lachema a.s.,
 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ šarže 206270379

Chlorid sodný CAS: 7647-14-5, Penta s.r.o.,
NaCl šarže: 1903200314

4.1.3 Indikátory

Methylčerveně CAS: 493-52-7, Lachema a.s.,
 $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ šarže 301401079

Methyloranž CAS: 547-58-0, Lachema a.s.,
 $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{NaO}_3\text{S}$ šarže 479810277

Bromthymolová modř CAS: 76-59-5, Lachema a.s.,
 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ šarže 686985

Fenolftalein CAS: 77-09-8, Lachema a.s.,
 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ šarže 4671536

4.1.4 Barviva

Oil Red O CAS: 1320-06-5, Sigma-Aldrich, spol.
 $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$ s r.o., šarže 1000759015

4.2 Přístroje

Analytické váhy	Ohaus Pioneer, model PA214
Váhy	Denver Instruments, model S-603
Reometr	TA Instruments, AR-G2 Rheometer
Vortex	IKA, MS2 Minishaker
pH metr	Greisinger, GMH 5530
Třepačka	Heidolph, Vibramax 100
Termogravimetrický analyzátor	TA Instruments, Q5000

4.3 Pracovní postup

4.3.1 Příprava pufrů

Pufry byly připravovány pro 6 různých hodnot pH. Pro hodnoty 4, 5, 6, 7, 8 a 9. Pufry byly připravovány do zásobních láhví. Pro pufr o pH 4 bylo do 100 ml zásobní láhve napipetováno 30,85 ml 0,1 M kyseliny citrónové, 19,15 ml 0,2 M Na_2HPO_4 a poté byla láhev doplněna 50 ml deionizované vody. Pro přípravu pufru o hodnotě pH 5 bylo do 100 ml zásobní láhve napipetováno 24,3 ml 0,1 M kyseliny citrónové a 25,7 ml 0,2 M Na_2HPO_4 , poté byla láhev doplněna 50 ml deionizované vody. Pro hodnotu pH 6 byl připravován pufr do 100 ml zásobní láhve napipetováním 18,3 ml 0,1 M kyseliny citrónové a 31,7 ml 0,2 M Na_2HPO_4 . Tato láhev byla poté doplněna 50 ml deionizované vody. Pro pufr o pH 7 bylo do 100 ml zásobní láhve napipetováno 6,5 ml 0,1 M kyseliny citrónové, 43,6 ml 0,2 M Na_2HPO_4 a 49,9 ml deionizované vody. Pro přípravu pufru o pH 8 bylo do 200 ml zásobní láhve napipetováno 5,3 ml 0,1 M NaH_2PO_4 a 94,7 ml 0,1 M Na_2HPO_4 . Láhev byla doplněna 100 ml deionizované vody. Do 200 ml zásobní láhve pro přípravu pufru o pH 9 bylo napipetováno 100 ml 0,025 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 9,2 ml HCl, láhev byla doplněna deionizovanou vodou. Hodnoty pH připravených pufrů byly kontrolovány pH metrem.

4.3.2 Příprava hydrogelů

Gely byly připravovány smícháním práškových směsí a následným zalitím disperzního prostředí. Pro každý vytvořeny gel se vycházelo z kapalně formy 2 % Hya (1540 kDa) a 200 mM Septonexu. Vždy bylo do průhledné vialky naváženo 60 mg Hya, 253,5 mg Septonexu. Tato směs byla poté zalita 6 ml požadovaného pufru. Obsah vialky byl za účelem důkladného promíchání vložen na třepačku Vortex a krátce promíchán. Takto připravený hydrogel byl po promíchání ponechán v klidu minimálně 24 hodin. Všem připraveným hydrogelům byla pomocí NaCl upravena iontová síla na stejnou hodnotu.

4.3.3 Příprava hydrogelů s indikovanou hodnotou pH

Gely byly připraveny stejně jako v předchozí kapitole (4.3.2). Po 24 hodinách, kdy byly hydrogely ponechány v klidu, byl odlit supernatant. K takto připraveným hydrogelům bylo přidáno malé množství indikátoru. Indikátory byly vybrány pro oblasti pH, při kterých byly hydrogely připraveny. Pro pH 4 byl použit methyloranž, pro pH 5 a 6 methylčerveň, pro pH 7 a 8 bromthymolová modř a pro pH 9 fenolftalein. Indikátory byly přidávány v práškové formě. Po přidání indikátorů byly hydrogely pozorovány a fotografovány.

Po probarvení povrchu byly hydrogely přeneseny na Petriho misky a rozřezány, aby bylo možné pozorovat vnitřní prostředí hydrogelu.

4.3.4 Výměna disperzního prostředí

Hydrogely pro tento experiment byly připraveny stejně jako v kapitole 4.3.2. Vzorkům byl po vytvoření gelu (po 24 hodinách) odlit supernatant. Po odlití supernatantu bylo k hydrogelům přidáno disperzní prostředí o jiném pH. Ke vzorkům původně připraveným při pH 4, 5 a 6 bylo přidáno 6 ml disperzního prostředí o hodnotě pH 9. K těmto vzorkům bylo také přidáno malé množství práškové směsi fenolftaleinového indikátoru. Ke vzorkům původně připraveným při pH 7, 8 a 9 bylo přidáno 6 ml disperzního prostředí o hodnotě pH 4. K těmto vzorkům bylo přidáno malé množství práškového indikátoru methylované. Po dalších 24 hodinách bylo na Petriho misce pozorováno probarvení a struktura hydrogelů.

4.3.5 Difúze v květech

Pro tento experiment bylo připraveno 6 hydrogelů o 6 různých hodnotách pH, stejným postupem jako v kapitole 4.3.2. Po 24 hodinách, kdy byly tyto hydrogely ponechány v klidu, jim bylo opět odlito disperzní prostředí. Tyto hydrogely byly následně vměstnány do malých květ, které se skládaly ze dvou částí. Ze širší části, která měla objem 1,2 ml a z užší části, která měla objem 1 ml. Hydrogely byly natlačeny do užší části. Poté bylo ke každému hydrogelu přidáno malé množství indikátorů (stejně jako v kapitole 4.3.3). Po přidání indikátorů byl vchod do vialky zapečetěn parafilmem. Po přípravě tohoto experimentu byly vzorky pozorovány a fotografovány po dobu třech týdnů.



Obr. 12: Květa skládající se ze širší a užší části.

4.3.6 Barvení hydrogelů olejovou červení

Vzorky pro tento experiment byly připraveny stejně jako v kapitole 4.3.2 s tím rozdílem, že do práškové směsi všech vzorků bylo přidáno malé množství olejové červeně O. Až po přidání tohoto barviva byly práškové směsi zality disperzními prostředími o různých hodnotách pH. Hydrogely byly ponechány 24 hodin v klidu. Poté byly fotografovány a popsány.

Dalším krokem experimentu bylo odlití disperzního prostředí a přidání prostředí o jiném pH. Vzorkům připraveným při pH 4, 5 a 6 bylo přidáno 6 ml pufru o hodnotě pH 9. Vzorkům

připraveným při pH 7, 8 a 9 bylo přidáno 6 ml pufru o hodnotě pH 4. Tyto vzorky byly opět fotografovány a popsány.

4.3.7 Reologie gelů

Pro studium reologie byly připraveny gely o hodnotách pH 4, 5, 6, 7, 8 a 9 (příprava podle kapitoly 4.3.2), a dalších 6 hydrogelů s vyměněnou hodnotou pH disperzního prostředí (příprava stejně jako v kapitole 4.3.4, jen s tím rozdílem, že nebyly použity žádné indikátory). Tyto gely byly měřeny na reometru typu AR G2 od firmy TA Instruments. Pro měření byla použita geometrie typu deska–deska s průměrem horní rotační ocelové desky 8 mm. Po nadávkování vzorku do přístroje byl přikápnut ke vzorku silikonový olej, aby se zabránilo vysychání vzorku po dobu měření. Před každým měřením byl zaveden krok relaxace, který obnášel, po sjetí senzoru do měřicí polohy, ponechání vzorku k relaxaci po dobu 5 minut při nastavené teplotě, tedy 25 °C. Vzdálenost senzoru od spodní stacionární desky byla 500 μm. Pro účely této diplomové práce byly provedeny amplitudové testy, frekvenční testy a tokové testy.

Prvně byl proveden deformační amplitudový test, díky kterému bylo možné zjistit lineární viskoelastickou oblast, tzv. LVO. Tato oblast nám říká, kde jsou moduly nezávislé na amplitudě deformace. Zjišťovala se závislost viskózního a elastického modulu při konstantní hodnotě frekvence na měnící se amplitudě deformace. Dále byly měřeny frekvenční testy, kterými byly získány závislosti elastických a viskózních modulů na frekvenci oscilací. Tato měření probíhala při konstantní hodnotě amplitudy deformace a měnící se frekvenci oscilací senzoru. Podrobný popis parametrů použitých pro měření reologických vlastností je uveden v *tabulce 1*, *tabulce 2* a *tabulce 3*.

Tabulka 1: Parametry pro amplitudové testy.

Amplitudový test	
Teplota	25 °C
Čas relaxace	300 s
Frekvence oscilací	1 Hz (6,283 rad·s ⁻¹)
Amplituda deformace	0,01–1000 %
Body na dekádu	6

Tabulka 2: Parametry pro frekvenční testy.

Frekvenční test	
Teplota	25 °C
Čas relaxace	300 s
Amplitudová deformace	1 %
Frekvence oscilací	0,01–100 Hz (0,06283–628,3 rad·s ⁻¹)
Body na dekádu	6

Tabulka 3: Parametry pro tokové testy.

Tokový test	
Teplota	25 °C
Čas relaxace	300 s
Smyková rychlost	0,01–1000 s ⁻¹
Body na dekádu	7
Max. rovnovážný čas	60 s
Doba na vzorek	10 s
Tolerance	5 %
Počet bodů v rámci tolerance	3

Vyhodnocení naměřených hodnot bylo provedeno v softwaru od firmy TA Instruments Rheology Advantage a MS Excel.

4.3.8 Termogravimetrie

Pro získání více informací o matrici hydrogelu, bylo studováno množství vody uvnitř hydrogelů. Pro tento experiment bylo připraveno 12 hydrogelů. Šest hydrogelů zastávající původní pH řadu, tedy hydrogely o pH hodnotách 4, 5, 6, 7, 8 a 9 (příprava podle kapitoly 4.3.2), a dalších šest hydrogelů, které měly vyměněnou hodnotu pH disperzního prostředí (příprava podle kapitoly 4.3.4, bez spektroskopických indikátorů). Měření probíhalo na přístroji Q5000 od TA Instruments.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato kapitola se zabývá výsledky získanými při studiu vlivu pH na tvorbu a vlastnosti fyzikálně síťovaných hydrogelů vytvořených na bázi záporně nabitého polyelektrolytu a kladně nabitého tenzidu. Experimenty jsou dále děleny do podkapitol podrobněji probírající získané výsledky.

První částí této práce jsou experimenty, které jsou zaměřené na vizuální charakterizaci a studium vytvořených hydrogelů pomocí spektroskopických indikátorů a hydrofobního barviva, olejové červeně O. Do této části patří experimenty popisující vzhled a vlastnosti vytvářených hydrogelů, hodnoty pH gelů, zabarvení hydrogelů, prostup látek skrze hydrogely a změna struktury a vlastnosti hydrogelů po změně pH prostředí.

Druhá část je věnována studiu reologických vlastností jak původní pH řady, tak i hydrogelům s vyměněnými hodnotami pH.

Poslední část je věnována termogravimetrii a množství absorbované vody v hydrogelech.

5.1 Vizuální charakterizace hydrogelů

Tato práce navazuje na mou bakalářskou práci, která byla zaměřena na studium podmínek na tvorbu fázově separovaných hydrogelů. Stejně jako v této práci se pracovalo s hyaluronanem, ale na místo Septonexu se používal tenzid CTAB [76]. Z výsledků této bakalářské práce a z rešerše zabývající se pH hodnotami v lidském těle, bylo rozhodnuto, že se bude tato práce zabývat rozsahem pH 4–9.

V této kapitole byla studována tvorba gelů a jejich vlastností v závislosti na pH prostředí, ve kterém byly vytvořeny. Studium těchto vlastností probíhalo vizuálním pozorováním. Dále byly tyto poznatky porovnávány s již zmíněnou bakalářskou prací.

Ke tvorbě fázově separovaného hydrogelu došlo ve všech případech. Avšak na první pohled (*Obr. 13*) bylo ihned zřejmé, že vzorek vytvořený při pH 9 se liší oproti ostatním. Všechny vytvořené gely měly sníženou průhlednost a byly mírně zakalené. Naopak přilnavost k povrchu byla pozorována u gelů vytvořených o hodnotách pH 4–8. Hydrogely vytvořené při pH 9 ztrácely schopnost přilnavosti k povrchu, což bylo způsobeno kohezními silami, které byly silnější než síly adhezní. Manipulace se vzorkem prozradila, že vzorky připravené při různých hodnotách pH, mají různé mechanické vlastnosti. Například vzorek připravený při pH 9 byl mnohem tužší a odolnější vůči krájení než ostatní vzorky. To stejné bylo pozorováno i v předchozí bakalářské práci. Pro vysvětlení mechanických vlastností byla provedena reologická měření (kapitola 5.6). Dále si je možné povšimnout, že hydrogel nevznikal pro všechny vzorky ve stejném objemu. I z této fotky je zřejmé, že například při pH 7 (vzorek 4) má vzorek větší objem gelu než například vzorek při pH 4 a 5 (vzorek 1 a 2). Proto byla provedena termogravimetrická analýza, která měla osvětlit množství absorbovaného roztoku pro všechny vzorky (kapitola 5.7).

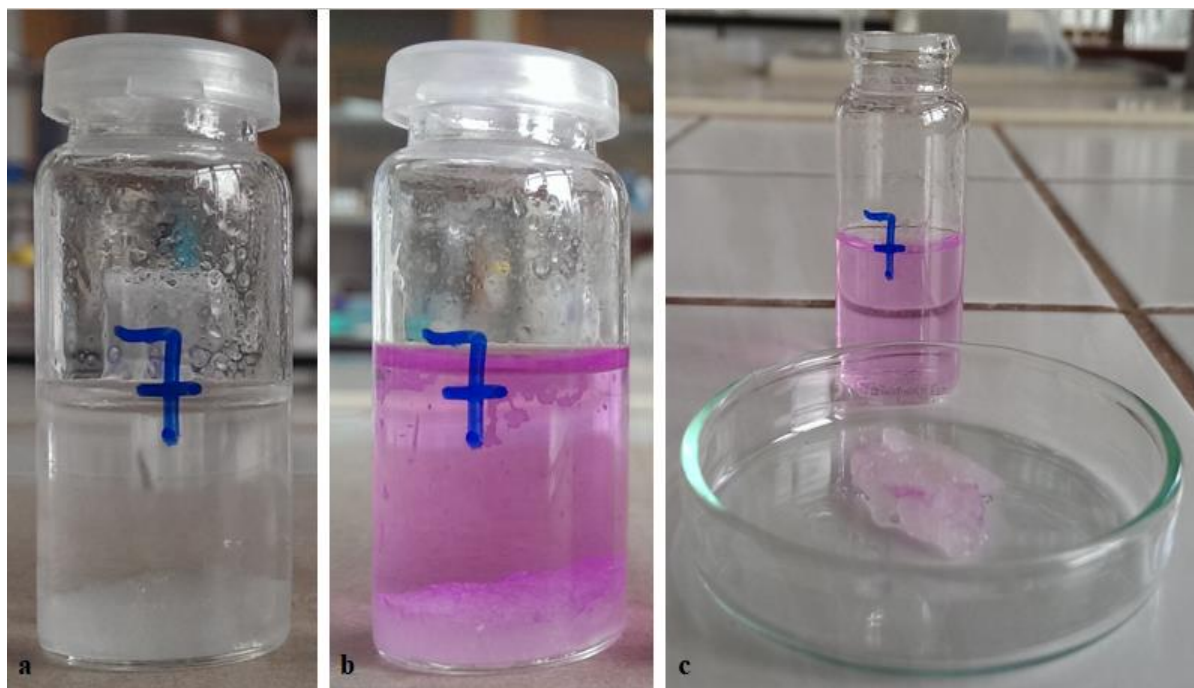


Obr. 13: Gely vytvořené při různé hodnotě pH, 1 (pH 4), 2 (pH 5), 3 (pH 6), 4 (pH 7), 5 (pH 8), 6 (pH 9).

5.2 Testy výměny disperzního prostředí

V případě využití těchto hydrogelů ve zdravotnictví, jako např. nosičových systémů v lidském těle, se dá očekávat, že by tyto hydrogely byly vystaveny různým hodnotám pH. Proto budou v této kapitole probrány testy navozující podmínky, kterým by hydrogely mohly podstoupit v případě, že by byly aplikovány na místo, kde by se hodnota pH lišila od hodnoty pH, při které byly připraveny nebo skladovány.

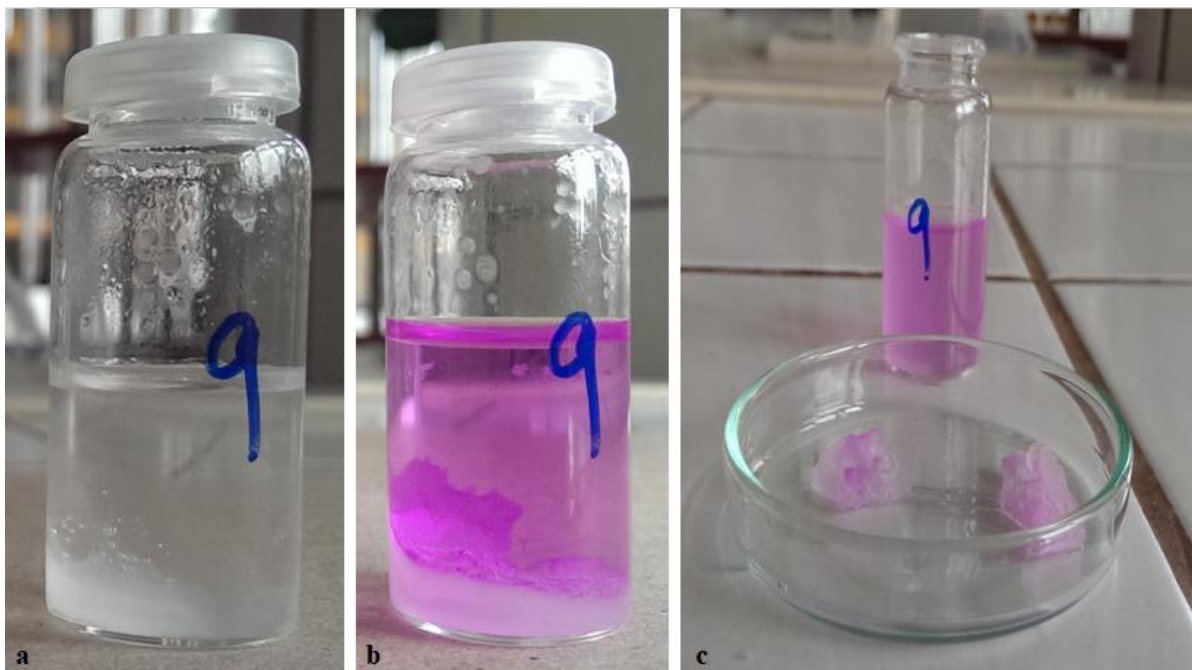
Hydrogely připravované pro tento experiment byly rozděleny na dvě skupiny a každé skupině bylo vyměněno pH na krajové studované hodnoty. U hydrogelů připravených při pH 4, 5 a 6 se po výměně disperzního prostředí (za prostředí o pH 9) vyskytoval indikátor fenolftalein, a tak se předpokládalo, že dojde k růžovému až fialovému zbarvení jak disperzního roztoku, tak hydrogelu. Jak je možné vidět z prvních tří obrázků v této kapitole (*Obr. 14, Obr. 15, Obr. 16*), tak všechny vzorky obsahující indikátor fenolftalein, se po výměně disperzního prostředí, opravdu zbarvily fialově. To znamená, že hydrogel vyměnil své vnitřní prostředí za nově přidaný pufr. Kromě zbarvení vnitřního prostředí je z fotek zřejmé, že se i samotný hydrogel do určité míry zbarvil sám fialově. To potvrzuje i to, že se změnila mechanická vlastnosti hydrogelu. Z původně velmi měkkých a snadno krájitelných hydrogelů, se staly hydrogely velmi pevnými a kompaktními. Z obrázků, kde je zaznamenán hydrogel po vyndání na Petriho misku, je zřejmé, že hydrogely jsou zbarveny velmi lehce. To by mohlo být vysvětleno tím, že přidaný indikátor měl problémy stát se součástí vnitřního prostředí hydrogelu a prostoupit do středu gelu. Ten nejprve zbarvil přidaný pufr a až poté se dostával do vnitřního prostředí hydrogelu a z převážné části ho nejprve barvil z vnějšího prostředí. Obtížné probarvení vnitřních prostor hydrogelu může být způsobeno strukturou gelu, u které se předpokládá, že uzlové body v gelové síti jsou velmi blízko sebe a dělají tak vstup indikátoru dovnitř hydrogelu obtížnějším. Nedokonalá probarvenost vnitřních prostor hydrogelu může být vysvětlena také tím, že ne všechny oblasti hydrogelu měly hodnotu pH 9. To je také spojeno se sníženou prostupností pro roztok kvůli struktuře hydrogelu.



Obr. 14: a) hydrogel připravený při pH 4, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 9 a obarveno fenolftaleinem, c) hydrogel obarven fenolftaleinem.

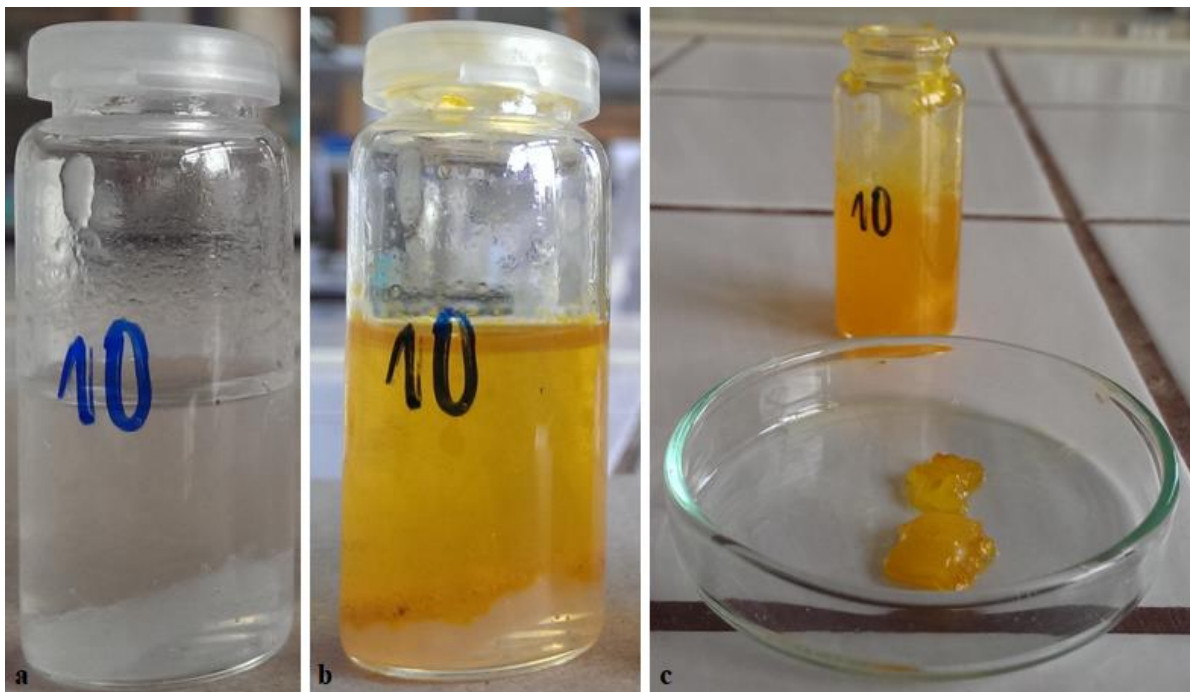


Obr. 15: a) hydrogel připravený při pH 5, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 9 a obarveno fenolftaleinem, c) hydrogel obarvený fenolftaleinem.



Obr. 16: a) hydrogel připravený při pH 6, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 9 a obarveno fenolftaleinem, c) hydrogel obarvený fenolftaleinem.

Druhou studovanou skupinou byly hydrogely připravené při pH 7, 8 a 9, s přidaným indikátorem methylovanžem. Jak již bylo zmíněno v kapitole pro přípravu tohoto experimentu (kapitola 4.3.4), tak po odlití jejich původního disperzního prostředí, byl do jejich vialek přidán pufr o hodnotě pH 4, s malým množstvím methylovanže. Jak je opět zřejmé z fotek pod tímto textem (*Obr. 17, Obr. 18, Obr. 19*), tak se nejprve zbarvil přidáný roztok, indikující jeho pH, oranžově. A až po obarvení disperzního prostředí došlo k výměně prostředí uvnitř gelu. Po přenesení hydrogelů na Petriho misky, bylo ihned zřejmé, že hydrogely byly zbarveny mnohem sytěji, než-li tomu bylo u předchozí skupiny vzorků. Jelikož se také změnila mechanická vlastnosti hydrogelů v opačném směru oproti předchozí skupině, tedy na hydrogely velmi měkké a bez odolnosti ke krájení, tak práškový indikátor neměl problém dostat se do samotného hydrogelu a mnohem jednodušeji jej barvit „zevnitř“. Tyto testy jsou tedy důkazem, že hydrogel reaguje na změnu pH změnou mechanických vlastností. Do jaké míry se hydrogely po přechodu do prostředí o jiné hodnotě pH podobají původním hydrogelům a vzorkům připraveným při pH, na které byly změněny, bylo zkoumáno pomocí reologických měření (kapitola 5.6).



Obr. 17: a) hydrogel připravený při pH 7, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 4 a obarveno methyloranžem, c) hydrogel obarvený methyloranžem.



Obr. 18: a) hydrogel připravený při pH 8, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 4 a obarveno methyloranžem, c) hydrogel obarvený methyloranžem.



Obr. 19: a) hydrogel připravený při pH 9, b) disperzní prostředí vyměněno za pufr o pH 4 a obarveno methyloranžem, c) hydrogel obarvený methyloranžem.

5.3 Probarvení gelů indikátory

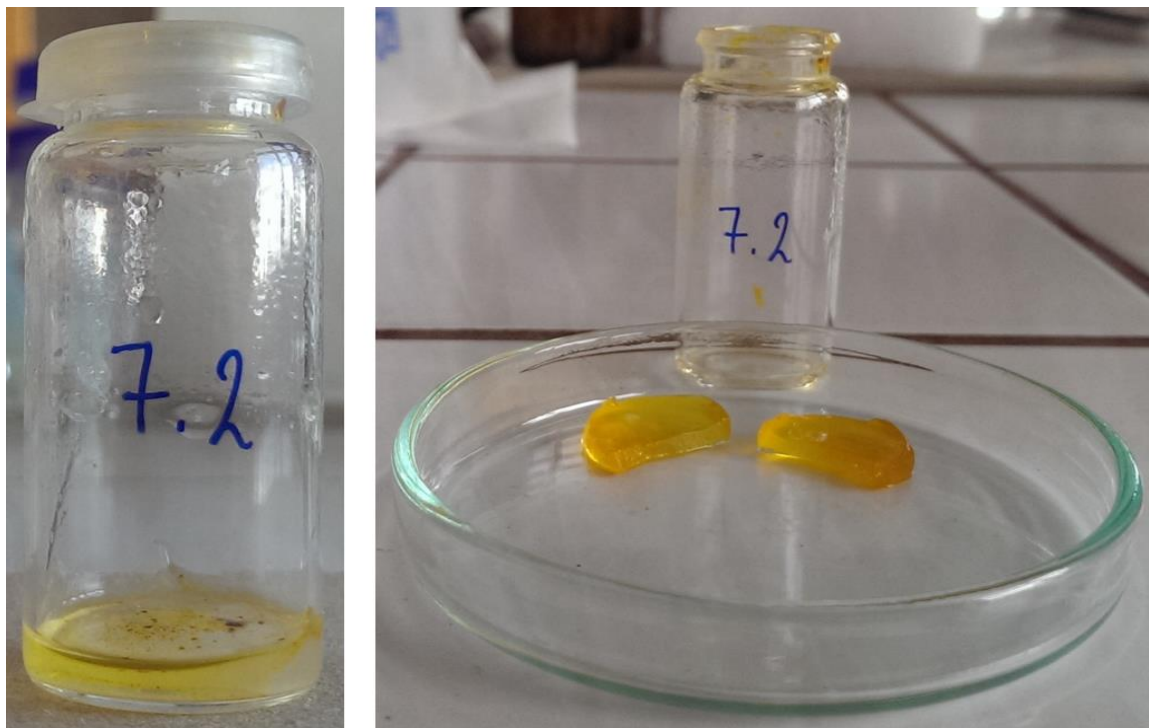
V této kapitole byla studována difúze vytvořených hydrogelů při různých hodnotách pH. Dále se sledovalo probarvení gelu, které by přinášelo informace o hodnotě pH prostředí gelu. Jako indikátory pH byly použity čtyři různé spektroskopické indikátory, methyloranž, methylčerven, bromthymolová modř a fenolftalein.

Jako první byl pozorován gel vytvořený při pH 4. Jeho hodnota pH byla indikována methyloranžem. Jak je možné vidět z obrázku (*Obr. 20*), tak vzorek ve vialce označené 7.2 se ihned po nasypání malého množství methyloranže začal zabarvovat žlutě, což svědčí o předpokládané hodnotě pH hydrogelu okolo 4. Gel se nejintenzivněji zbarvoval v místě prvotního kontaktu práškového indikátoru a poté zbarvení přecházelo po povrchu. Až po obarvení povrchu došlo k probarvení vnitřního prostředí hydrogelu. Úplné probarvení hydrogelu bylo možné pozorovat po jeho rozkrojení. Hydrogel byl probarven úplně a ve stejné intenzitě v jeho celém obsahu. Probarvení vzorku nám říká, že hydrogel má v celém svém objemu pH okolo hodnoty 4.

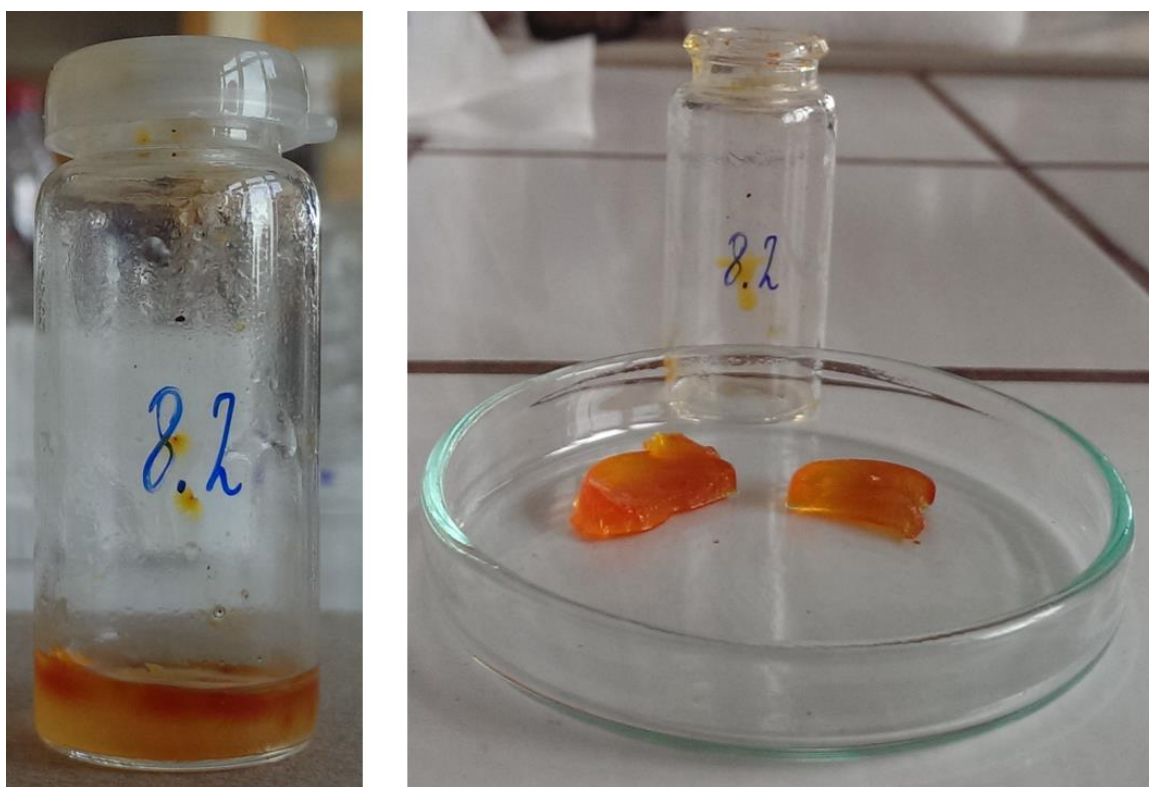
Druhým pozorovaným hydrogelem byl vzorek vytvořený při pH 5. Hodnota pH byla indikována methylčervíní. Přidání tohoto indikátoru a probarvení gelu je možné pozorovat níže na obrázku (*Obr. 21*). Zbarvení gelu bylo oranžové až červené, indikující pH okolo hodnoty 5. Povrch gelu byl probarven celý, a i uvnitř došlo k úplnému probarvení podobným odstínem jako na povrchu. Gel se stejně jako při pH 4 nejprve intenzivně barvil v místě přidání indikátoru. Poté se barvil povrch a až poté se začalo barvit vnitřní prostředí hydrogelu. Stejně jako v předchozím případě se dá předpokládat, že hydrogel má pH okolo 5 v celém svém objemu.

Třetím studovaným hydrogelem byl vzorek vytvořený při pH 6. K ověření hodnoty pH vzorku byla, stejně jako při pH 5, použita methylčerven. Jak je možné pozorovat na obrázku (*Obr. 22*), tak se hydrogel obarvil žlutě až oranžově, což značí jeho pH hodnotu okolo 6

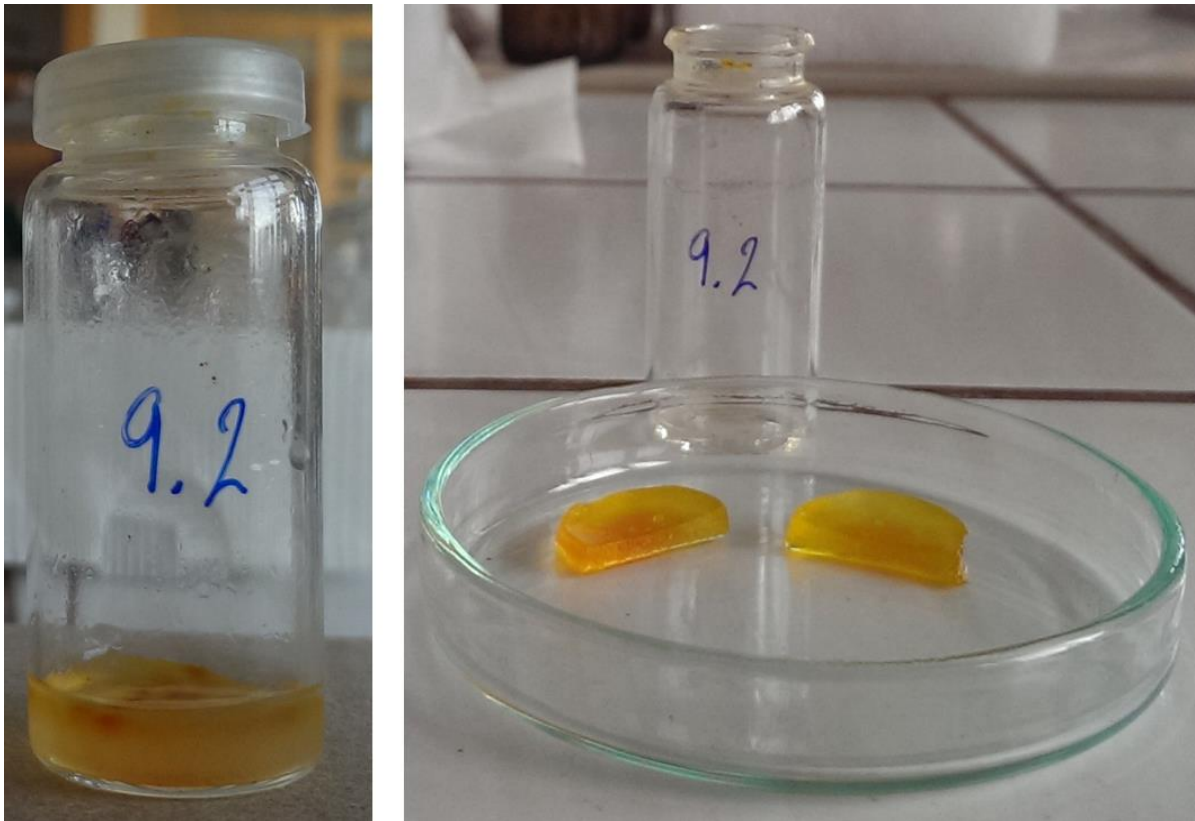
a koreluje s disperzním prostředím, ve kterém byl vytvořen. Jak je dále možné pozorovat po rozkrojení hydrogelu, tak se hydrogel probarvil úplně i uvnitř. To by vypovídalo o podobné, ne-li stejné struktuře hydrogelu, jako v předešlých případech, tedy při pH 4 a 5. Povrch a vnitřní prostředí se obarvovali stejně jako v předchozích případech.



Obr. 20: Hydrogel vytvořený při pH 4 a obarven methyloranžem.



Obr. 21: Hydrogel vytvořený při pH 5 a obarven methylčerví.

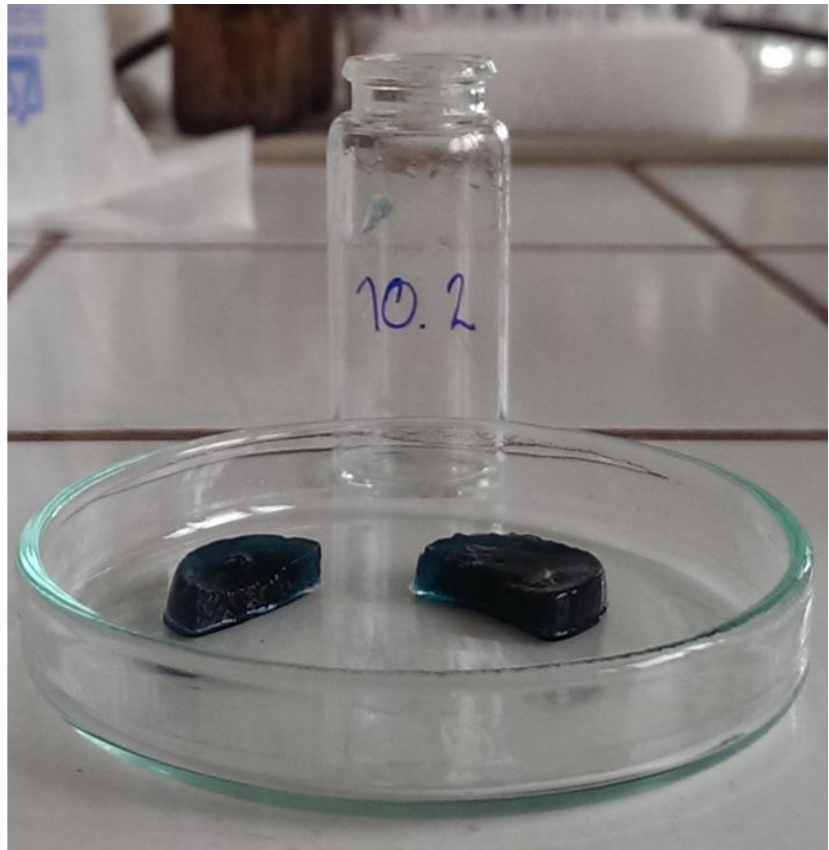
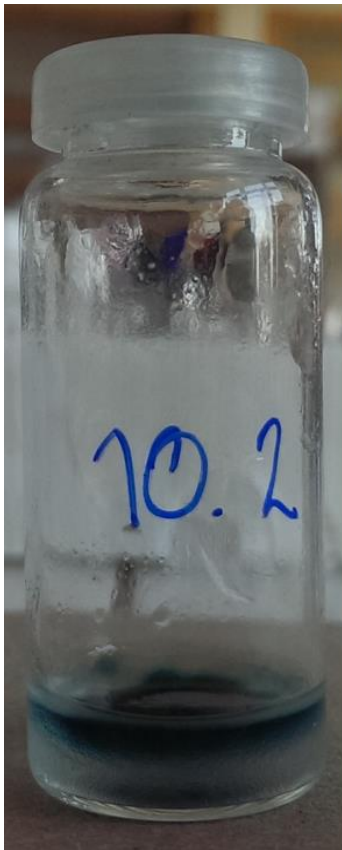


Obr. 22: Hydrogel vytvořený při pH 6 a obarven methylčervení.

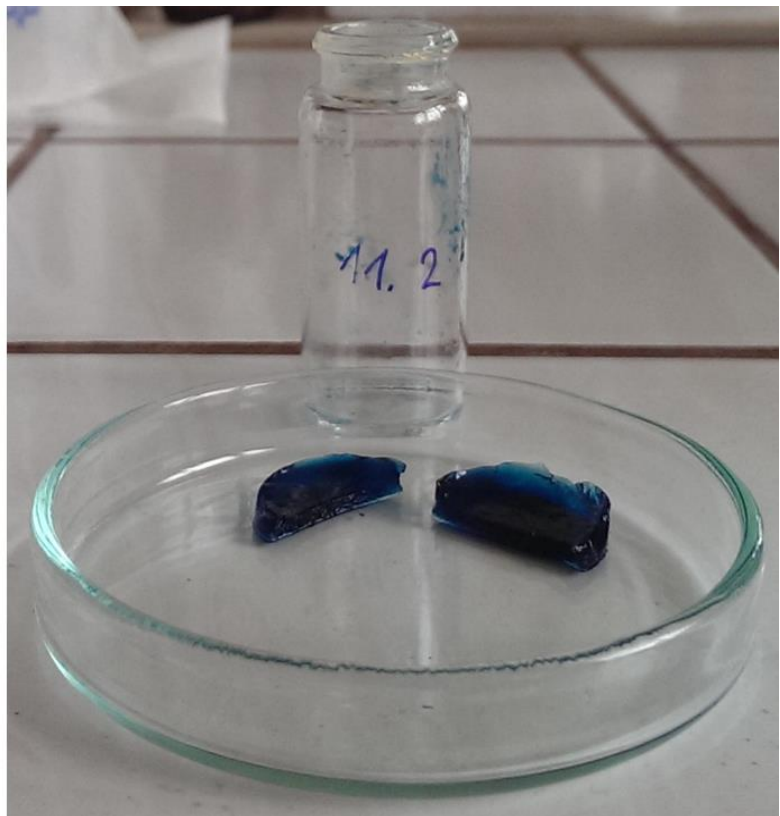
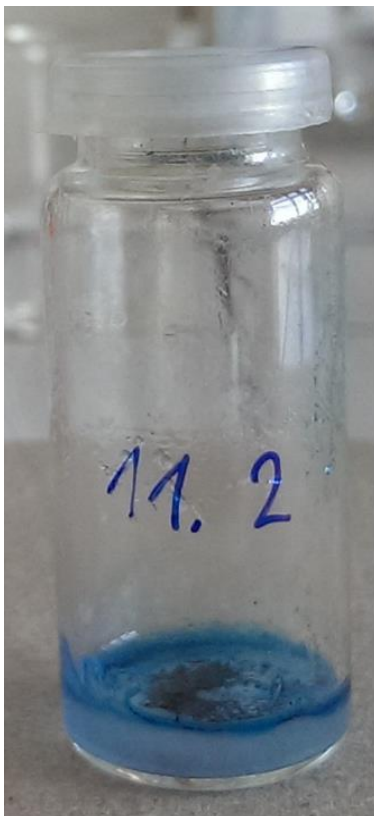
Dalším pozorovaným vzorkem byl hydrogel vytvořený při pH 7. Kontrola pH hydrogelu proběhla za využití bromthymolové modři. Z obrázku níže (*Obr. 23*) je možné pozorovat jeho zbarvení. To bylo tmavě zelené na povrchu a obdobný odstín uvnitř gelu, což vypovídá o podobné struktuře jako u předchozích hydrogelů. Barvení mělo stejný průběh jako u vzorků v předchozích případech.

Vzorek připravený při pH 8 je možné pozorovat na obrázku (*Obr. 24*) ve vialce označené 11.2. Hodnota pH tohoto hydrogelu byla indikována bromthymolovou modří. Jak je dále možné z obrázku vyzpozorovat, tak došlo k modrému zbarvení jak povrchu, tak k vnitřnímu obsahu hydrogelu. To vypovídá o jeho pH hodnotě, která je okolo 8. Průběh probarvení byl opět obdobný, jak u předchozích vzorků.

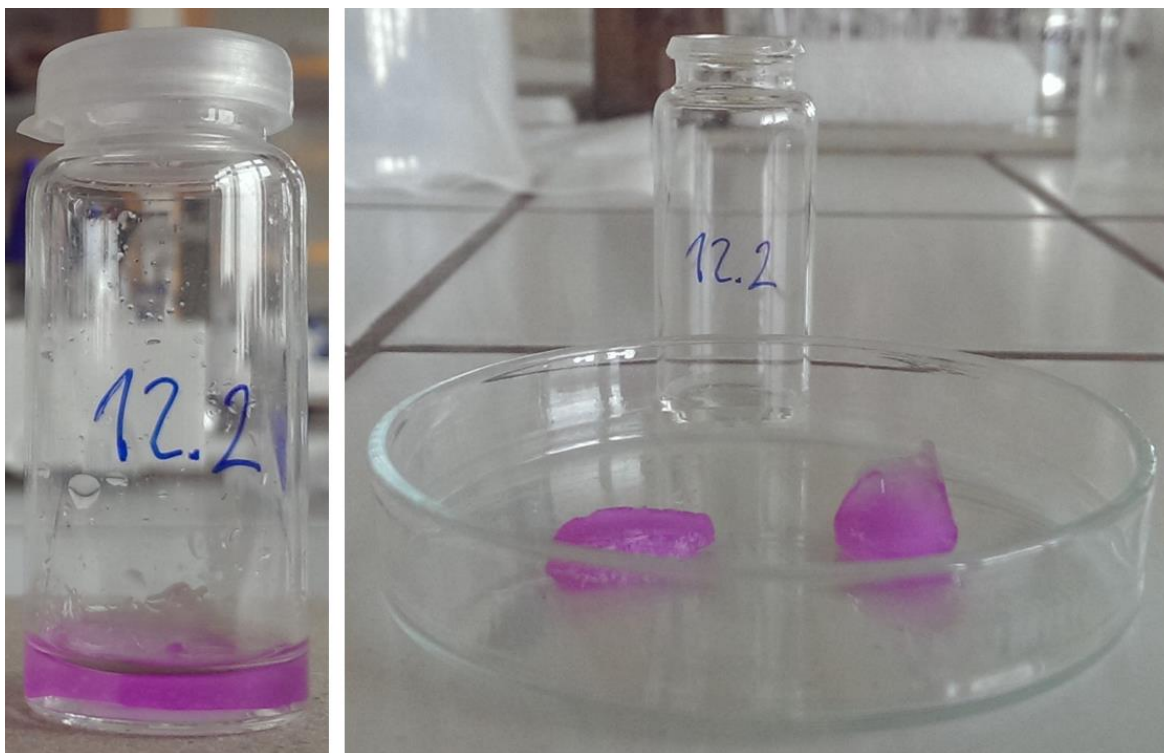
Posledním pozorovaným hydrogelem byl vzorek vytvořený při pH 9. Tento hydrogel byl indikován fenolftaleinem. Z obrázku (*Obr. 25*) je zřejmé, že nedošlo k dokonalému zbarvení hydrogelu. Došlo k lehkému zbarvení povrchu a částečnému probarvení uvnitř vzorku. Části vnitřního prostředí byly zbarveny různými odstíny růžové až fialové. To může být vysvětleno buďto tím, že struktura hydrogelu je příliš odlišná od ostatních vzorků a indikátor měl problémy dostat se do některých částí nebo vzorek nemá konstantní hodnotu pH po celém objemu. Z výsledků reologických měření je pravděpodobnější, že barvení vzorku spíše zabraňovala struktura hydrogelu. Je možné, že při pozorování po delší dobu by se vzorek probarvil stejně po celém vnitřním obsahu.



Obr. 23: Hydrogel vytvořený při pH 7 a obarven bromthymolovou modří.



Obr. 24: Hydrogel vytvořený při pH 8 a obarven bromthymolovou modří.



Obr. 25: Hydrogel vytvořený při pH 9 a obarven fenolftaleinem.

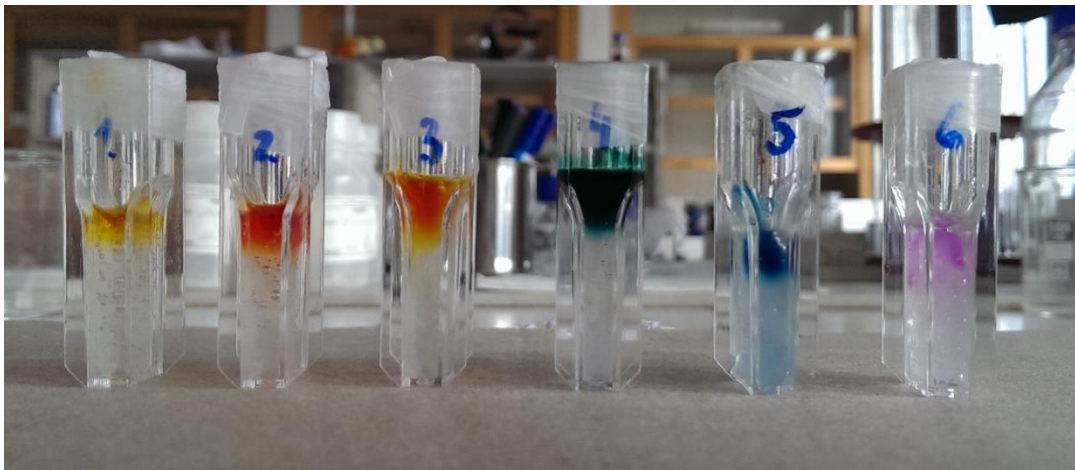
5.4 Difúze v odlišných podmínkách

Tento experiment byl proveden na popud výsledků získaných v kapitole 5.3. Tam byla pozorována různá doba putování indikátoru po vzorku. Dále byla nastolena otázka ohledně vzorku připraveném při pH 9. Ten měl problémy se probarvit v sledovaném časovém rozpětí několika dní. Proto byly experimenty, provedeny v kapitole 5.3, zopakovány za odlišných podmínek. Vzorky byly po vytvoření gelu napěchovány do malých kyvet (*Obr. 12*), které prodloužily dráhu, kterou musel indikátor procestovat, aby došlo k úplnému probarvení vzorku. Také byla tímto zmenšena plocha, na kterou byl indikátor dávkován. Posledně byl prodloužen pozorovaný čas z několika dní na několik týdnů.

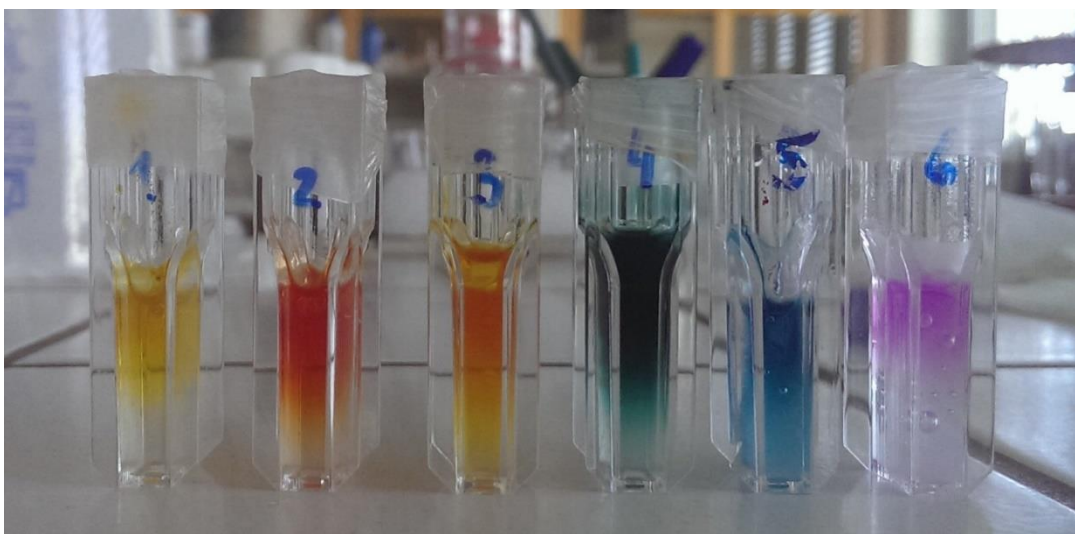
Z těchto experimentů bylo zjištěno, že probarvení bylo jednodušší pro vzorky připravené při pH 5–8. Vzorky krajních hodnot (pH 4 a 9) měly problém s úplným probarvením gelu. Z pozorování je zřejmé, že gel připravený při pH 9 se probarvil nejméně. Při propojení poznatků z kapitoly 5.3 a této, by vše nasvědčovalo tomu, že krajní hodnoty studovaného rozsahu pH snižuje schopnost propustnosti. To je způsobeno velmi malými vzdálenostmi mezi uzly stabilizující řetězce gelu. Tyto tvrzení podporují výsledky získané z reologických i termogravimetrických měření.



Obr. 26: Difúze zaznamenaná ihned po přidání indikátorů.



Obr. 27: Difúze zaznamenaná 10 dní po přidání indikátorů.

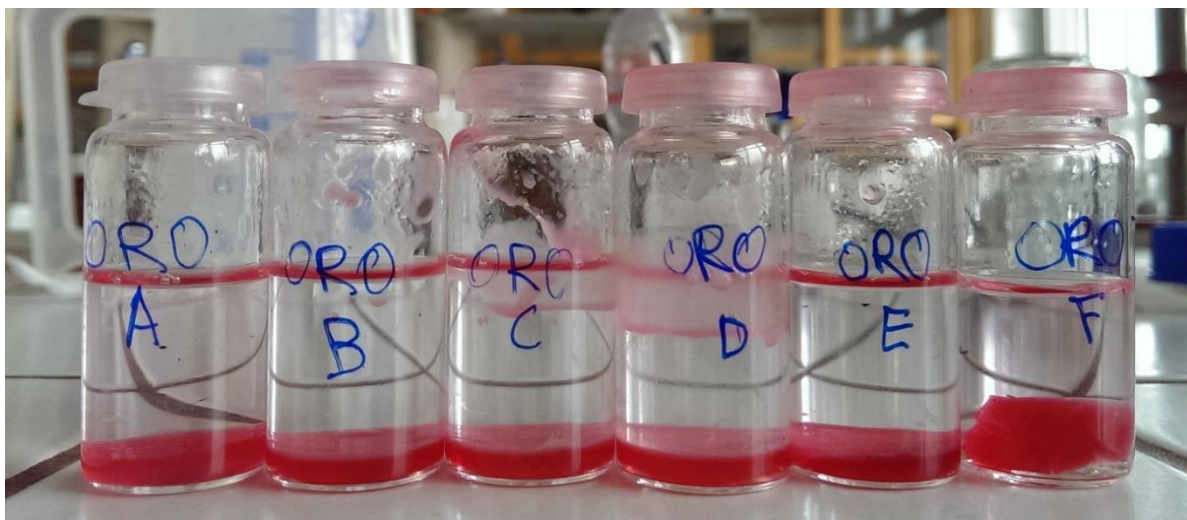


Obr. 28: Difúze zaznamenaná 20 dní po přidání indikátorů.

5.5 Solubilizační experiment

Kromě barvení hydrogelů indikátory značící hodnotu pH prostředí a hydrogelu, byly hydrogely barveny i olejovou červení O. Jedná se o hydrofobní barvivo, které barví hydrofobní domény červeně. Z předešlé bakalářské práce [76], byl vybrán způsob barvení. Jednalo se o barvení přidáním barviva v podobě prášku přímo do směsi, ze které se vytvářel hydrogel. Tento postup vykazoval nejlepší výsledky pro potřeby tohoto experimentu.

Na obrázku (*Obr. 29*) je možné pozorovat, že se zabarvily všechny hydrogely a to jak na povrchu, tak i uvnitř, což vypovídá o hydrofobních doménách uvnitř hydrogelu. Dále je zřejmé, že k vytvoření gelu bylo využito všech práškových složek a žádné se nevyskytují v supernatantu. Díky barvení je ovšem možné pozorovat gelový lem, který se vyskytuje na hladině roztoku.



Obr. 29: Hydrogely vytvořeny při pH 4-9 a barveny olejovou červení. A (pH 4), B (pH 5), C (pH 6), D (pH 7), E (pH 8), F (pH 9).

I po odlití disperzního prostředí a vyměnění jejich disperzního prostředí za krajové hodnoty pH 4 a 9 (*Obr. 30*), zůstaly hydrogely zabarveny. Ve vzorku se udržel i gelový lem. Jediné pozorovatelné rozdíly oproti předchozím vzorkům (*Obr. 29*) je intenzita zbarvení, která je nižší. To může být vysvětleno přidáním nového roztoku, který svou výměnou snížil koncentraci barviva ve vialkách.

Čirý supernatant za přítomnosti hydrofobního barviva znamená, že valná většina molekul tenzidu byla zakomponována do hydrogelové fáze. Tomu napovídá i zbarvený gel po celém povrchu. Lze tedy předpokládat, že vzniklá gelová fáze je silně hydrofobní. Z obrázku níže (*Obr. 30*), kdy supernatant zůstává čirý, potvrzuje hypotézu, že změna pH radikálně nemění strukturu hydrogelu od prvotně vytvořeného hydrogelu za stejného pH, v takovém rozsahu, aby došlo k samovolnému uvolnění barviva. Silně hydrofobní hydrogely by mohly najít uplatnění jako nosičové systémy pro hydrofobní léčiva.



Obr. 30: Vzorky A, B a C v disperzním prostředí o pH 9, vzorky D, E a F v disperzním prostředí o pH 4.

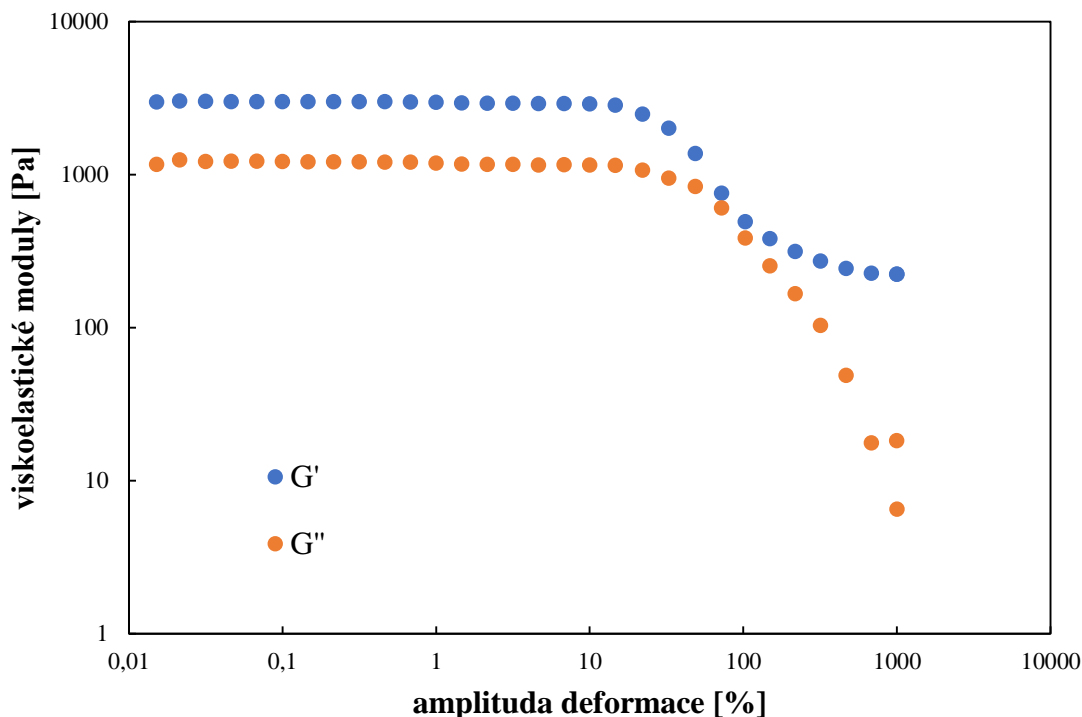
5.6 Reologická měření

Tato kapitola popisuje reologické chování hydrogelů připravených na bázi polyelektrolyt–tenzid. Jak bylo popsáno dříve, tak gely jsou z převážné části tvořeny kapalinovou disperzní částí, ale spousta mechanických vlastností sdílí s pevnými látkami. Jednou z důležitých charakteristik gelů je viskoelasticitata. Ta v sobě zahrnuje kombinaci mechanických vlastností kapaliny, tak i elastické vlastnosti pevné látky. Právě z těchto důvodů je pro charakteristiku hydrogelů stěžejní metodou, a i v této práci je jí věnována velká pozornost. V této práci bylo pracováno se dvěma typy měření, a to s oscilačními a tokovými testy, které jsou rozebírány v dalších podkapitolách.

5.6.1 Oscilační měření

Deformační testy

Jako první test při oscilačních měřeních, musí být provedeny deformační testy („strain sweep“). Tento test nám pomůže určit, který ze dvou viskoelastických modulů převažuje. Jako modelový případ pro tento popis byl vybrán graf popisující závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 5 (*Obr. 31*). Deformační test, při kterém byla udržována konstantní frekvence oscilací, a docházelo ke změně amplitudy deformace, nám pomohl získat lineární viskoelastickou oblast (LVO). Nalezení této oblasti je klíčové pro správné nastavení měřících podmínek. Pomocí deformačních testů byla nalezena oblast LVO v rozmezí 0,01–15 %. Jak je možné z tohoto grafu dále vyzorovat, tak během celého působení LVO převládá elastický modul (G'), což vypovídá, že se jedná o gel. Tento průběh a převládání elastického modulu bylo shodné pro všechny měřené vzorky, a tedy se ve všech případech jednalo o gely. Z tohoto rozmezí byla zvolena hodnota vhodné amplitudy deformace. Zvolená hodnota byla 1 % a tato hodnota spadá do LVO všech vzorků, a tak byl tento údaj použit při nastavování přístroje pro měření oscilačních testů u všech vzorků. Deformační test byl proveden pro každý nový vzorek.



Obr. 31: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 5.

Tato kapitola se zabývá viskoelastickými vlastnostmi 12 vzorků zjištěnými pomocí oscilačních reologických testů. Šest vzorků, které byly připraveny pro rozmezí pH 4–9 a dalších šest vzorků, kterým posléze bylo vyměněno disperzní prostředí za jiné, o jiném pH.

Z hodnoty konce LVO lze vyvozovat závěry o mechanických vlastnostech připravených hydrogelů, přesněji o síle vazby. Tyto hodnoty byly zaznamenány v *tabulce 4*. Čím je hodnota zaznamenávající konec LVO vyšší, tím by měly být vazby silnější a déle odolávat stlačení senzoru. Z výsledků v *tabulce* je zřejmé, že nejpevnějším vzorkem byl gel připravený při pH 9 a naopak nejměkčím gel připravený při pH 4, který měl ovšem výsledky velmi blízké ostatním vzorkům. Konec LVO pro ostatní vzorky nastával při velmi podobných hodnotách amplitudy deformace, z čehož se dá vyvodit, že tyto hydrogely jsou si velmi podobné a pouze vzorek připravený při pH 9 se výrazněji liší.

Další hodnoty, které jsou zaznamenány v *tabulce* níže jsou průměrné hodnoty elastického a viskózního modulu v LVO oblasti. Hodnoty těchto modulů popisují množství vzniklého gelu. U vzorků s vyššími hodnotami modulů dochází ke tvorbě více gelu, a naopak u vzorků s nižšími hodnotami modulů dochází k absorpci většího množství disperzního prostředí. Podle hodnot v *tabulce* by mělo docházet ke tvorbě nejvíce gelu u vzorku připraveného při pH 9 a naopak nejvíce disperzního prostředí by měl absorbovat vzorek připravený při pH 7. Tyto závěry potvrzují termogravimetrické analýzy (*kapitola 5.7*).

Tabulka 4: Tabulka popisující hodnoty konce LVO, průměrné hodnoty elastického a viskózního modulu v LVO a jejich směrodatné odchylky pro vzorky připravené při pH 4–9.

Číslo vzorku	pH	Konec LVO [%]	$ G' $ [Pa]	Směrodatná odchylka [Pa]	$ G'' $ [Pa]	Směrodatná odchylka [Pa]
1	4	9,99	2370	39	925	45
2	5	14,69	2951	48	1205	30
3	6	10,03	1871	18	792	16
4	7	10,01	1145	15	503	7
5	8	14,69	3333	29	1379	17
6	9	31,84	4886	57	701	22

V tabulce 5 jsou také zaznamenány hodnoty konce LVO pro vzorky se změnou hodnotou pH. Hodnoty konce LVO byly nejvyšší u vzorků, kterým bylo měněno pH na hodnotu 9. Všechny vzorky měly téměř totožný konec LVO, což znamená, že by měly mít všechny stejně silné vazby. Tyto vazby by ovšem měly být slabší než u vzorku připraveném při pH 9. Vzorky se změnou hodnotou pH na 4 měly téměř identickou hodnotu konce LVO jako vzorek původně připravený při pH 4. Vyčnívajícím vzorkem je vzorek původně připravený při pH 7 (4.2). Ten by podle změřených hodnot měl mít vazby měkčí než původní vzorek připravený při pH 4, protože jeho hodnota konce LVO je nejmenší. To může být vysvětleno, že vzorek, ze kterého tento hydrogel přede změnou pH vycházel (vzorek 4), měl slabší vazby než vzorky 5.2 a 6.2, které vycházely z hydrogelů se silnějšími vazbami (vzorek 5 a 6).

Z velikostí hodnot modulů je patrné, že by se mělo tvořit podobné množství gelu u všech vzorků. Jedině vzorky 1.2 (pH 4 → 9) a 4.2 (7 → 4) by měly být schopné absorbovat nejvíce disperzního prostředí ze svých porovnávaných trojic. Toto tvrzení potvrzuje termogravimetrická analýza (kapitola 5.7).

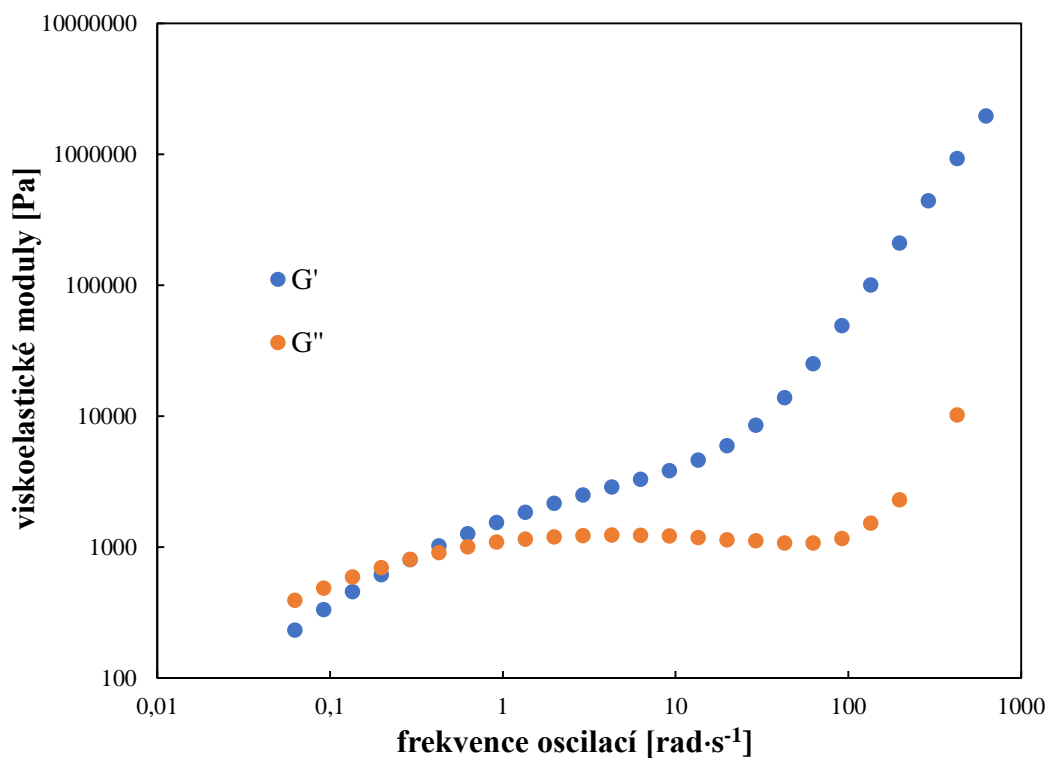
Tabulka 5: Tabulka popisující hodnoty konce LVO, průměrné hodnoty elastického a viskózního modulu v LVO a jejich směrodatné odchylky pro vzorky s vyměněnými hodnotami pH.

Číslo vzorku	pH	Konec LVO [%]	$ G' $ [Pa]	Směrodatná odchylka [Pa]	$ G'' $ [Pa]	Směrodatná odchylka [Pa]
1.2	4 → 9	14,71	3525	44	511	21
2.2	5 → 9	14,69	4369	20	700	12
3.2	6 → 9	14,67	3948	45	570	12
4.2	7 → 4	6,84	3559	33	1110	15
5.2	8 → 4	10,02	4203	72	1297	31
6.2	9 → 4	10,05	5320	80	1778	35

Frekvenční oscilační testy

Po zvolení vhodné hodnoty amplitudy deformace bylo možné přistoupit k měření frekvenčních oscilačních testů („frequency sweep“). Při těchto testech bylo udržováno již zmíněné konstantní napětí deformace (hodnota „strain“ byla nastavena na 1%) a docházelo ke změně frekvence oscilací v rozsahu 0,01–100 Hz (0,06283–628,3 rad·s⁻¹). Počet bodů na dekádu bylo 6. Maximální hodnota normálové síly byla nastavena na 5 N. Měřené vzorky vždy prošly temperovacím krokem, který trval 5 minut při 25 °C.

Na následujícím grafu (Obr. 32) popisujícím průběh závislosti viskoelastických modulů na zvyšující se frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 4, je možné pozorovat typické gelové chování. Na počátku měření převažovala složka viskózního modulu a se zvyšující se frekvencí oscilací nastal bod protnutí křivek („cross point“), kde platí $G' = G''$. Na počátku měření dochází k deformaci slabých vazeb a se zvyšující se frekvencí dochází k deformaci i pevných vazeb. To je na obrázku zaznamenáno strmým stoupáním elastického modulu (G'). Jelikož byla pro toto měření vybrána amplituda deformace z oblasti LVO, jedná se o elastickou deformaci a po zastavení oscilace, by se vzorek vrátil do původního stavu.



Obr. 32: Průběh závislosti viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro hydrogel připravený při pH 4. Znárodnění protnutí viskózního a elastického modulu.

Tabulka 6: Hodnota frekvence oscilací a modulu příslušející danému bodu protnutí křivek modulů pro vzorky připravené při různých hodnotách pH.

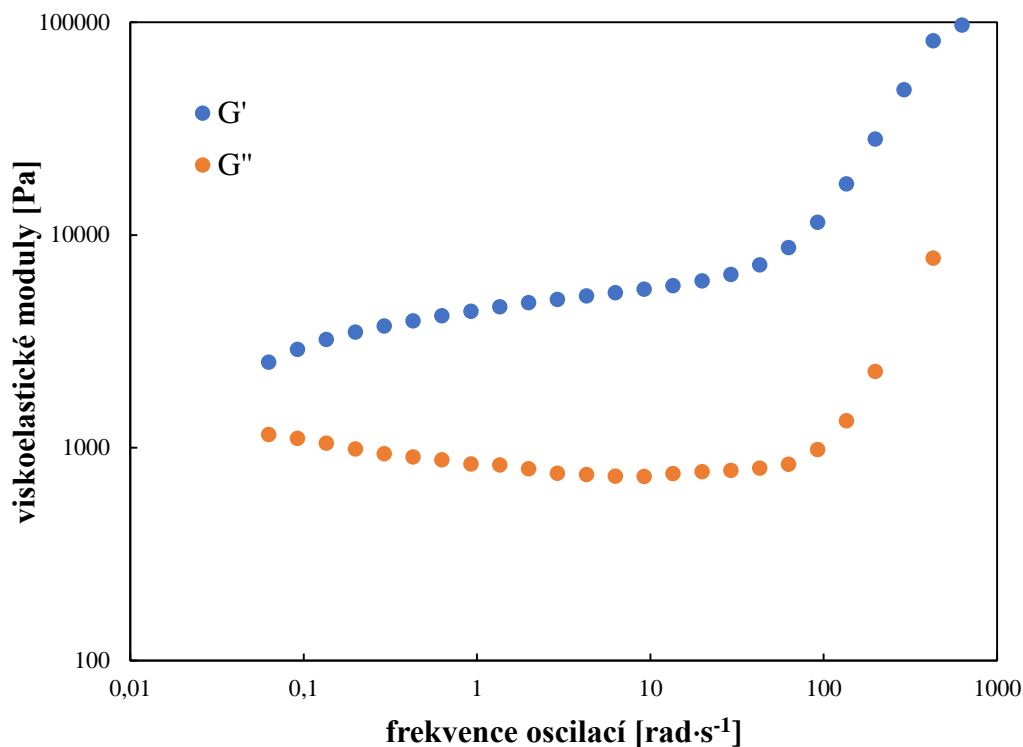
Číslo vzorku	pH	Frekvence oscilací [rad·s ⁻¹]	Hodnota modulu [Pa]
1	4	0,296	808,2
2	5	0,395	709,0
3	6	0,545	580,9
4	7	0,843	336,4
5	8	0,394	664,1
6	9	bez protnutí	

Za využití programu Rheology Advantage Data Analysis byla do *tabulky 6* a *tabulky 7* zaznamenána frekvence oscilací (f) a hodnota modulů (G' , G'') v bodě překřížení křivek pro všechny měřené vzorky.

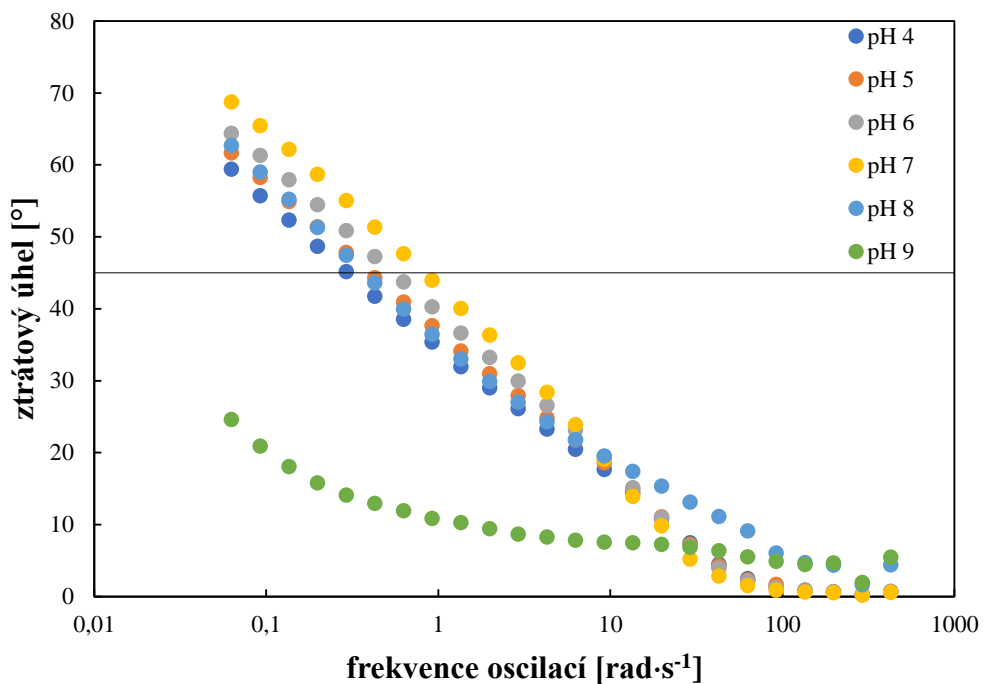
Z *tabulky 6* je vidět, že hodnota modulu, která odpovídá bodu protnutí křivek, byla nejvyšší pro vzorek připravený při pH 4. Hodnota frekvence oscilací pro tento vzorek je zase naopak nejmenší. To znamená, že elastický modul (G') začne převládat u tohoto vzorku dříve než u ostatních vzorků. Co je dále možné vyzorovat z *tabulky 6* je to, že hodnota modulu se postupně snižovala se zvyšujícím se pH až ke vzorku připraveném při pH 7. U tohoto vzorku byla naměřena nejnižší hodnota modulu a nejvyšší hodnota frekvence oscilací. To o tomto vzorku vypovídá, že by měl mít největší vzdálenosti mezi jednotlivými uzly, které stabilizují strukturu gelu. To podporuje i samotná vizuální charakterizace tohoto vzorku a termogravimetrické testy, ze kterých bylo zjištěno, že tento vzorek je schopen přijmout největší množství vody. Přesně naopak tomu bylo u vzorku připraveném při pH 9. U tohoto vzorku nedošlo k protnutí modulů G' a G'' (*Obr. 33*). U tohoto vzorku tedy značně převládá elastický modul. Jak je z obrázku níže patrné, tak pro získání bodu překřížení by se muselo měření provést pro mnohem nižší hodnoty frekvence oscilací. Na rozdíl od hydrogelu připravovaném při pH 7, by tento hydrogel měl mít mnohem menší vzdálenosti mezi jednotlivými uzly, což by mělo vypovídat o jeho zhoršené propustnosti. S tímto tvrzením souhlasí testy vizuální charakterizace i termogravimetrické měření, ze kterého vyšlo najevo, že vzorek byl schopen absorbovat nejmenší množství vody.

Tyto výsledky podporuje i graf níže (*Obr. 34*). Ten popisuje závislost ztrátového úhlu na frekvenci oscilací. Ztrátový úhel podává informace o elasticitě a pevnosti vzorků. Ztrátový úhel byl vypočítán dle rovnice (7). Hodnota ztrátového úhlu 45° značí viskoelastické chování. Pokud jsou hodnoty ztrátového úhlu vyšší než 45°, tak zkoumaný vzorek vykazuje viskózní chování. Pokud je ztrátový úhel nižší, tak u vzorku převažuje elastická složka. U všech vzorků dochází ke snižování ztrátového úhlu se zvyšující se frekvencí oscilací, což je typické pro viskoelastický materiál s převahou elastické složky. Jak je možné pozorovat z grafu, tak všechny vzorky, kromě vzorku připraveném při pH hodnotě 9, měly při počátku měření ztrátový úhel vyšší než 45°. I zde jde také názorně vidět, že vzorek připravený při pH 7

vykazuje nejvyšší viskoelastické chování. Tento graf také potvrzuje převahu elastického modulu pro vzorek připravený při pH 9.



Obr. 33: Graf frekvenčního testu pro vzorek připravený při pH 9 znázorňující neprotnutí viskózního a elastického modulu.



Obr. 34: Závislost ztrátového úhlu na frekvenci oscilací pro vzorky pH 4–9. Úsečka znázorňuje hranici 45°.

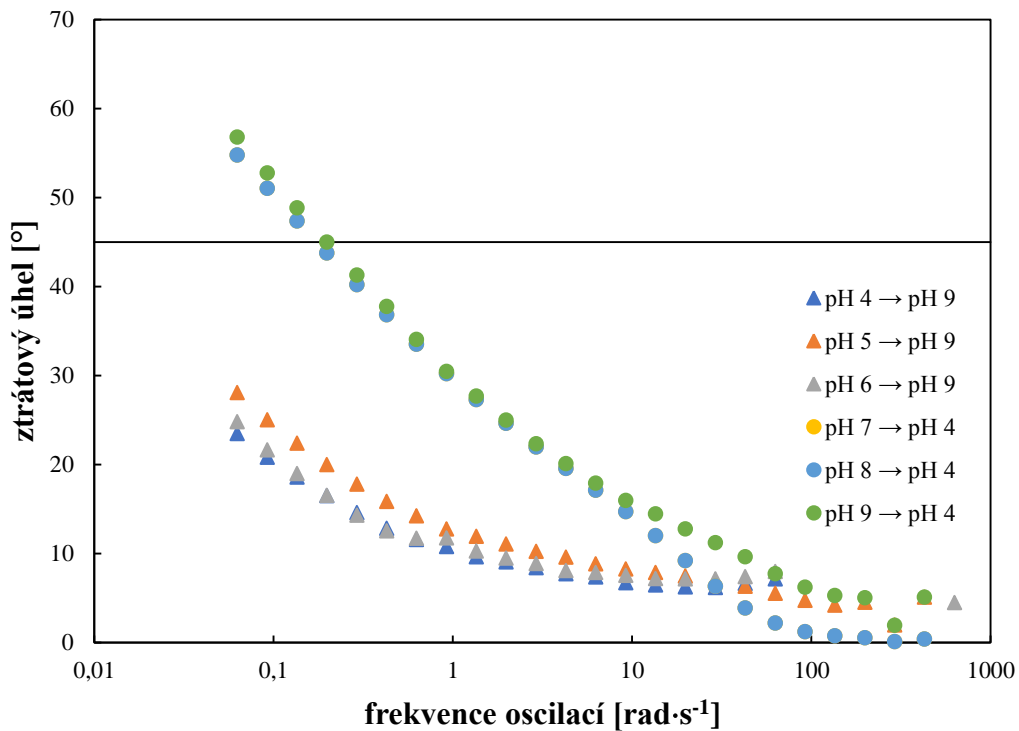
V tabulce 7 byly zaznamenány hodnoty protnutí modulů pro vzorky s vyměněnou hodnotou pH. Vzorkům připraveným při pH 4, 5 a 6 bylo vyměněno pH na hodnotu 9 a vzorkům připraveným při pH 7, 8 a 9 byla vyměněna hodnota pH na hodnotu 4. Ihned si je možné povšimnout, že u vzorků, kterým bylo vyměněno pH na 9, nedošlo k protnutí modulů. To znamená, že vzorky připravené při pH 4, 5 a 6, které měly při jejich prvotních měřeních bod protnutí v měřeném rozsahu, tak změnily svou strukturu pouhou změnou hodnoty pH a pro tento měřený rozsah byly bez bodu protnutí křivek. To, že nedošlo k protnutí značí, že tyto vzorky jsou velmi podobné vzorkům již připraveným při pH 9. Naopak u vzorků připravených při pH 7, 8 a 9 bylo vyměněno disperzní prostředí za pufr o pH hodnotě 4. U všech těchto vzorků došlo ke zvýšení hodnoty modulů při protnutí křivek nad hodnoty protnutí u původních vzorků a také frekvence oscilací byly nižší než pro vzorek připravený při pH 4. To naznačuje, že změna hodnoty pH nepřevádě vzorek na dokonalou kopii vzorku připraveného při pH 4, ale že si struktura ponechává některé původní vazby.

Tabulka 7: Hodnota frekvence oscilací a modulu příslušející danému bodu protnutí křivek modulů pro vzorky, kterým po vytvoření gelu bylo vyměněno pH disperzního prostředí.

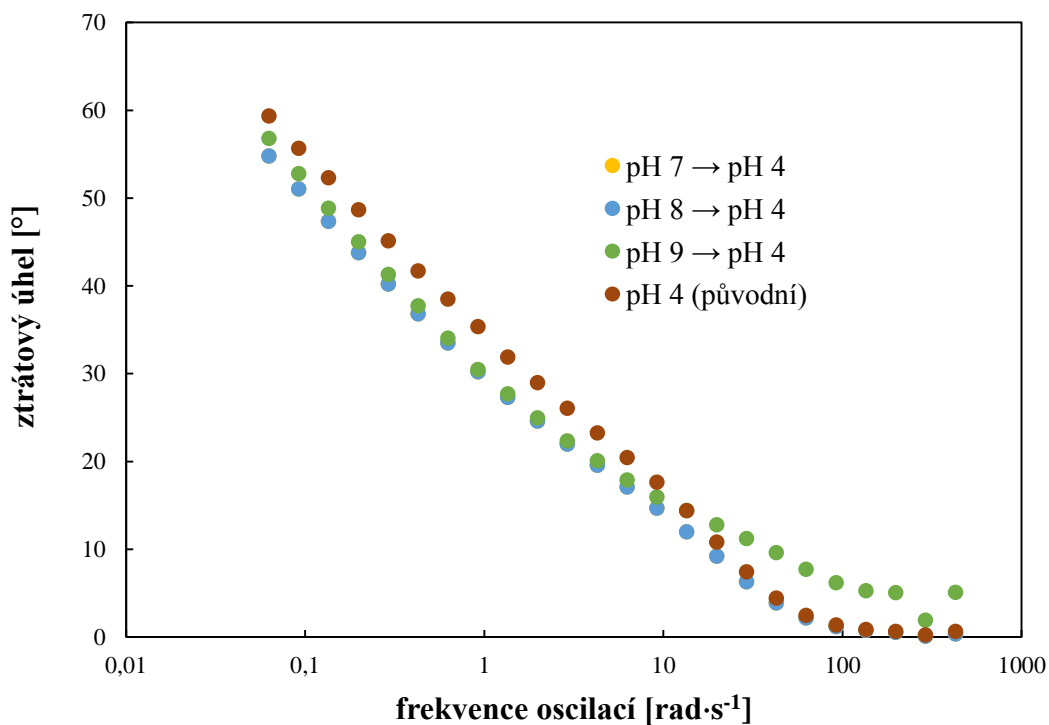
Číslo vzorku	pH	Frekvence oscilací [rad·s ⁻¹]	Hodnota modulu [Pa]
1.2	4 → 9	bez protnutí	
2.2	5 → 9	bez protnutí	
3.2	6 → 9	bez protnutí	
4.2	7 → 4	0,179	1444
5.2	8 → 4	0,174	1045
6.2	9 → 4	0,199	1199

Tyto závěry jsou lépe pozorovatelné níže v grafu (Obr. 35), ve kterém je popsána závislost ztrátového úhlu na zvyšující se frekvenci oscilací. Jak je možné vidět, tak pod úsečkou, která označuje 45° hranici jsou všechny vzorky, kterým bylo vyměněno disperzní prostředí za prostředí s hodnotou pH 9 a stejně jako u původního vzorku připraveném při pH hodnotě 9, tak i u těchto vzorků převládá elastický modul.

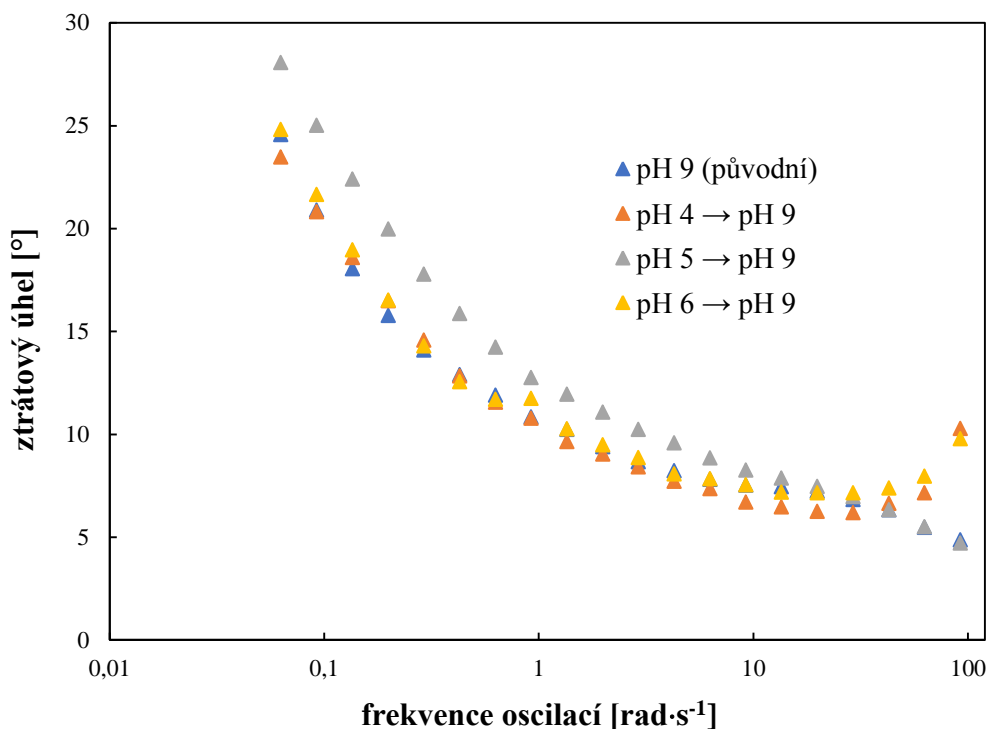
V dalším obrázku (Obr. 36) je porovnána závislost ztrátového úhlu na zvyšující se frekvenci oscilací pro původní vzorek připravený při pH 4 a pro vzorky, kterým bylo pH vyměněno za pH 4. A jak je zřejmé, tak průběh křivky se téměř neliší. To stejné lze vyčíst i z dalšího obrázku (Obr. 37), který porovnáva vzorky původní a vyměněné za pH 9. I zde je průběh téměř totožný.



Obr. 35: Závislost ztrátového úhlu na frekvenci oscilací pro vzorky s vyměněnou hodnotou pH. Úsečka znázorňuje hranici 45°.



Obr. 36: Porovnání závislosti ztrátového úhlu na frekvenci oscilací pro původní vzorek vytvořený při pH 4 a pro vzorky, kterým bylo pH vyměněno za pH 4.



Obr. 37: Porovnání závislosti ztrátového úhlu na frekvenci oscilací pro původní vzorek připravený při pH 9 a pro vzorky, kterým bylo pH vyměněno za pH 9.

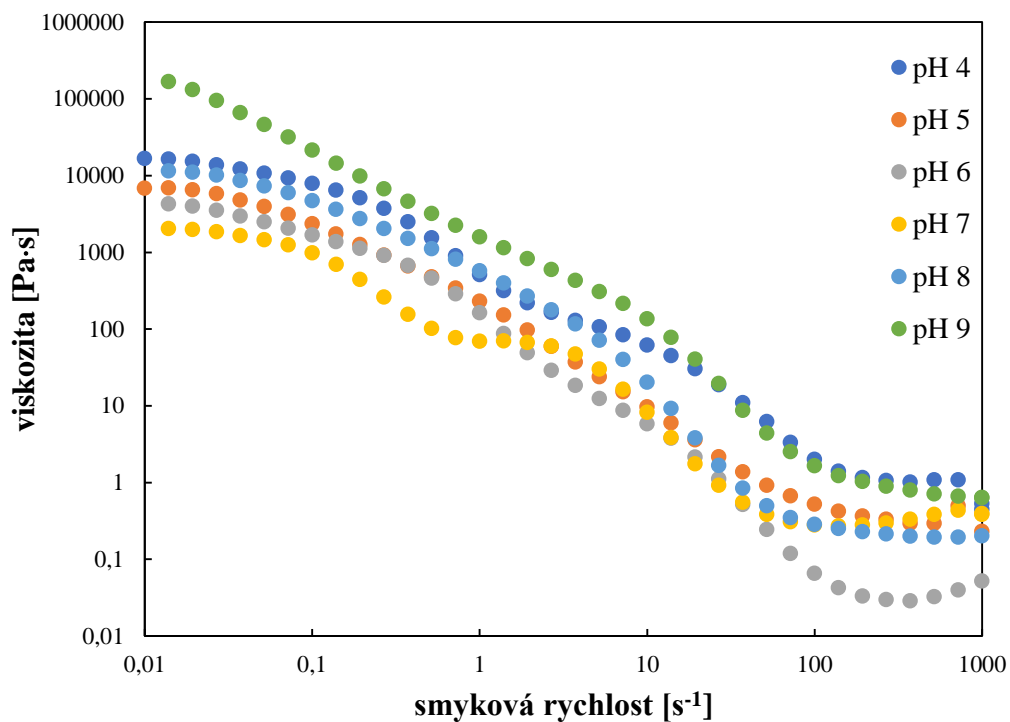
5.6.2 Tokové testy

Dalšími testy, kterými byly vzorky podrobeny, byly tokové testy. Tyto testy byly použity k popisu závislosti viskozity na smykové rychlosti. Měření některých vzorků bylo ovšem poměrně obtížné, protože při vyšších smykových rychlostech tyto vzorky vylétávaly z měřicí aparatury. To bylo nejproblematictější u vzorků, které byly připravovány při hodnotě pH 9.

Na následujícím obrázku (Obr. 38) je porovnáno šest vzorků, které byly připraveny při různých hodnotách pH. První, co je z obrázku patrné je, že nejvyšší viskozita byla naměřena u vzorku připraveného při pH 9 a se zvyšující se smykovou rychlostí zůstala, oproti ostatním měřeným vzorkům, jeho viskozita nejvyšší až do konce měření. Naopak nejnižší viskozitu vykazoval vzorek připravený při pH 7. Ten se zvyšující se smykovou rychlostí neklesal tak rapidně jako jiné vzorky. Souhrnně si je možné povšimnout trendu, že všechny vzorky vykazují newtonovské chování asi do hodnoty smykové rychlosti $0,1 \text{ s}^{-1}$. Do této hodnoty řetězce odolávají rozplétání a orientaci do stejného směru. Poté následoval strmější pokles viskozity až do hodnoty smykové rychlosti okolo 50 s^{-1} , kde nastalo nevratné porušení struktury a řetězce se začaly orientovat ve směru toku, tudíž i pokles viskozity je značně mírnější. Toto chování se označuje jako pseudoplastické a je typické pro neneutronovské látky. Po této hodnotě už jsou téměř všechny řetězce orientovány do směru toku, a proto už zde téměř nelze pozorovat další pokles viskozity. Z tohoto trendu lehce vystupoval vzorek připravený při pH 9, který se choval až na hranici plastických a pseudoplastických látek, což bylo způsobeno jeho odlišnou strukturou od ostatních vzorků.

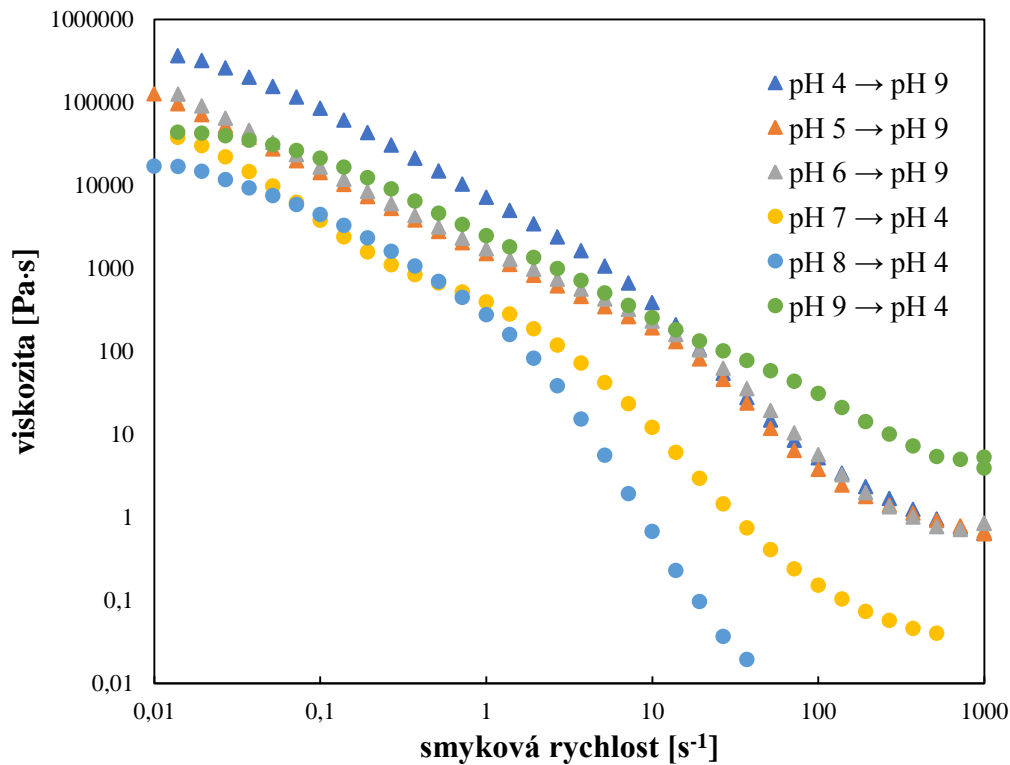
Dále je z tohoto grafu patrné, že hodnota pH má při přípravě vliv na viskozitu vzorku. Při velmi nízkých hodnotách smykové rychlosti na počátku měření si je možné povšimnout obrovských rozdílů právě ve viskozitě vzorků. Nejtuzším vzorkem byl hydrogel připravený

při pH 9. Ten na počátku měření vykazoval vyšší viskozitu až od dva řády oproti vzorku s nejnižší viskozitou, kterým byl hydrogel připravený při pH 7. Se zvyšující se smykovou rychlostí však gely začaly přibližovat ke stejným hodnotám viskozit.



Obr. 38: Závislost viskozity na smykové rychlosti pro vzorky připravené při různých hodnotách pH.

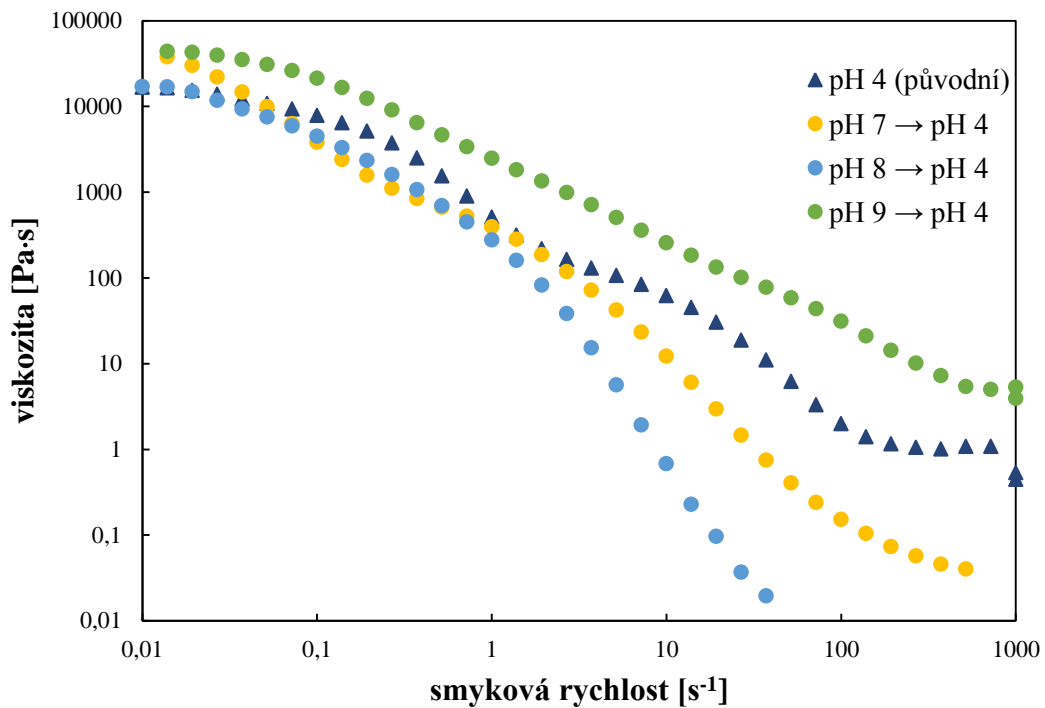
Další obrázek (*Obr. 39*) popisuje závislost viskozity na smykové rychlosti pro vzorky, kterým byla vyměněna hodnota pH stejným způsobem jako v předešlých případech. I u těchto vzorků je možné pozorovat pseudoplastické chování typické pro neneutronovské látky. I vzorky s vyměněnou hodnotou pH na 9 zde více dodržují trend pseudoplastických látek.



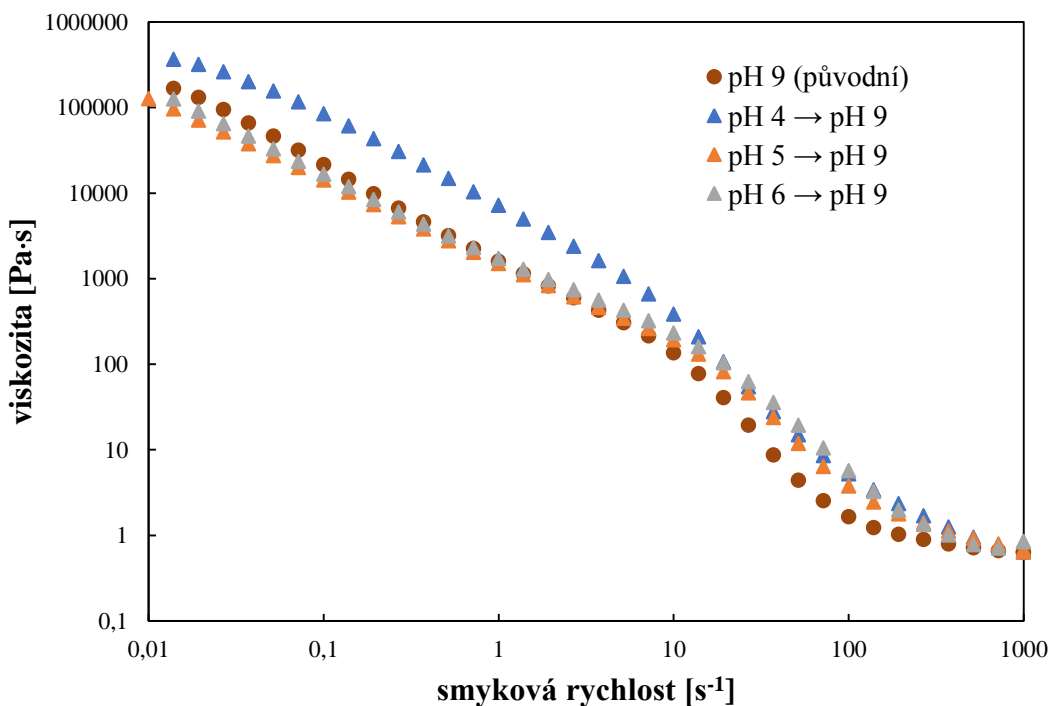
Obr. 39: Závislost viskozity na smykové rychlosti pro vzorky s vyměněnou hodnotou pH.

Rozdíly mezi původními vzorky a vzorky se změněnou hodnotou je možné pozorovat na obrázcích níže (Obr. 40, Obr. 41). Na prvním grafu je porovnávána závislost viskozity na smykové rychlosti pro původní vzorek připravený při pH 4 a pro vzorky, kterým bylo pH změněno na pH 4. Při nízkých smykových rychlostech měly vzorky velmi blízké hodnoty viskozity. Se zvyšující se smykovou rychlostí měly vzorky stále velmi podobnou hodnotu viskozity až do doby, kdy se začaly vyskytovat nevratné deformace vzorku. Odlišně od všech vzorků se choval hydrogel připravený při pH 9. Tento hydrogel měl vyšší hodnoty viskozity po celou dobu měření, protože při pH 9 dochází k větší disociaci hyaluronanu a tedy má více možností interagovat s tenzidem a tvořit pevnější gel. A tyto mechanické vlastnosti částečně zůstávají tomuto gelu i po změně pH.

Druhý graf opět popisuje závislost viskozity na smykové rychlosti, ovšem pro vzorek připravený při pH 9 a pro vzorky, kterým bylo pH změněno na hodnotu 9. Z tohoto grafu je patrné, že chování těchto vzorků je téměř totožné. Všechny vzorky přešly na velmi tuhé vzorky, a to z důvodu silné disociace hyaluronanu a hustšího propletení řetězců s menšími vzdálenostmi mezi uzly sítě.



Obr. 40: Porovnání závislosti viskozity na smykové rychlosti pro původní vzorek připravený při pH 4 a pro vzorky, kterým bylo pH vyměněno za pH 4.



Obr. 41: Porovnání závislosti viskozity na smykové rychlosti pro původní vzorek připravený při pH 9 a pro vzorky, kterým bylo vyměněno pH za pH 9.

5.7 Termogravimetrická analýza

Tato kapitola se zabývá prvotními termogravimetrickými testy. Touto analýzou prošlo 12 vzorků. Šest vzorků připravených při různých hodnotách pH a 6 s vyměněným disperzním prostředím. Z důvodu vytíženosti přístroje byly tyto vzorky měřeny pouze jedenkrát. Proto jsou tyto výsledky brány spíše jako doplňující informace o hydrogelové matici a rozdílech mezi vzorky.

Výsledky získané pro prvních 6 vzorků byly shrnuty v *tabulce 8*. Jak je možné vidět, tak při porovnání množství absorbované vody mezi vzorky, se jevil nejzajímavějším vzorek připravený při hodnotě pH 7. Ten totiž absorboval největší množství vody. V množství absorbované vody byl na blízku i vzorek připravený při pH 6. Na rozdíl od těchto vzorků, nejmenší množství vody absorboval vzorek připravený při pH hodnotě 9. To jde tedy ruku v ruce s výsledky získanými z reologických měření, kde se vzorek choval odlišně od ostatních vzorků. I vstup indikátorů byl pro tento vzorek obtížnější.

Další vzorky, které byly termogravimetricky studovány, bylo šest hydrogelů, které byly připraveny stejně jako předešlé vzorky, ale po vytvoření jim bylo vyměněno pH disperzního prostředí. Výsledky studia těchto vzorků jsou shrnuty v *tabulce 9*. Jak je možné v této tabulce pozorovat, tak prvním třem gelům, kterým bylo vyměněno pH supernatantu na pH 9 (gely vytvořené při pH 4, 5 a 6) postupně klesá množství vody. Tento stejný trend je možné pozorovat i u hydrogelů, kterým je pH vyměněno za pH 4 (gely vytvořené při pH 7, 8 a 9). Po změně hodnoty pH v supernatantu zůstal s největším procentuálním zastoupením vody hydrogel původně připravený při pH 7. Naopak nejmenší procentuální zastoupení vody zůstalo u hydrogelu původně připraveného při hodnotě pH 9.

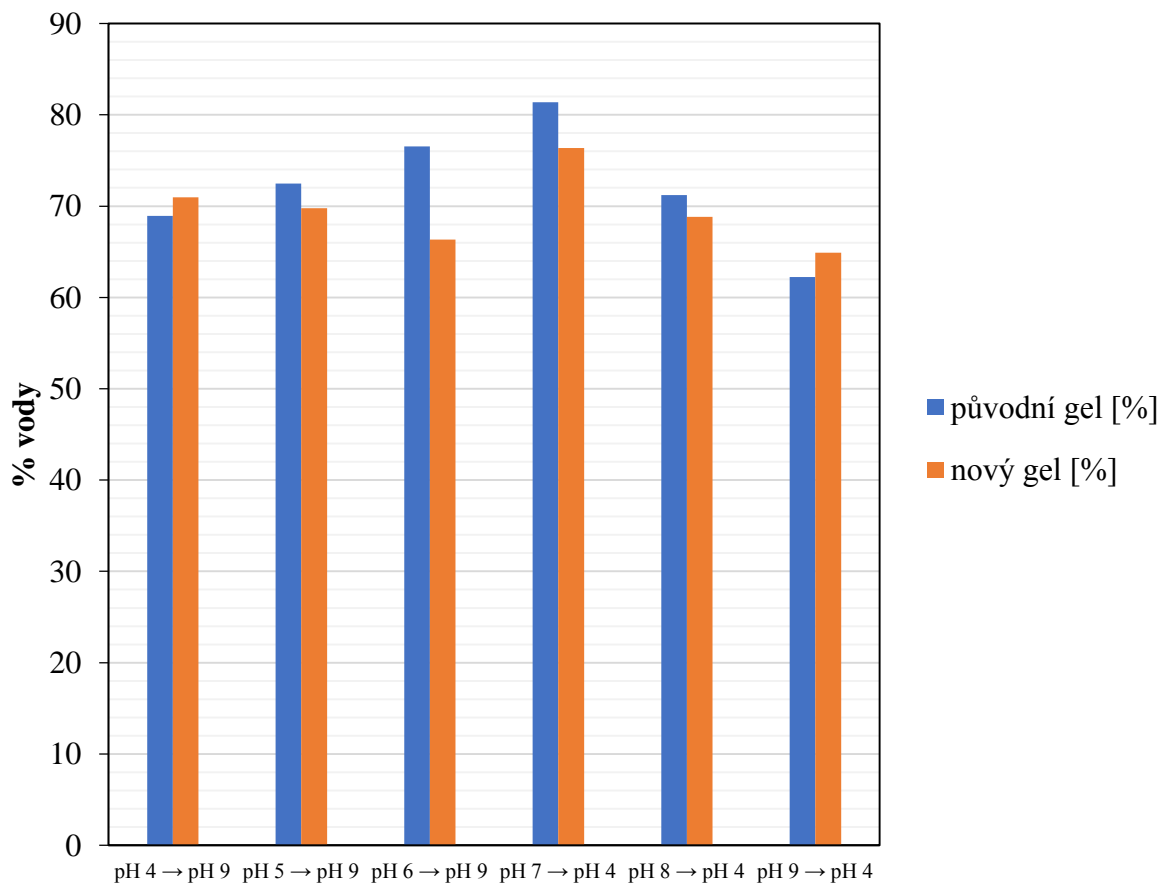
Tabulka 8: Znázornění procentuálního zastoupení vody v původních 6 vzorcích.

Vzorek	pH	Zastoupení vody [%]
1	4	69
2	5	72
3	6	77
4	7	81
5	8	71
6	9	62

Tabulka 9: Znázornění procentuálního zastoupení ve změněných vzorcích.

Vzorek	pH	Zastoupení vody [%]
1.2	4→9	71
2.2	5→9	70
3.2	6→9	66
4.2	7→4	76
5.2	8→4	69
6.2	9→4	65

V následujícím grafu jsou porovnány procentuální zastoupení vody v hydrogelech se změněným a nezměněným pH (Obr. 42). Změna hodnoty pH způsobila u všech hydrogelů ztrátu vody, jediným rozdílem jsou krajní studované hodnoty, tedy gely původně připravené při pH 4 a 9. Tyto hydrogely zaznamenaly naopak mírný vzestup v zastoupení vody. Jak je zřejmé, tak pro použití například ve zdravotnictví se i podle tohoto grafu jeví hydrogely vytvořené při pH okolo 7. Tyto hydrogely se vyznačují nejvyšším množstvím absorbované vody a tento fakt nemění ani změny pH prostředí. Z pohledu množství absorbované vody se nejhůře jeví hydrogely vytvořené při pH hodnotě okolo 9.



Obr. 42: Graf porovnávající procentuální zastoupení vody ve vzorcích původní řady a se změněnou hodnotou pH.

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo studium hydrogelů připravovaných interakcí polyelektrolytu s tenzidem při různých hodnotách pH a vlivu změny pH na tyto hydrogely. Získané výsledky byly porovnávány mezi hydrogely beze změny pH a se změnami pH. Jako vhodný studovaný systém se ze zkušeností a publikací skupiny BioKol jevil systém hyaluronan–Septonex.

Pro sledování změn pH ve fázově separovaných hydrogelech byly dle řešerše a prvotních testů zvoleny čtyři spektroskopické indikátory, methylořanž, methylčerven, bromthymolová modř a fenolftalein. K vizuální charakterizaci také pomohly testy provedené s olejovou červení O. Pro charakterizaci vytvořených gelů byla použita metoda reologie. Jako pomocná technika k charakterizaci byly provedeny i prvotní termogravimetrické analýzy.

Tato práce obsahem navazuje na předchozí bakalářskou práci zabývající se vlivem podmínek na tvorbu hydrogelů. Z této práce a řešerše zabývající se pH v lidském těle byl vybrán rozsah studia pH na 4–9. Ihned po přípravě těchto hydrogelů bylo zřejmé, že hodnota pH při přípravě má velký vliv na mechanické vlastnosti a množství vytvořeného gelu. Zvláštním případem byl vzorek připravený při pH 9, který měl výrazně odlišné mechanické vlastnosti oproti ostatním gelům.

Mezi prvními provedenými experimenty byly testy dokazující, že změnou pH disperzního prostředí dochází k poměrně rychlé změně mechanických vlastností hydrogelů. Tyto skutečnosti jsou přehledně dokumentovány obrázky (*Obr. 14, Obr. 15, Obr. 16, Obr. 17, Obr. 18 a Obr. 19*). Těmito testy bylo také dokázáno, že tyto změny jsou proveditelné jak z alkalického prostředí na kyselé, tak i v opačném směru.

Spektroskopickými indikátory byla studována jejich propustnost strukturou gelů. Samotné probarvení přinášelo informace o hodnotách pH uvnitř hydrogelů. Bylo dokázáno, že vnitřní prostředí všech hydrogelů korelovalo s hodnotou pH roztoku, ve kterém byly hydrogely připravovány. Ovšem horší propustnost vykazoval vzorek připravený při pH 9. U tohoto vzorku indikátor nedokázal prostoupit do všech částí hydrogelu. Proto bylo na tento experiment navázáno studiem stejného problému v menších kyvetách, které zaručovaly lepší pozorovatelnost prostupu indikátoru skrz hydrogel. V průběhu tří týdnů byly tyto kyvety pozorovány a bylo dokázáno, že prostupu indikátoru brání struktura hydrogelu vytvořeného při pH 9 a při poskytnutí více času, by došlo k úplnému probarvení hydrogelu.

Solubilizace byla studována pomocí přídavku olejové červeně. Jelikož se jedná o hydrofobní barvivo, tak zabarvením všech hydrogelů byl potvrzen výskyt hydrofobních domén uvnitř hydrogelů. Výměnou pH disperzního prostředí a následnou čistotou supernatantu, bylo potvrzeno, že výměna hodnoty pH radikálně nemění strukturu hydrogelu. Po těchto zjištěních by se dalo uvažovat o těchto hydrogelech jako o potencionálních nosičích hydrofobních látek, které nebudou narušeny změnami hodnot pH například uvnitř lidského těla.

V kapitole 5.6 bylo reologickými testy představeno podrobné porovnání mechanických vlastností, všech gelů připravených při různých hodnotách a se změněnými hodnotami pH. První byly provedeny deformační testy, ze kterých byly získány LVO všech gelů a průměrné hodnoty elastických a viskózních modulů této oblasti. Dle těchto hodnot, které byly zaznamenány v *tabulce 4* se jako nejměkčí jeví hydrogely připravené při pH 4, které měly hodnoty velmi blízké až totožné se vzorky připravenými při pH 6 a 7, a naopak nejtvrďší

hydrogely připravené při pH 9. Dále bylo možné z těchto dat předurčit množství vytvořeného gelu. Tedy dle těchto výsledků gel vytvořený při pH 9 se sestával z největšího množství gelu, a naopak nejmenšího množství absorbované vody. Naopak gel připravený při pH 7 se sestával z největšího množství absorbované vody. Tyto výsledky byly dále potvrzeny termogravimetrickou analýzou.

Stejná tabulka byla sestavena i pro gely se změněnými hodnotami pH (*Tabulka 5*). Z těchto dat vyplynulo, že vzorky, kterým byla hodnota pH změněna na pH 9, měly všechny stejně silné vazby, ale tyto vazby byly slabší než vazby vzorku prvotně připraveného při pH 9. Naopak vzorky, kterým byla vyměněna hodnota pH na 4 měly všechny stejně silné vazby jako vzorek připravený při pH 4. Jediným rozdílem byl vzorek připravený při pH 7, který měl vazby o něco málo slabší.

Detailnější průzkum viskoelastického chování těchto hydrogelů byl proveden frekvenčními testy. Po porovnání všech hodnot bodů překřížení elastických a viskózních modulů bylo zjištěno, že vzorek připravený při pH 7 měl největší vzdálenosti mezi jednotlivými uzly, které stabilizují strukturu. To ho předurčuje k nejlepší a nejjednodušší absorpci vody. Naopak pro hydrogel připravený při pH 9 nedošlo k protnutí elastického a viskózního modulu. Ovšem podle jejich trendu by se dalo předpokládat, že jejich bod překřížení, by se dal změřit při mnohem nižších frekvencích oscilací. U tohoto hydrogelu značně převládal elastický modul a vzdálenost mezi jednotlivými uzly je mnohem menší než u ostatních gelů. Proto měl tento hydrogel velmi malou propustnost pro vodu. Tyto všechny závěry byly potvrzeny termogravimetrickými testy, u kterých hydrogel připravený při pH 7 absorboval největší množství vody, a naopak hydrogel připravený při pH 9 zase množství nejmenší. V tomto směru, se hydrogel připravený při pH 9, jeví jako ideální kandidát pro aplikaci nosiče s prodlouženým uvolňováním látek, například léčiv.

Po zaznamenání bodů překřížení elastického a viskózního modulu pro vzorky s vyměněnou hodnotou na pH 4, bylo dokázáno, že změnou hodnoty pH, došlo k posunu bodů překřížení. Tyto hodnoty však nebyly totožné s hodnotami, které byly získány pro vzorky připravené při pH 4. To dokazuje, že změnou hodnoty pH dochází ke změně mechanických vlastností hydrogelů, ale zároveň nedochází k vytvoření kopií vzorků k hydrogelům připraveným při pH 4. To stejné platí i pro vzorky, kterým byla hodnota pH zaměněna za 9. Tyto tvrzení popisují i grafy závislosti ztrátových úhlů na úhlové rychlosti, kde jsou tyto závěry lépe pozorovatelné.

Posledními testy reologických měření byly tokové testy. Nezávisle na hodnotě pH při přípravě nebo výměně hodnoty pH posléze, všechny vzorky vykazovaly pseudoplastické chování. Na základě těchto testů lze říci, že hodnota pH má vliv na viskozitu vzorku. V průběhu měření a při vyšších smykových rychlostech se ovšem všechny vzorky blížily podobné viskozitě. Při porovnání tokových křivek pro vzorky se změněnou hodnotou pH na 4 a pro vzorek připravený při pH 4, vyšlo najevo, že všechny vzorky, kromě vzorku připraveném při pH 9, vykazují po změně pH velmi podobné vlastnosti jako gel připravený při pH 4. Hydrogel připravený při pH 9 ovšem vykazoval vyšší hodnoty viskozity po celou dobu měření. Vzorky, kterým bylo pH vyměněno na hodnotu 9, vykazují totožný průběh tokových křivek, jako gel připravený při pH 9. Při pH 9 dochází k silnější disociaci

hyaluronanu, a tak má více možností k interakci s tenzidem a tvorbě dokonalejšího viskoelastického materiálu.

V poslední kapitole byly diskutovány výsledky získané z termogravimetrické analýzy, které bohužel kvůli vyčerpání přístroje nemohly být zopakovány. Proto tyto výsledky slouží jen jako doplňující informace k ostatním experimentům.

Diplomová práce byla zaměřena na studium vlivu pH při přípravě fyzikálních hydrogelů a následné výměně hodnoty pH disperzního prostředí. Ze všech výsledků si je možné povšimnout, že hodnota pH při přípravě má vliv na mechanické vlastnosti hydrogelů. Úpravami pH lze měnit mechanické vlastnosti a vnitřní strukturu hydrogelů. To předurčuje aplikační možnosti těchto hydrogelů jak v kosmetickém průmyslu, tak v medicínských aplikacích, zejména jako nosičů léčiv. Proto by bylo přínosné lépe prozkoumat difúzi těchto hydrogelů.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] LAMBERS, H., S. PIESSENS, A. BLOEM, H. PRONK a P. FINKEL. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science*. 2006, 28(5), 359-370. DOI: 10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x. ISSN 0142-5463. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18489300>
- [2] FALLINGBORG, Jan. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Danish medical bulletin*. 1999, 46(3), 183-96. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10421978>
- [3] GARCÍA-CLOSAS, Montserrat, Rolando HERRERO, Concepción BRATTI, Allan HILDESHEIM, Mark E. SHERMAN, Lidia Ana MORERA a Mark SCHIFFMAN. Epidemiologic determinants of vaginal pH. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1999, 180(5), 1060-1066. DOI: 10.1016/S0002-9378(99)70595-8. ISSN 0002-9378. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10329856>
- [4] ALMOND, Andrew. Hyaluronan. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2007, 64(13), 1591-1596. DOI: 10.1007/s00018-007-7032-z. ISSN 1420-682X. Dostupné z: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00018-007-7032-z.pdf>
- [5] STERN, Robert. Devising a pathway for hyaluronan catabolism: are we there yet? *Glycobiology*. 2003, 13(12), 105-115R. DOI: 10.1093/glycob/cwg112. ISSN 0959-6658. Dostupné z: <https://academic.oup.com/glycob/article/13/12/105R/638350>
- [6] NEČAS, J., BARTOŠÍKOVÁ, L., BRAUNER, P., KOLÁŘ, J.: Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinární medicína*, 2008, 53(8), 397–411.
- [7] BALAZS, Endre A., Torvard C. LAURENT a Roger W. JEANLOZ. Nomenclature of hyaluronic acid. *Biochemical Journal*. 1986, 235(3), 903-903. DOI: 10.1042/bj2350903. ISSN 0264-6021. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1146774/>
- [8] CHONG, Barrie Fong, Lars M. BLANK, Richard MCLAUGHLIN a Lars K. NIELSEN. Microbial hyaluronic acid production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005, 66(4), 62-69. DOI: 10.1007/s00253-004-1774-4. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15599518>
- [9] LIU, Long, Yanfeng LIU, Jianghua LI, Guocheng DU a Jian CHEN. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microbial Cell Factories*. 2011, 10, 99. DOI: 10.1186/1475-2859-10-99. Dostupné z: <http://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-10-99>
- [10] SCOTT, John E.: Secondary Structures in Hyaluronan Solutions: Chemical and Biological Implications. *Ciba Foundation Symposium*, 1989, 143: 6-15. ISBN 9780471923053.
- [11] SCOTT, John. E.: Secondary and Tertiary Structures of Hyaluronan in Aqueous Solutions. Some Biological Consequences. *Glycoforum* [online], 1998, [cit. 5. 4. 2018], Dostupné z: <http://glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA02/HA02E.html>
- [12] GHATAK, Shibnath, Suniti MISRA a Bryan P. TOOLE. Hyaluronan Oligosaccharides Inhibit Anchorage-independent Growth of Tumor Cells by Suppressing the Phosphoinositide 3-Kinase/Akt Cell Survival Pathway. *Journal of*

- Biological Chemistry*. 2002, 277(41), 38013-38020. DOI: 10.1074/jbc.M202404200. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M202404200>
- [13] KOGAN, Grigorij, Ladislav ŠOLTÉS, Robert STERN a Peter GEMEINER. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology Letters*. 2007, 29(1), 17-25. DOI: 10.1007/s10529-006-9219-z. ISSN 0141-5492. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10529-006-9219-z>
- [14] STERN, Robert. Hyaluronan metabolism: a major paradox in cancer biology. *Pathologie Biologie*. 2005, 53(7), 372-382. DOI: 10.1016/j.patbio.2004.12.021. ISSN 0369-8114. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16085113>
- [15] ITANO, N, T SAWAI, M YOSHIDA, et al. Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *The Journal of biological chemistry*. 1999, 274(35), 25085-92. DOI: 10.1074/jbc.274.35.25085. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10455188>
- [16] DEANGELIS, P L, J PAPAConstantinou a P H WEIGEL. Molecular cloning, identification, and sequence of the hyaluronan synthase gene from group A *Streptococcus pyogenes*. *The Journal of biological chemistry*. 1993, 268(26), 19181-84. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8366070>
- [17] RAH, Marjorie J. A review of hyaluronan and its ophthalmic applications. *Optometry - Journal of the American Optometric Association*. 2011, 82(1), 38-43. DOI: 10.1016/j.optm.2010.08.003. ISSN 1529-1839. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1529183910005129>
- [18] MAYTIN, Edward V. Hyaluronan: More than just a wrinkle filler. *Glycobiology*. 2016, 26(6), 553-559. DOI: 10.1093/glycob/cww033. ISSN 0959-6658. Dostupné z: <https://academic.oup.com/glycob/article/26/6/553/2363227?searchresult=1>
- [19] ALTMAN, R D, A MANJOO, A FIERLINGER, F NIAZI a M NICHOLLS. The mechanism of action for hyaluronic acid treatment in the osteoarthritic knee: a systematic review. *BMC musculoskeletal disorders*. 2015, 16, 321. DOI: 10.1186/s12891-015-0775-z. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4621876/>
- [20] COLLINS, Maurice N. a Colin BIRKINSHAW. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydrate Polymers*. 2013, 92(2), 1262-1279. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.10.028. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861712010478>
- [21] ROSEN, Milton J. a Joy T. KUNJAPPU. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 4th ed. New Jersey (USA): WILEY, 2012. ISBN 978-0470541944.
- [22] SALANGER, J-L.: *Surfactants: Types and Uses*. Mérida – Venezuela, Universidad de Los Andes, 2002.
- [23] RANGEL-YAGUI Carlota Oliveira, Adalberto PESSOA, Leoberto Costa TAVARES. Micelle solubilization of drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005, 8(2), 147-163.

- [24] Dispersing Process: Surfactants [online]. [cit. 2018-03-28]. Dostupné z: www.inkline.gr/inkjet/newtech/tech/dispersion/
- [25] STRNADALOVÁ, H., KVÍTEK, L.: Vliv pufru na tvorbu micel vybraných povrchově aktivních látek. *Chemické listy*. 2009, 103, 315–319.
- [26] BARTOVSKÁ, Lidmila, ŠÍŠKOVÁ, Marie: Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2005, ISBN 80-7080-579-X.
- [27] PETR, Klára, Pavel JAC, Martina SINDELKOVA a Miroslav POLASEK. Determination of carbethopendecinium bromide in eye drops by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Journal of Separation Science*. 2011, 34(10), 1174-1179. DOI: 10.1002/jssc.201000787. ISSN 16159306. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21416604>
- [28] Carbethopendecini bromidum. Český lékopis 1997 [online]. [cit. 2018-04-24]. Dostupné z: http://www.lekopis.cz/Kap_6_1_Carbethopendecini_bromidum.
- [29] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*. 2015, 6(2), 105-121. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006. ISSN 2090-1232. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123213000969#b0035>
- [30] BEAUDOIN, Alexandre. New Technique for Revealing Latent Fingerprints on Wet Porous Surfaces: Oil Red O. *Journal of Forensic Identification*. 2004, 54 (4), 413-421. Dostupné z: <http://alexandre.beaudoin.net/publicationJFIVol54no4.pdf>
- [31] Sigma-Aldrich: Oil Red O [online]. Darmstadt (Německo) [cit. 2018-03-20]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/oilredo4084913200651?lang=en&ion=CZ>
- [32] HOLMBERG, Krister, Bo JÖNSSON, Bengt KRONBERG a Björn LINDMAN. Surfactants and Polymers in a Aqueous Solution. 2nd ed. Chichester: Wiley, 2002. ISBN 0-471-49883-1
- [33] POUCHLÝ, Julius: Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav, 2. vyd Praha: VŠCHT Praha, 2001, ISBN 80-7080-422-X.
- [34] ONLINE ETYMOLOGY DICTIONARY [online]. [cit. 2018-02-27]. Dostupné z: https://www.etymonline.com/word/jell?ref=etymonline_crossreference
- [35] NOVÁK, J. Fyzikální chemie bakalářský a magisterský kurz. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2011.
- [36] SCHERER, G. Structure and properties of gels. 1999. DOI: 10.1016/S0008-8846(99)00003-4. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008884699000034>
- [37] H. GULREZ, S. a S. AL-ASSAF, G. O. PHILLIPS Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. 2011. ISBN: 9533072687.
- [38] ZHAO, W, X JIN, Y CONG, Yy LIU a J FU. Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering. *Journal Of Chemical Technology And Biotechnology*. 2013, 88(3), 327-339. DOI: 10.1002/jctb.3970. ISSN 0268-2575. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.3970>
- [39] The Society of Rheology [online]. 1997, poslední revize 10. ledna 2016 [cit. 2018-01-13]. Dostupné z: <http://www.rheology.org/sor/info/default.htm>

- [40] MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. A Basic Introduction to Rheology [online]. Worcestershire: Malvern Instruments, 2016 [cit. 2018-01-13]. Dostupné z: <http://cdn.technologynetworks.com/TN/Resources/PDF/WP160620BasicIntroRheology.pdf>
- [41] Introduction to rheology: Basics [online]. V2.1. Ottendorf-Okrill, Germany: RheoTec Messtechnik GmbH [cit. 2018-02-02]. Dostupné z: <http://www.dongjins.com/service/file/Introduction%20to%20rheology.pdf>
- [42] BARNES, Howard A., J.F. HUTTON a K. WALTERS. An Introduction to Rheology. Amsterdam: Elsevier Science B.V., c1989,. ISBN 0 444 87140 3.
- [43] BARNES, Howard A. *A Handbook of Elemental Rheology*. Aberystwyth: The University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, University of Wales Aberystwyth, 2000. ISBN 0-9538032-0-1.
- [44] Brummer, R.: *Rheology Essentials of Cosmetic and Food Emulsions*, Berlin: Birkhäuser; 2006, ISBN 3-540-25553-2.
- [45] ESHTIAGHI, Nicky, Flora MARKIS, Shao Dong YAP, Jean-Christophe BAUDEZ a Paul SLATTER. Rheological characterisation of municipal sludge: A review. *Water Research*. 2013, 47(15), 5493-5510. DOI: 10.1016/j.watres.2013.07.001. ISSN 0043-1354. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135413005629>
- [46] SCHRAMM, Gebhard. *A Practical Approach to Rheology and Rheometry*. Karlsruhe: HAAKE, 1994, 290 s.
- [47] CHEN, D. T. N., Q. WEN, P. A. JANMEY, J. C. CROCKER, A. G. YODH. Rheology of Soft Materials. *Matter Physics*. 2010, 1, 301-322. DOI: 10.1146/annurev-conmatphys-070909-104120. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/eprint/XBf3uWgZexaxPWQFxmZ/full/10.1146/annurev-conmatphys-070909-104120>.
- [48] MEZGER, T. G. *The Rheology Handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*. 3rd rev. ed. Hanover [Germany]: Vincentz Network, 2011. ISBN 978386630-864-0.
- [49] THALBERG, K. a B. LINDMAN. Interaction between hyaluronan and cationic surfactants. *Journal of Physical Chemistry*. 1989, 93(4), 1478-1483. DOI: 10.1021/j100341a058. ISSN 00223654. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100341a058>
- [50] THALBERG, K., B. LINDMAN a G. KARLSTRÖM. Phase behavior of systems of cationic surfactant and anionic polyelectrolyte: Influence of surfactant chain length and polyelectrolyte molecular weight. *Journal of Physical Chemistry*. 1991, 95(8), 3370-3376. DOI: 10.1021/j100161a073. ISSN 00223654. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100161a073>
- [51] JARÁBKOVÁ, S. *Hydrogely na bázi kladně nabitých polyelektrolytů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 91 s. Vedoucí diplomové práce prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.

- [52] VELCER, T. Hyaluronanové hydrogely na bázi CTAT. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 102 s. Vedoucí diplomové práce prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc..
- [53] KÁBRTOVÁ, P. Pokročilé mikroreologické techniky ve výzkumu hydrogelů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 63 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D..
- [54] JANČA, D. Rezonanční přenos energie v prostředí hydrogelové matrice. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 60 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D.
- [55] HOLUBOVÁ, A. Difúze organických molekul v hydrogelovém prostředí. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 68 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D.
- [56] VENEROVÁ, Tereza a Miloslav PEKAŘ. Rheological properties of gels formed by physical interactions between hyaluronan and cationic surfactants. *Carbohydrate Polymers*. 2017, 170, 176-181. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.04.087. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28521984>
- [57] PILGROVÁ, Tereza, Tereza VENEROVÁ, Filip MRAVEC a Miloslav PEKAŘ. Interactions of hyaluronan with oppositely charged surfactants in very diluted solutions in water. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, 112, 241-249. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.176. ISSN 0141-8130. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29391230>
- [58] KROUSKÁ, J., M. PEKAŘ, M. KLUČÁKOVÁ, B. ŠARAC a M. BEŠTER-ROGAČ. Study of interactions between hyaluronan and cationic surfactants by means of calorimetry, turbidimetry, potentiometry and conductometry. *Carbohydrate Polymers* 2017, 157, 1837-1843. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.069. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27987902>
- [59] SAUEROVÁ, Pavla, Martina VERDÁNOVÁ, Filip MRAVEC, Tereza PILGROVÁ, Tereza VENEROVÁ, Marie HUBÁLEK KALBÁČOVÁ a Miloslav PEKAŘ. Hyaluronic acid as a modulator of the cytotoxic effects of cationic surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2015, 483, 155-161. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2015.06.058. ISSN 0927-7757. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775715300741>
- [60] MOURYCOVÁ, J., K.K.R. DATTA, A. PROCHÁZKOVÁ, M. PLOTĚNÁ, V. ENEV, J. SMILEK, J. MÁŠILKO a M. PEKAŘ. Facile synthesis and rheological characterization of nanocomposite hyaluronan-organoclay hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, 111, 680-684. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.068. ISSN 0141-8130. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017343404>
- [61] VULPE, Raluca, Didier LE CERF, Virginie DULONG, Marcel POPA, Catalina PEPTU, Liliana VERESTIUC a Luc PICTON. Rheological study of in-situ crosslinkable hydrogels based on hyaluronan acid, collagen and sericin. *Materials Science & Engineering C*. 2016, 69, 388-397. DOI: 10.1016/j.msec.2016.07.003. ISSN 0928-4931. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27612727>

- [62] BALLIOS, Brian g., Michael j. COOKE, Laura DONALDSON, Brenda I.K. COLES, Cindi m. MORSHEAD, Derek VAN DER KOOY a Molly s. SHOICHET. A Hyaluronan-Based Injectable Hydrogel Improves the Survival and Integration of Stem Cell Progeny following Transplantation. *Stem Cell Reports*. 2015, 4(6), 1031-1045. DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.04.008. ISSN 2213-6711. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25981414>
- [63] CATANZANO, O., V. D'ESPOSITO, S. ACIERNO, et al. Alginate–hyaluronan composite hydrogels accelerate wound healing process. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 131, 407-414. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.081. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715005159>
- [64] GIRI, Tapan Kumar, Amrita THAKUR, Amit ALEXANDER, Hemant AJAZUDDIN, Dulal Krishna BADWAIK a Dulal Krishna TRIPATHI. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012, 2(5), 439-449. DOI: 10.1016/j.apsb.2012.07.004. ISSN 2211-3835. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383512001153?via%3Dihub>
- [65] CHATTERJEE, Sudipta, Tania CHATTERJEE a Seung H. WOO. A new type of chitosan hydrogel sorbent generated by anionic surfactant gelation. *Bioresource Technology*. 2010, 101(11), 3853-3858. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.12.089. ISSN: 0960-8524. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852409017544>
- [66] DEEPTHI, S, C VIHA, Chaochai THITIRAT, Tetsuya FURUIKE, Hiroshi TAMURA a Rangasamy JAYAKUMAR. Fabrication of Chitin/Poly(butylene succinate)/Chondroitin Sulfate Nanoparticles Ternary Composite Hydrogel Scaffold for *Skin Tissue Engineering*. *Polymers*. 2014, 6(12), 2974-2984. DOI: 10.3390/polym6122974. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/6/12/2974>
- [67] NILSEN-NYGAARD, Julie, Sabina STRAND, Kjell VÅRUM, Kurt DRAGET a Catherine NORDGÅRD. Chitosan: Gels and Interfacial Properties. *Polymers*. 2015, 7(3), 552-579. DOI: 10.3390/polym7030552. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/7/3/552>
- [68] THONGNGAM, Masubon a D. Julian MCCLEMENTS. Characterization of Interactions between Chitosan and an Anionic Surfactant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, 52(4), 987-991. DOI: 10.1021/jf034429w. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf034429w>
- [69] NICHIFOR, Marieta, Margarida BASTOS, Sonia LOPES a Antonio LOPES. Characterization of aggregates formed by hydrophobically modified cationic dextran and sodium alkyl sulfates in salt-free aqueous solutions. *The journal of physical chemistry. B*. 2008, 112(49), 15554. DOI: 10.1021/jp802543s. ISSN 1520-6106. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19367820>
- [70] SALIMI-KENARI, Hamed, Faeze MOLLAIE, Erfan DASHTIMOGHADAM, Mohammad IMANI a Bo NYSTRÖM. Effects of chain length of the cross-linking agent on rheological and swelling characteristics of dextran hydrogels. *Carbohydrate*

- Polymers*. 2018, 181, 141-149. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.056. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861717312122>
- [71] ALIBOLANDI, Mona, Marzieh MOHAMMADI, Seyed Mohammad TAGHDISI, Khalil ABNOUS a Mohammad RAMEZANI. Synthesis and preparation of biodegradable hybrid dextran hydrogel incorporated with biodegradable curcumin nanomicelles for full thickness wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017, 532(1), 466-477. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.09.042. ISSN 0378-5173. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517317309080>
- [72] LIU, L., X. LI, M. NAGAO, A.L. ELIAS, R. NARAIN a H.-J. CHUNG. A pH-Indicating colorimetric tough hydrogel patch towards applications in a substrate for smart wound dressings. *Polymers*. 2017, 9(11). DOI: 10.3390/polym9110558. ISSN 20734360.
- [73] LEE, Yu-Kyoung a Sang-Yup LEE. A colorimetric alginate-catechol hydrogel suitable as a spreadable pH indicator. *Dyes and Pigments*. 2014, 108, 1-6. DOI: 10.1016/j.dyepig.2014.04.014. ISSN 0143-7208. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143720814001429>
- [74] ZAGGOUT, Farid R., Nizam M. EL-ASHGAR, Shehata M. ZOURAB, Issa M. EL-NAHHAL a Hanan MOTAWEH. Encapsulation of methyl orange pH-indicator into a sol-gel matrix. *Materials Letters*. 2005, 59(23), 2928-2931. DOI: 10.1016/j.matlet.2005.04.046. ISSN 0167-577X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167577X05004374>
- [75] EL-NAHHAL, Issa, Jacques LIVAGE, Shehata ZOURAB, Fawzi KODEH a Asma AL SWEARKY. Entrapment of phenol red (PR) pH indicator into sol-gel matrix in presence of some surfactants. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 2015, 75(2), 313-322. DOI: 10.1007/s10971-015-3702-8. ISSN 0928-0707. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10971-015-3702-8>
- [76] HEGER, R. Vliv podmínek na tvorbu hydrogelů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 44 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Filip Mravec, Ph.D..

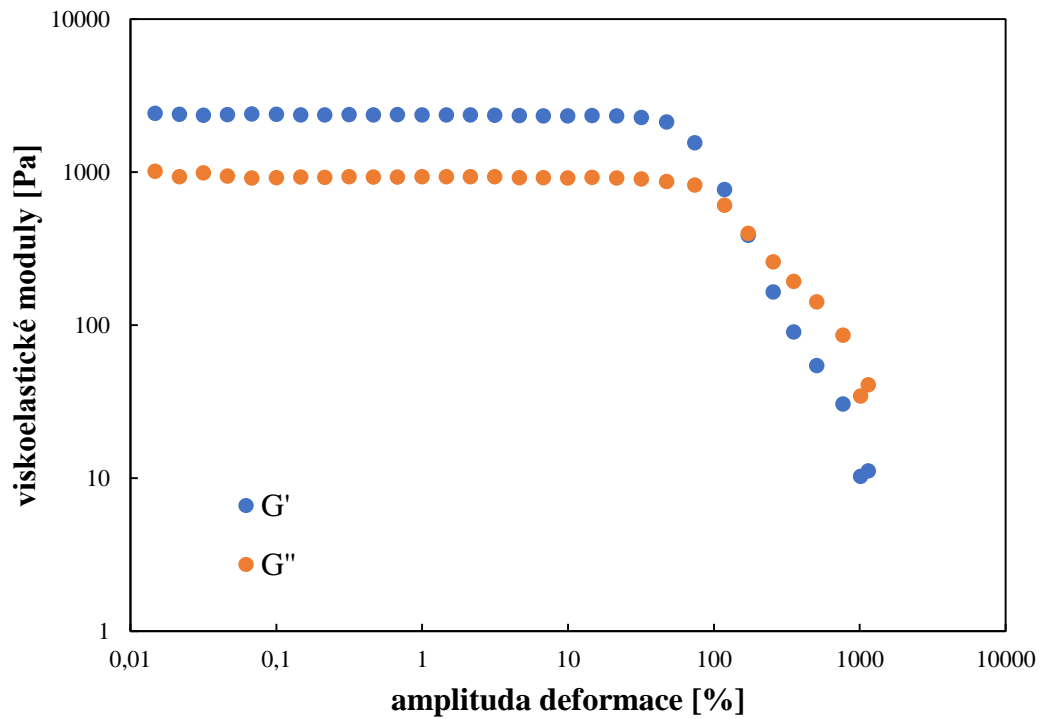
8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Hya	hyaluronan
CMC	kritická micelární koncentrace
PAL	povrchově aktivní látka
GAG	glykosaminoglykan
CTAB	cetyltrimethylamoniumbromid
LVO	lineární viskoelastická oblast
TTAB	tetradecyltrimethylamoniumbromid
CAC	kritická agregační koncentrace

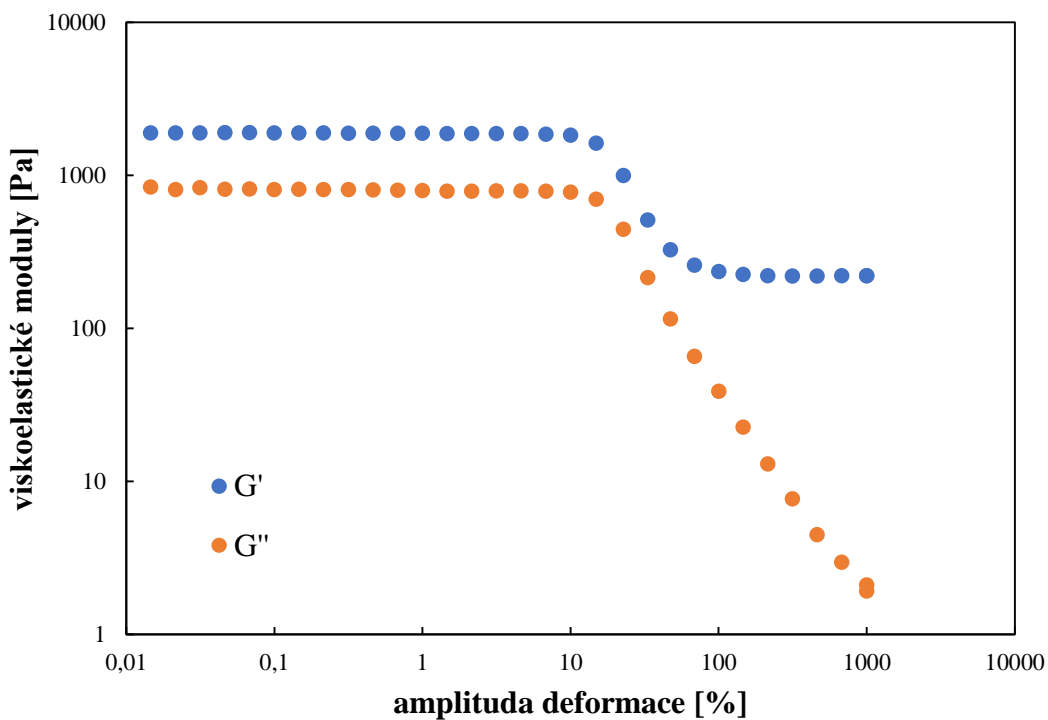
9 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ

$\dot{\gamma}$	smyková rychlost
v	rychlost
h	vzdálenost
η	dynamická viskozita
ρ	hustota
σ	smykové napětí
F	síla
A	plocha
G'	elastický (paměťový) modul
G''	viskózní (ztrátový) modul
G^*	komplexní smykový modul
δ	ztrátový úhel
f	frekvence oscilací
ν	kinematická viskozita
M_w	molekulární hmotnost, z anglického molecular weight

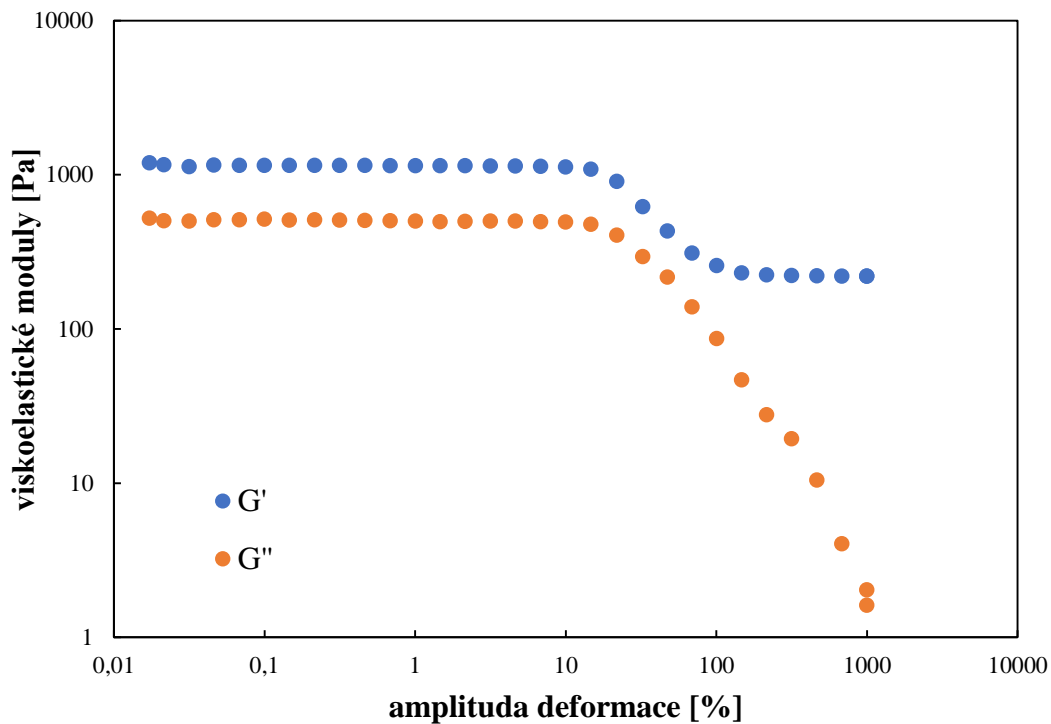
10 PŘÍLOHY



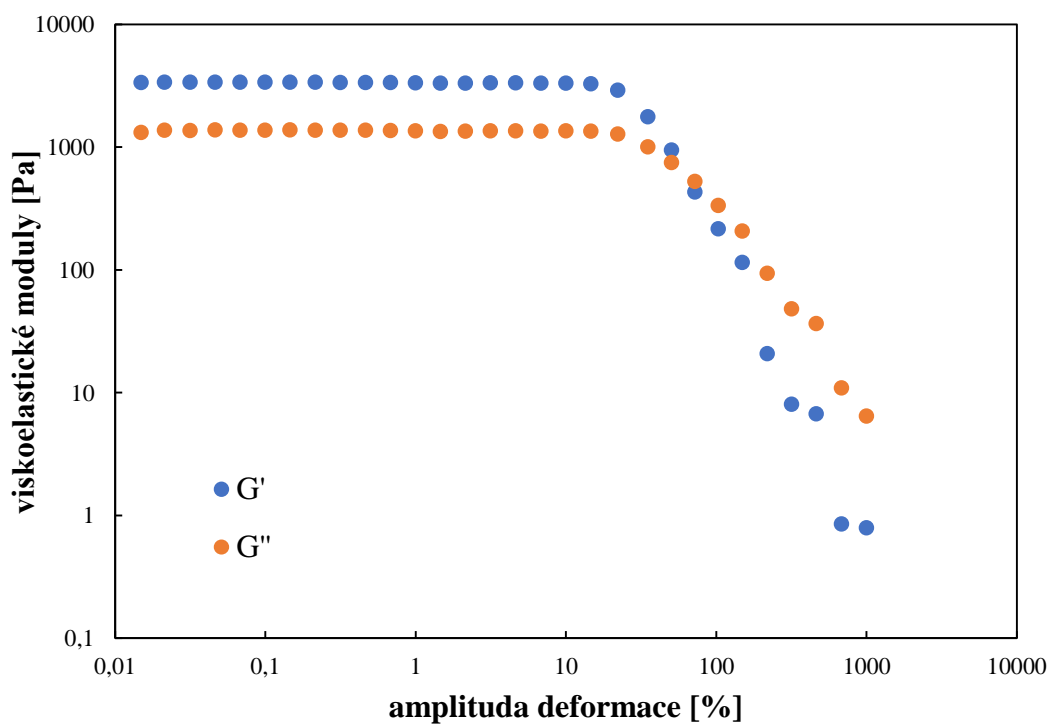
Obr. 43: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 4.



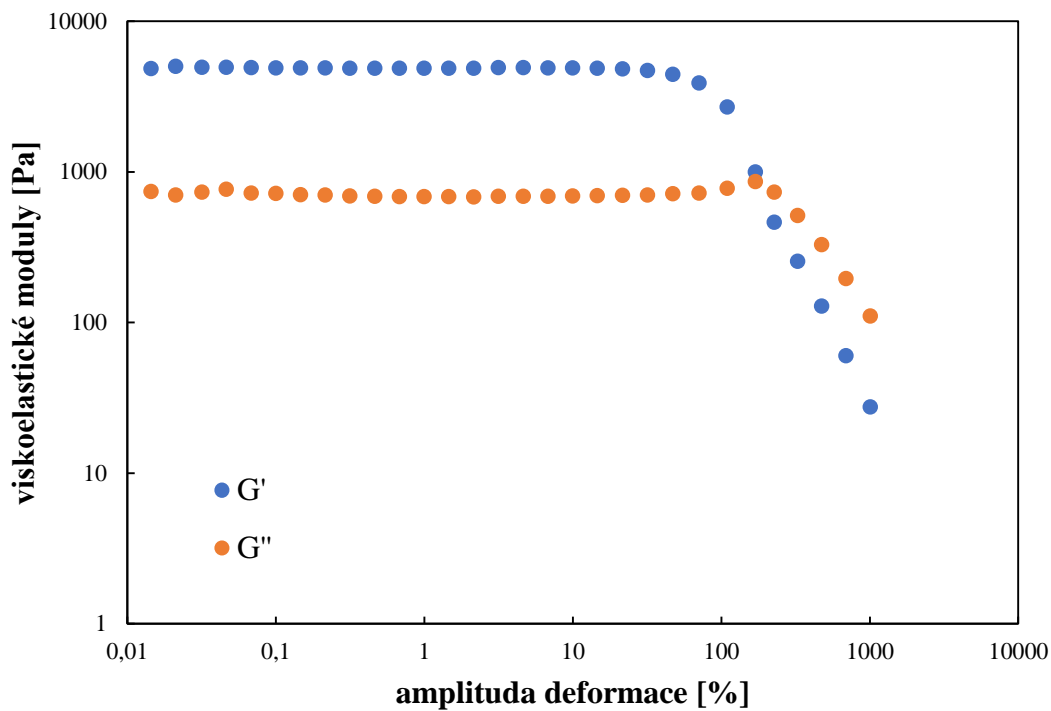
Obr. 44: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 6.



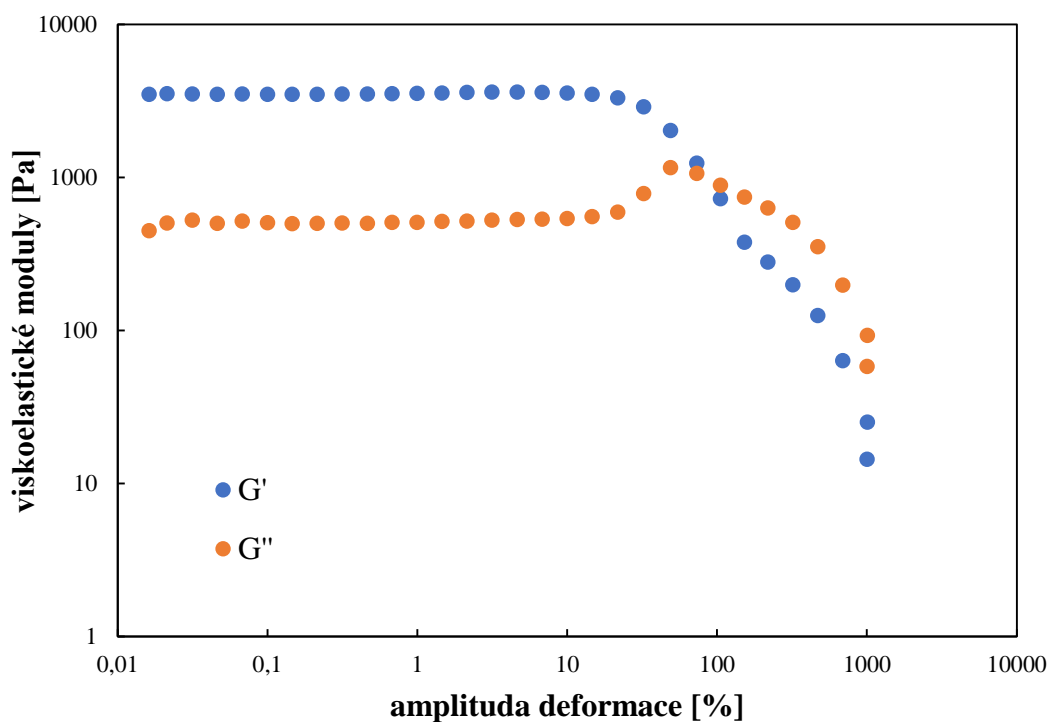
Obr. 45: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 7



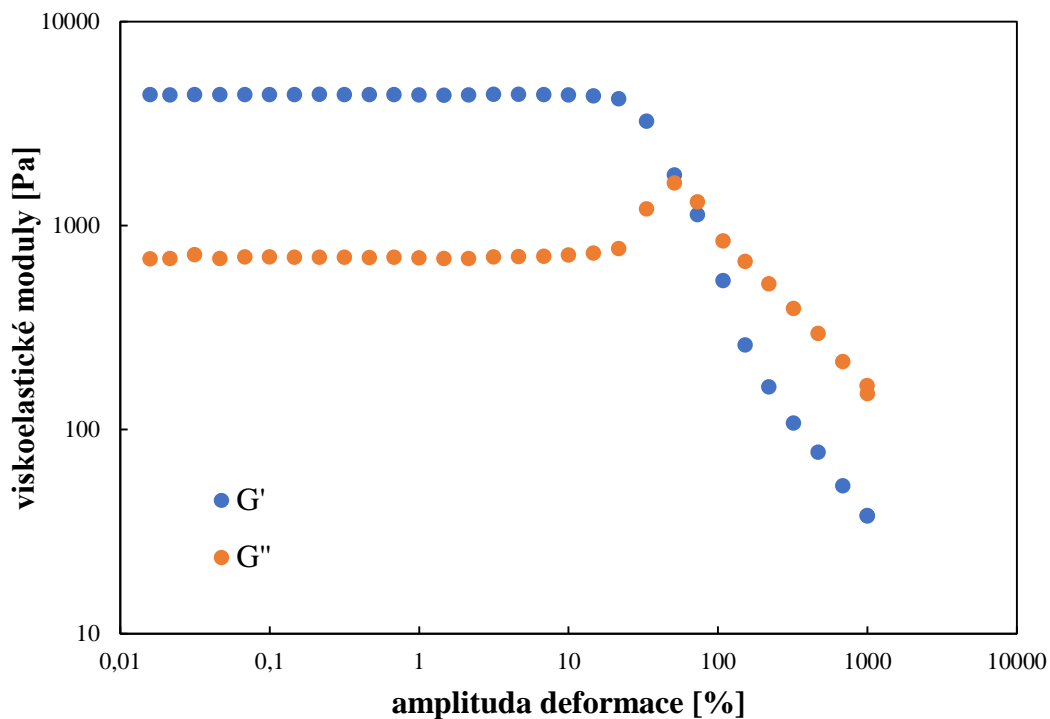
Obr. 46: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 8.



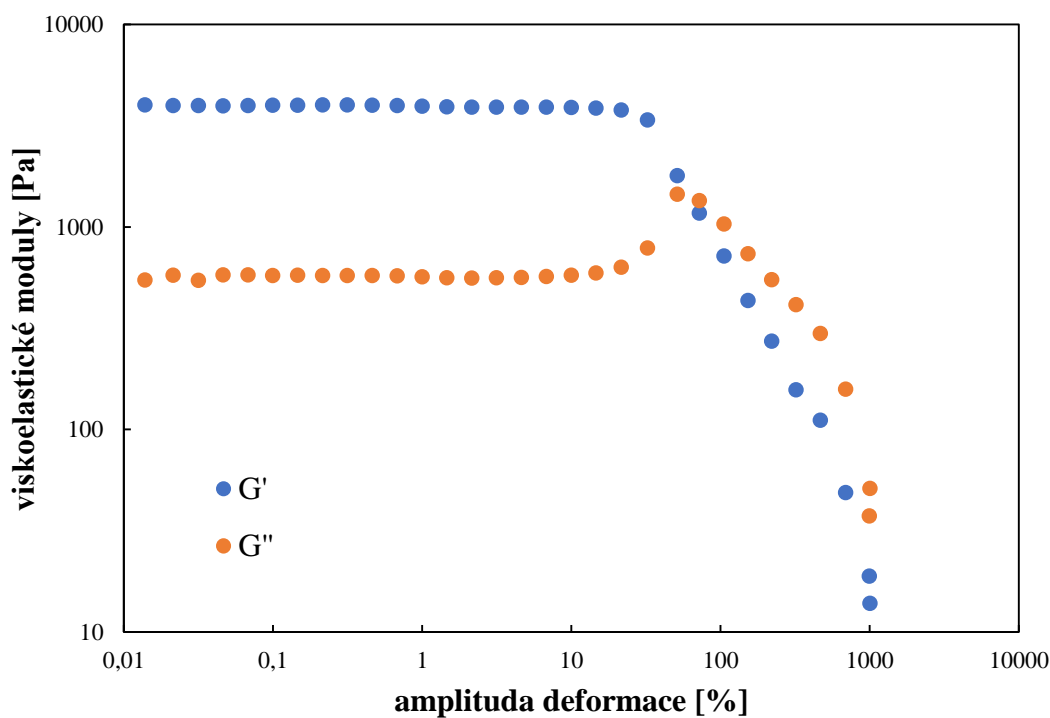
Obr. 47: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 9.



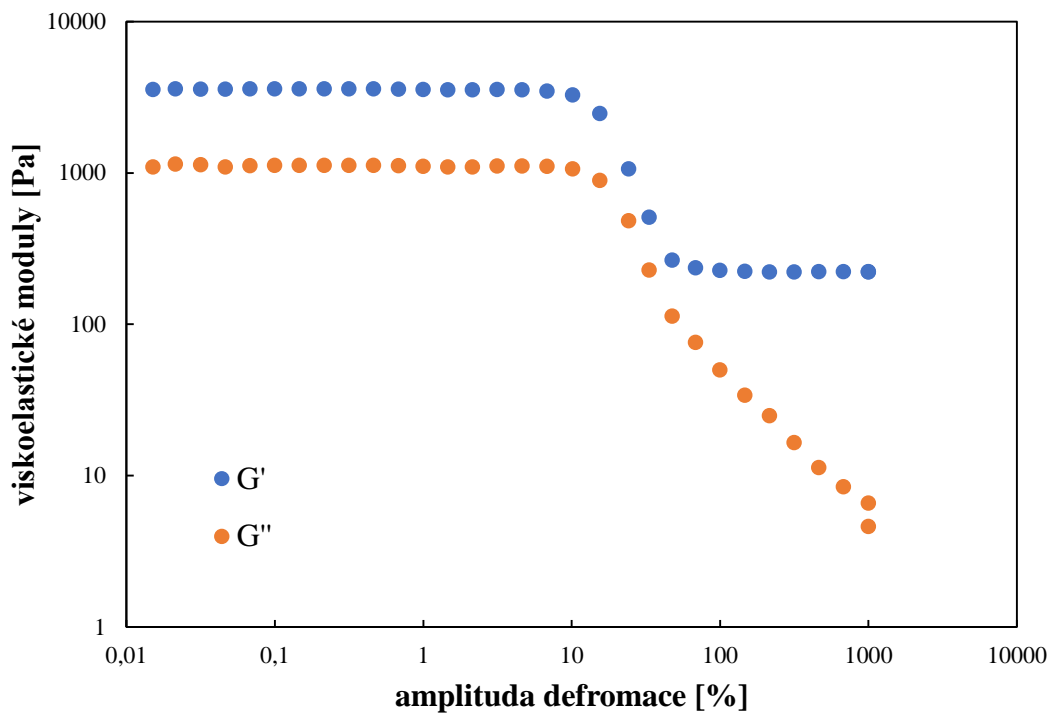
Obr. 48: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 4 a změněnou hodnotu pH na 9.



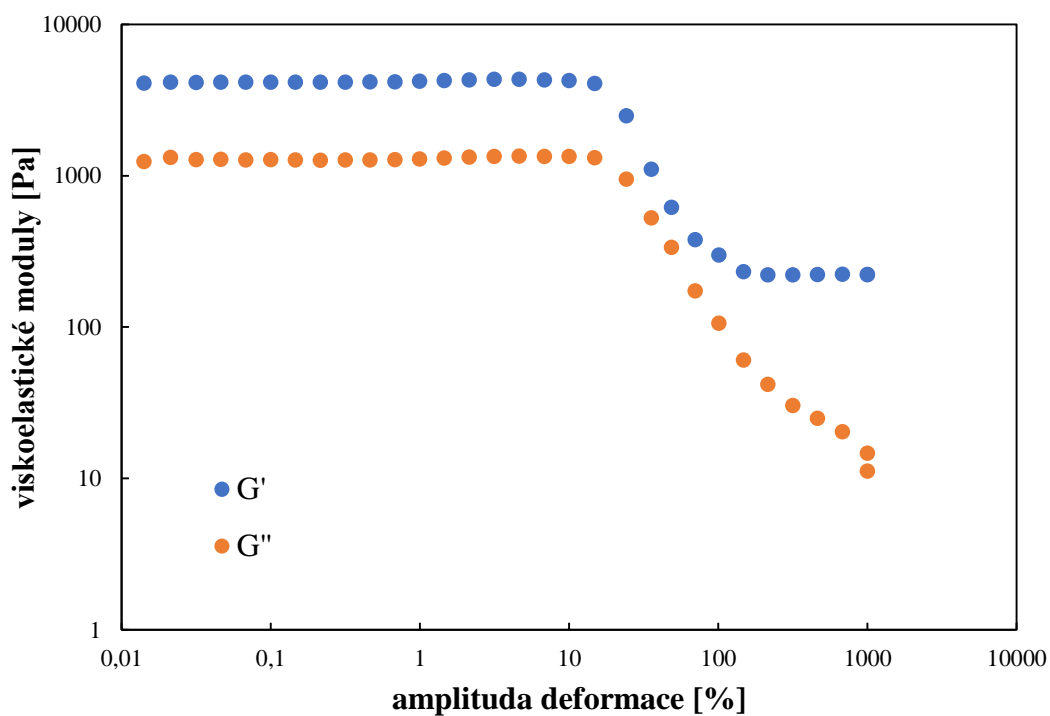
Obr. 49: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 5 a změněnou hodnotu pH na 9.



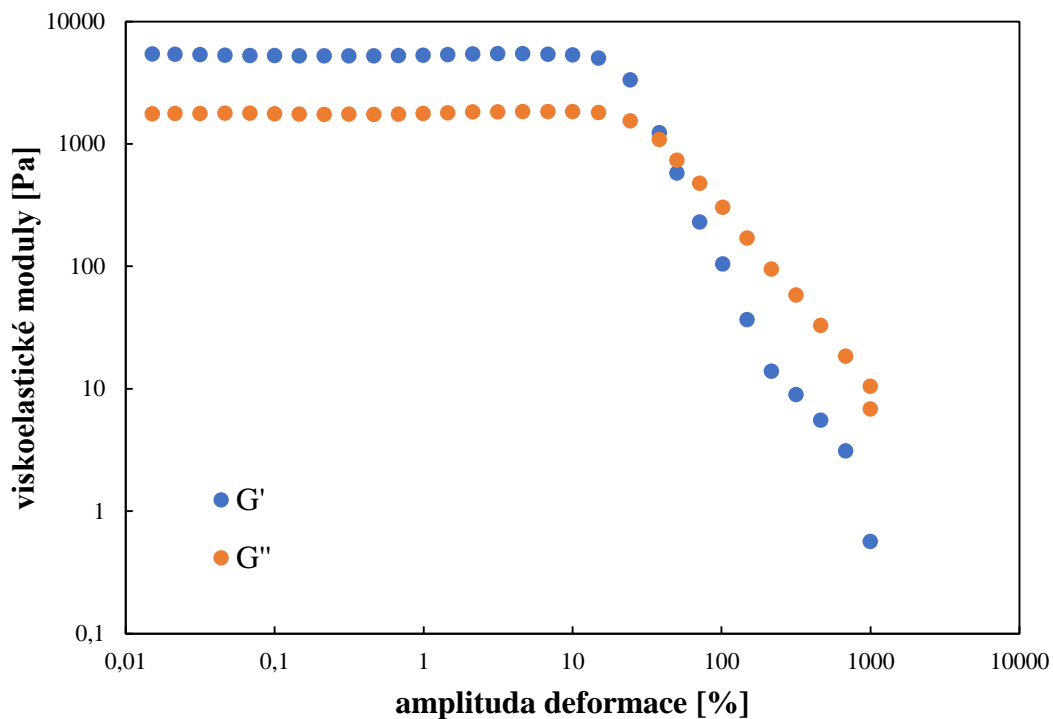
Obr. 50: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 6 a změněnou hodnotu pH na 9.



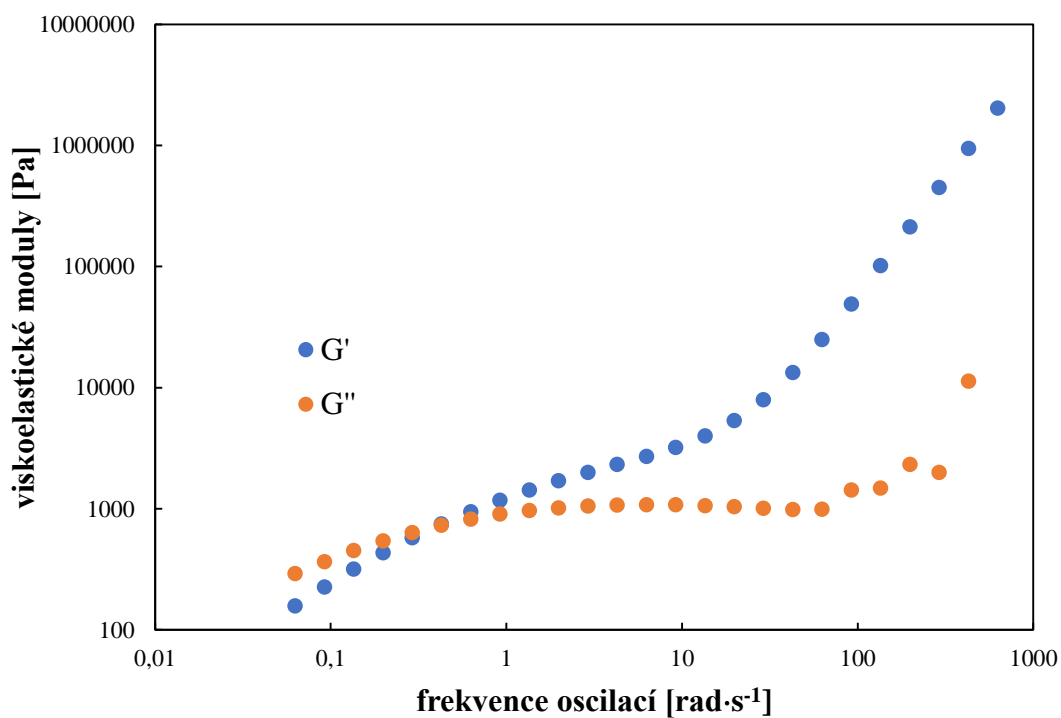
Obr. 51: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 7 a změněnou hodnotu pH na 4.



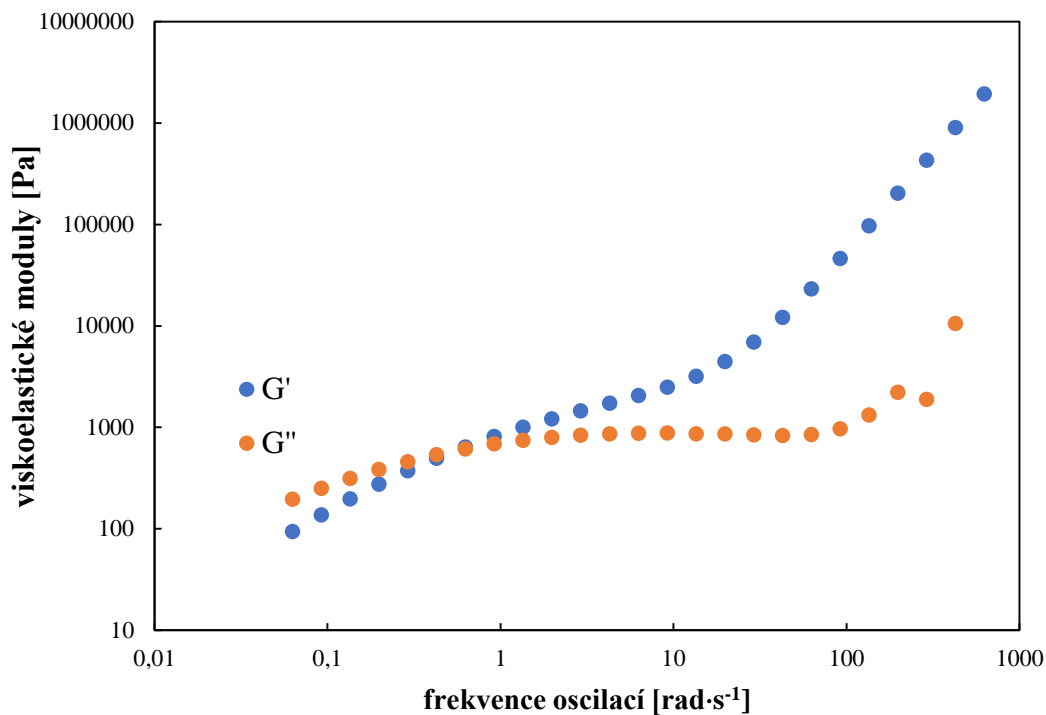
Obr. 52: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 8 a změněnou hodnotu pH na 4.



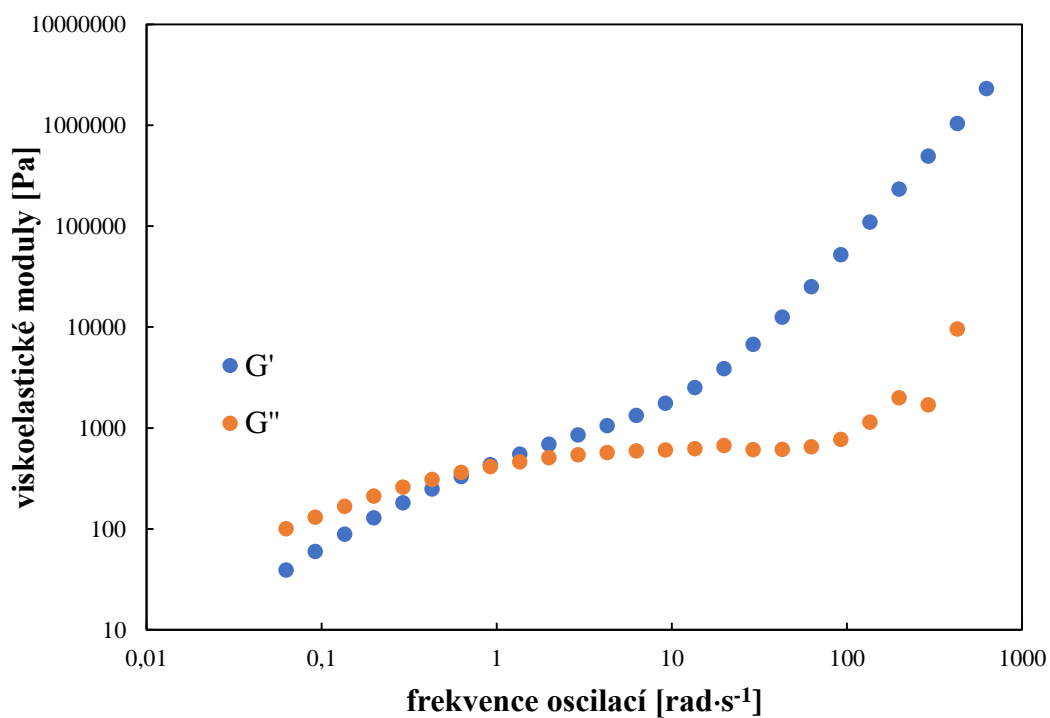
Obr. 53: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro vzorek připravený při pH 9 a změněnou hodnotu pH na 4.



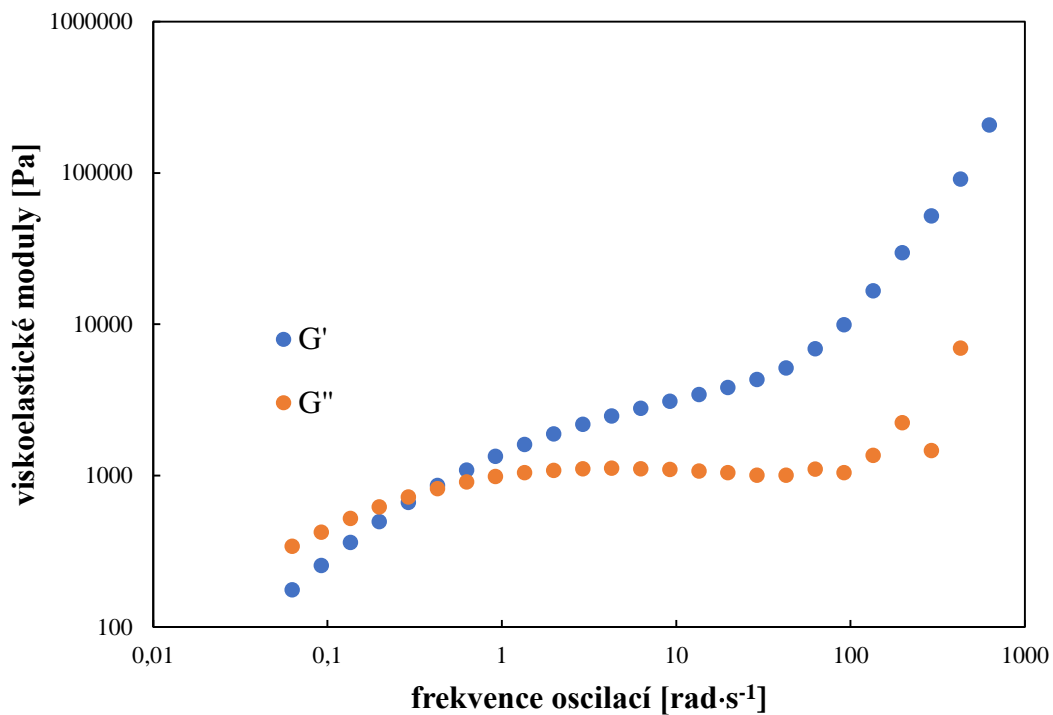
Obr. 54: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 5.



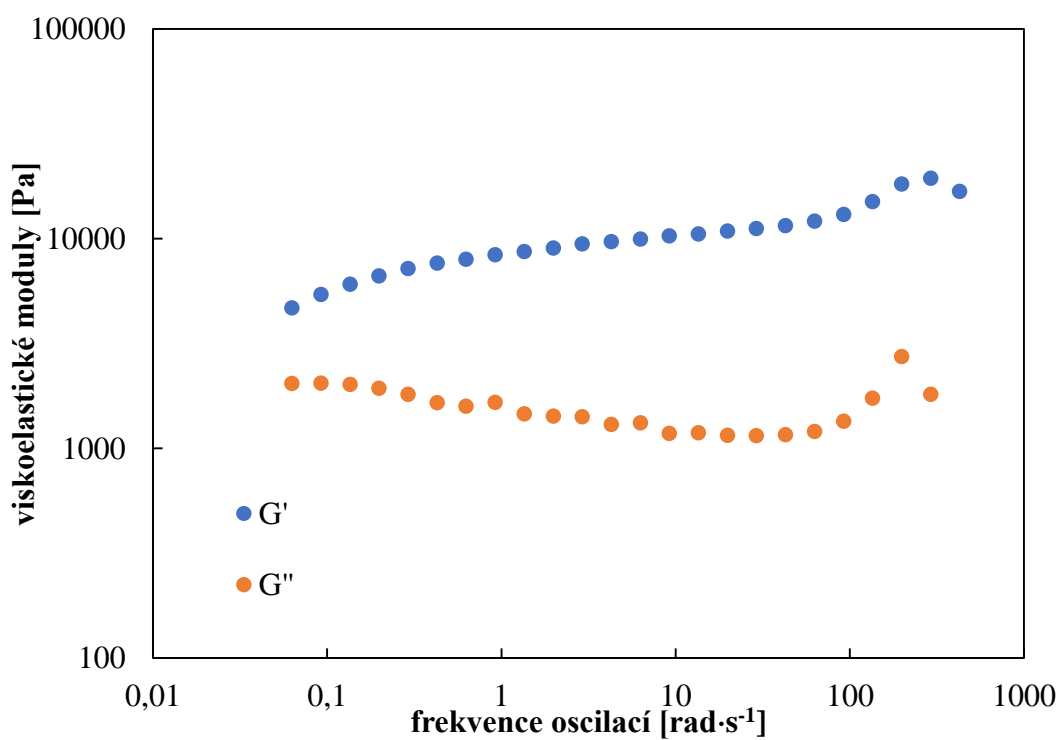
Obr. 55: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 6.



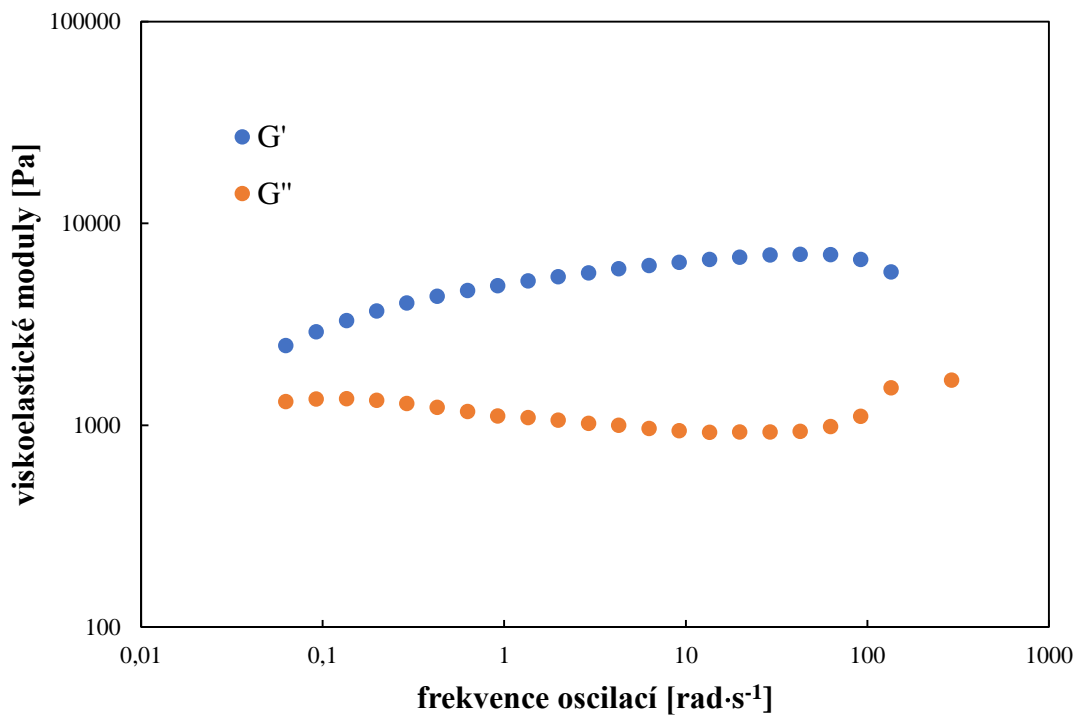
Obr. 56: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 7.



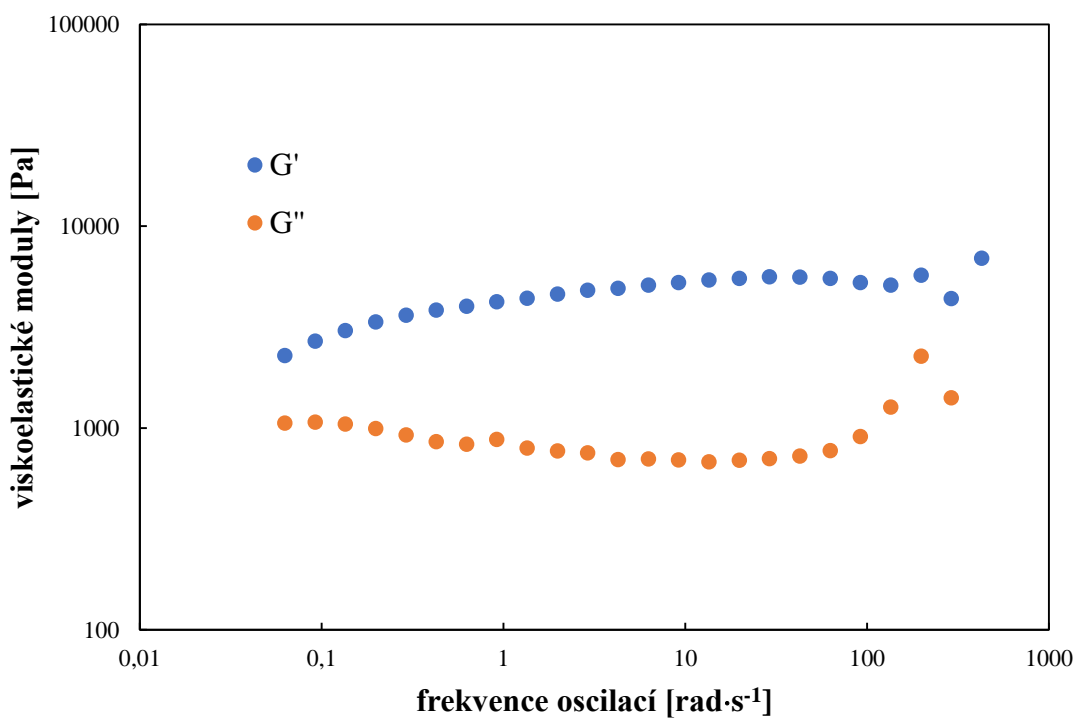
Obr. 57: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 8.



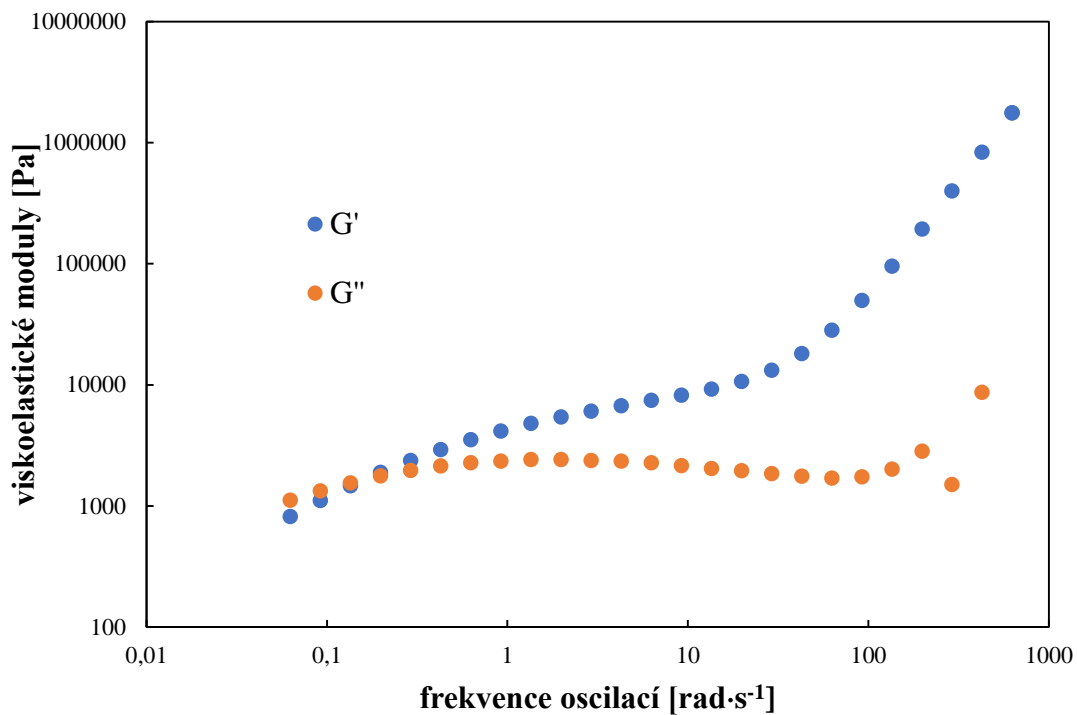
Obr. 58: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 4 a změněnou hodnotou pH na 9.



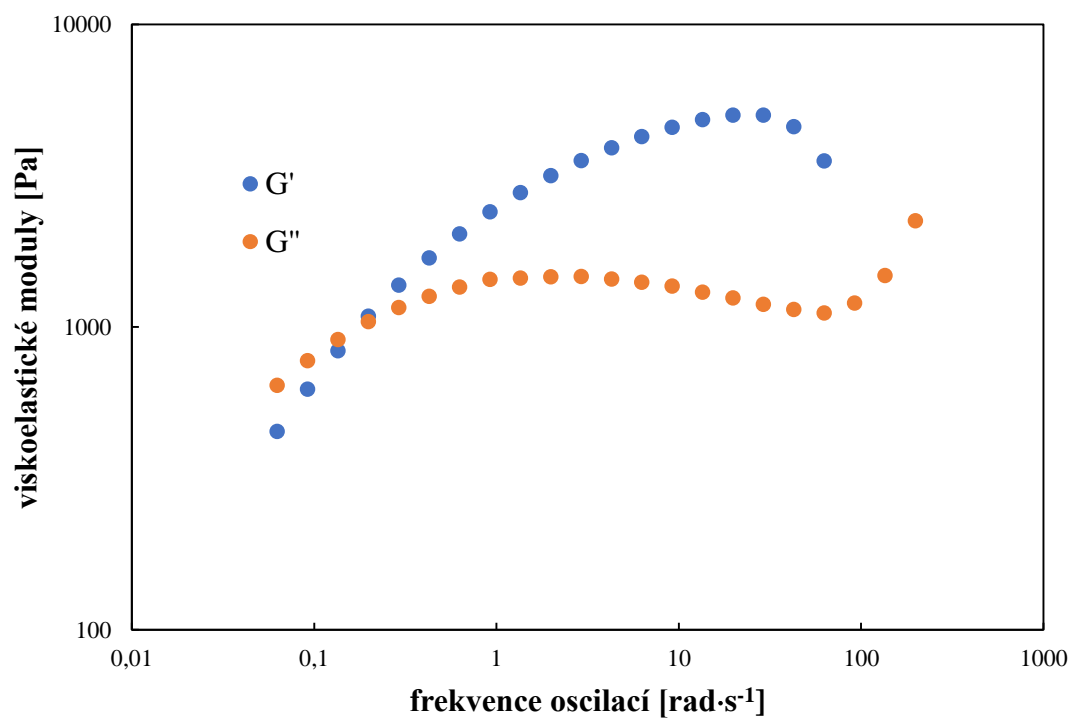
Obr. 59: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 5 a změněnou hodnotou pH na 9.



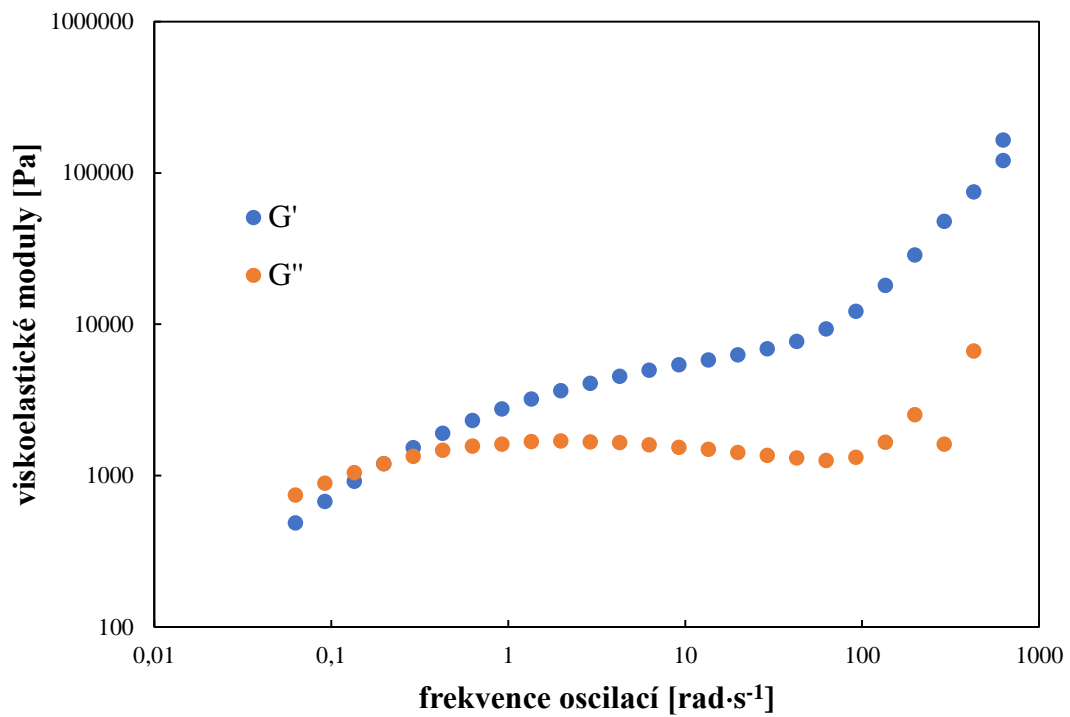
Obr. 60: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 6 a změněnou hodnotou pH na 9.



Obr. 61: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 7 a změněnou hodnotou pH na 4.



Obr. 62: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 8 a změněnou hodnotou pH na 4.



Obr. 63: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací pro vzorek připravený při pH 9 a změněnou hodnotou pH na 4.